



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ŞLİ HAMİDİYE ETFAL EğİTİM VE ARAşTIRMA HASTANESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI

SAğLIKLI ÇOCUKLARDA YÜKSEK RİSKLİ *ESCHERİCHİA COLİ* ST131
KLONU TAşIYICILIğININ ARAşTIRILMASI

Dr. Feride Merve Arslan

İSTANBUL/2022



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL EğİTİM VE ARAşTIRMA HASTANESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI

SAğLIKLI ÇOCUKLARDA YÜKSEK RİSKLİ *ESCHERİCHİA COLİ* ST131
KLONU TAşIYICILIğININ ARAşTIRILMASI

Dr. Feride Merve Arslan

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Elif Aktaş Sepetçi

Uzm. Dr. Süleyman Pelit

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince kıymetli bilgi birikimi ve tecrübelerini paylaşarak bana yol gösteren, yardımlarıyla destek olan değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Elif Aktaş Sepetçi ve Uzm. Dr. Süleyman Pelit'e

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak uzmanlık eğitimimde emeği geçen değerli hocam Doç. Dr. Banu Bayraktar'a

Uzmanlık eğitimim süresince sağladıkları katkılardan dolayı Dr. Emin Bulut, Dr. Murat Öcal ve Dr. Ayşe Barış'a

Tez sürecim boyunca yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Nazan Dalgıç ve Uzm. Dr. Ayşe Şahin'e

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar çalışma ekibine,

Hayatım boyunca sonsuz desteklerini hissettiğim kıymetli aileme çok teşekkür ederim.

Feride Merve Arslan

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
TABLolar	vi
ŞEKİLLER	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 <i>ESCHERİCHİA COLİ</i>	3
2.1.1 <i>E. coli</i> 'de Antimikrobiyal Direnç.....	4
2.2 <i>E. COLİ</i> ST131.....	7
2.2.1 Epidemiyoloji.....	7
2.2.2 ST131 Popülasyon Yapısı.....	8
2.2.3 ST131 ve Plazmid İlişkisi	10
2.2.4 Uluslararası Çoklu İlaç Dirençli Yüksek Riskli Klon olarak ST131	10
2.2.5 <i>E. coli</i> ST131 Tespiti için Yöntemler	13
2.2.6 ST131 Toplum Taşıyıcılığı ve İntestinal Kolonizasyon	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1 BAKTERİYEL İZOLATLAR	19
3.2 HASTA BİLGİLERİNİN TOPLANMASI	20
3.3 BAKTERİ TANIMLAMASI.....	20
3.4 ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ.....	21
3.5 MALDI -TOF MS ile ST131 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI.....	21
3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	22
4. BULGULAR.....	23
4.1 ÇALIŞMA POPULASYONUNUN ve İZOLATLARIN ÖZELLİKLERİ.....	23
4.2 ST131 TANIMLAMA SONUÇLARI	25
4.3 DIŞKI İZOLATLARINDA GSBL ve ST131 DAĞILIMI	27
4.4 KLİNİK İZOLATLARDA GSBL ve ST131 DAĞILIMI	28

4.5 ST131 KLONU DIŞKI ve KLİNİK İZOLATLARDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ	28
4.6 ST131 ve ST131 DIŞI KLİNİK İZOLATLARDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ	29
4.7 ST131 KOLONİZASYONUNUN RİSK FAKTÖRLERİ İLE İLİŐKİŐİ.....	30
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR	40
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŐ.....	52
EKLER.....	54



SİMGELER VE KISALTMALAR

AB : Avrupa Birliği

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

CTX-M : Cefotaximase-Munich

DNA : Deoksiribonükleik asit

EARSS-Net : Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı

EUCAST : “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”

GSBL : Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz

Inc : “incompatibility”

MALDI-TOF MS: Matrix Assisted Lazer Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (Matriks Aracılı Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi)

MLST : “multi-lokus” sekans tiplendirme

PFGE : “Pulsed Field Gel Electrophoresis”

PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu

ST : Sekans tip

UAMDSS : Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi

TABLÖLAR

Tablo 1. Dışkı izolatlarında ve klinik izolatlarda ST131 dağılımı.....	27
Tablo 2. Klinik örnekleri değerlendirilen hastaların ve dışkı örnekleri değerlendirilen sağlıklı çocukların demografik özelliklerine göre ST131 durumu	27
Tablo 3. Çalışmaya alınan dışkı izolatlarındaki ST131 ve GSBL dağılımı.....	28
Tablo 4. Çalışmaya alınan klinik izolatlardaki ST131 ve GSBL dağılımı	28
Tablo 5. ST131 klonu olan dışkı izolatlarında ve klinik izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu	29
Tablo 6. Klinik örneklere ait ST131 ile ST131 dışı izolatlarda antimikrobiyal direnç	30
Tablo 7. Sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı için değerlendirilen olası risk faktörleri.....	31
Tablo 8. Sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı için değerlendirilen olası risk faktörleri.....	31

ŞEKİLLER

Şekil 1. <i>E. coli</i> 'de CTX-M enzimlerinin dağılımı	6
Şekil 2. Dışkı örnekleri değerlendirilen sağlıklı çocukların yaş dağılımı	23
Şekil 3. Klinik örnekleri değerlendirilen çocuk hastaların yaş dağılımı	24
Şekil 4. Klinik <i>E. coli</i> izolatlarının örnek türlerine göre dağılım	24
Şekil 5. Klinik örnekleri çalışmaya dahil edilen hastaların birimlere göre dağılımı .	25
Şekil 6. MALDI-TOF MS ile tespit edilen, ST131 ve ST131dışı izolatlara ait özgül pikler	26

SAĞLIKLI ÇOCUKLARDA YÜKSEK RİSKLİ *ESCHERİCHİA COLİ* ST131 KLONU TAŞIYICILIĞININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: *Escherichia coli* sekans tip 131 (ST131), CTX-M beta-laktamaz üretimi ve florokinolon direnci ile ilişkili bir pandemik klondur. ST131'in bağırsak kolonizasyonu, önemli sistemik enfeksiyonlara yol açabilir. Ülkemizde antimikrobiyal direnç kritik derecede yüksektir. Türkiye'de sağlıklı çocuklarda *E.coli* ST131 klonunun intestinal kolonizasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, *E.coli* ST131'in intestinal kolonizasyon prevalansını belirlemek, bu klonun dışkı ve klinik örnekler arasındaki oranlarını karşılaştırmak ve ST131 taşıyıcılığı için risk faktörlerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu prospektif çalışmada, sağlıklı çocuklardan dışkı örnekleri ve pediatri bölümlerinden gönderilen çeşitli klinik örnekler Nisan-Kasım 2021 tarihleri arasında toplanmıştır. Bakteriyel tanımlama Matriks Aracılı Lazer Desorpsiyon-İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) tarafından yapılmıştır. Duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemi ve Vitek ® 2 otomatik sistem (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanılarak EUCAST yönergeleri izlenerek yapılmıştır. *E.coli* ST131'in MALDI-TOF MS tarafından tespiti, Lafolie tarafından tarif edildiği gibi yapılmıştır. Yaş, cinsiyet, doğum şekli, son üç ayda antibiyotik kullanımı, son altı ayda enfeksiyon geçirme öyküsü, hastaneye yatış öyküsü, kardeş sayısı, evde hayvan besleme durumunu içeren bilgiler, sağlıklı çocuklardan ST131 fekal taşıyıcılığı risk faktörlerini belirlemek üzere toplanmıştır.

Bulgular: Toplam 340 dışkı izolatu ve 200 klinik izolat analiz edilmiştir. Dışkı örnekleri toplanan sağlıklı çocuk popülasyonunda kız ve erkek cinsiyet dağılımı %49,7 ve %50,3 ve yaş ortalaması 6.9 ± 5.3 (0-17) iken, klinik izolatlar için sırasıyla %81,5, %18,5 ve 7.5 ± 5.0 (0-17) olarak belirlenmiştir. Dışkı ve klinik izolatlar arasında cinsiyete ve yaşa göre ST131 pozitifliği açısından anlamlı fark

bulunmamıştır. Dışkı izolatları ile klinik izolatlar arasındaki ST131 oranları arasındaki fark anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (%24,7'ye karşı %44,5, $p<0,001$). Dışkı ve klinik izolatlarda GSBL pozitiflik oranı sırasıyla %28.6 ve %22.5 olarak bulunmuştur. ST131 dışkı ve klinik izolatların siprofloksasin direnci sırasıyla %22,6, %18 olarak belirlenmiş olup fekal ve klinik izolatlar arasında siprofloksasine direnç açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. ST131 taşıyıcılığı olan sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olmayan çocuklara göre sezaryen doğum oranı anlamlı derecede düşük, kardeş varlığı oranı ise anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p=0,002$, $p=0,042$).

Sonuç: *E. coli* ST131 klonu, pediatrik popülasyonda önemli bir enfeksiyon nedenidir. Çalışmamızda hem sağlıklı çocuklardan elde edilen dışkı örneklerinde hem de pediatri bölümlerinden gönderilen klinik örneklerde yüksek oranda ST131 klonu bulunmuştur. ST131 izolatlarında, pediatrik popülasyonda yaygın olarak kullanılmayan siprofloksasine karşı yüksek direnç oranları, dolaşımdaki yüksek riskli klonların etkisinin önemini gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli* ST131, İntestinal kolonizasyon, Antibiyotik direnci, Yüksek riskli klon.

INVESTIGATION OF HIGH-RISK *ESCHERICHIA COLI* ST131 CLONE CARRIAGE IN HEALTHY CHILDREN

ABSTRACT

Aim: The *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) is a pandemic clonal group associated with both CTX-M beta-lactamase production and fluoroquinolone resistance. Intestinal colonisation of ST131 may lead to significant systemic infections. In Turkey antimicrobial resistance is critically high. There is no study on faecal carriage of *E. coli* ST131 clone in healthy children in Turkey. The aim of this study is determining the prevalence of faecal carriage of *E. coli* ST131, comparing the rates of this clone between faecal and clinical samples, investigating the antimicrobial resistance in ST131 isolates and determining the risk factors for ST131 faecal carriage.

Materials and Methods: Stool specimens from healthy children and various clinical specimens from pediatric departments were collected between April-November 2021 in this prospective study. Bacterial identification was done by MALDI-TOF MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Susceptibility tests were done using disk diffusion method and Vitek ® 2 automated system (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) following EUCAST guidelines. Detection of *E. coli* ST131 by MALDI-TOF MS was done as described by Lafolie. Age, gender, history of preterm birth, history of being born by cesarian section, receipt of antimicrobial therapy during previous three months, history of infection in recent six months, history of hospitalization, having siblings, having a pet in the house were questioned by the survey to determine risk factors for ST131 faecal carriage.

Results: A total of 340 faecal isolates and 200 clinical isolates were analyzed. While the distribution of female and male sexes was 49.7% and 50.3%, and the mean age was 6.9±5.3 (0-17) in the healthy child population, the same characteristics were

determined as 81.5%, 18.5% and 7.5 ± 5.0 (0-17) in the clinical population, respectively. No significant difference was found in terms of ST131 positivity depending on the sex and age, among faecal and clinical isolates. The difference between the rates of ST131 among faecal isolates and clinical isolates was significantly higher (24.7% vs 44.5%, $p < 0.001$). The rate of ESBL positivity in faecal and clinical isolates were 28.6%, 22.5% respectively. Ciprofloxacin resistance of ST131 faecal and clinical isolates was 22.6%, 18% respectively. No significant difference was found among faecal and clinical isolates in terms of resistance to ciprofloxacin. In children with ST131 faecal carriers compared to those with non ST131 carriers history of being born by cesarean section was found to be significantly lower ($p = 0.002$) and having siblings was found to be significantly higher ($p = 0.042$).

Conclusions: *E. coli* ST131 clone is an important cause of infections in pediatric population. In our study, we found high rates of ST131 clone in both faecal samples and clinical samples sent from pediatric departments. In ST131 isolates, high rates of resistance to ciprofloxacin, which is not commonly used in the pediatric population, may indicate the importance of the effect of circulating high-risk clones.

Keywords: *E. coli* ST131, Intestinal colonization, Antibiotic resistance, High-risk clon

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda, antimikrobiyal direnç küresel ölçekte hızlı yayılım göstermekte olup çoklu ilaca dirençli bakteriler dünyanın birçok yerinde endemik hale gelmiştir (1). Antimikrobiyal direnç gelişimi; tedavisi güç veya tekrarlayan enfeksiyonlar, daha uzun hastanede kalma süreleri, ekonomik maliyetler ve artmış morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (2).

Dünyada yaygın olarak bulunan bazı klonlar çok ilaca dirençli özellik göstermektedir. Çok ilaca dirençli bakteriler; integronlar, transpozonlar ve plazmidler gibi çok sayıda genetik eleman için konak görevi yapar. “Başarılı” bir bakteri kökeni vertikal ve horizontal direnç yayılımı için etkili bir araçtır (3). Moleküler epidemiyolojik yöntemlerle, yüksek riskli klonların toplumdaki, hastanedeki varlığı ve yayılımının tespit edilmesi sürveyans çalışmaları için oldukça önemlidir. Multi-lokus sekans tiplendirme (MLST) çalışmaları sonucunda, 2000’li yılların başından itibaren tüm dünyada yayılan, CTX-M-15 beta-laktamaz üretimi ve kinolon direnci ile ilişkili bulunan “*E. coli* ST131” başarılı bir şekilde, uluslararası yayılım gösteren bir yüksek riskli klon olarak belirlenmiştir (4,5). *E. coli* ST131 klonunun tespiti için MLST altın standart olmakla birlikte, matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle (MALDI-TOF MS)] kullanılarak elde edilen spektrumlardaki piklerin değerlendirilmesi ile de *E. coli* ST131 klonu yüksek duyarlılıkla belirlenebilir (6). Bu sayede, ST131 klonu, bakterinin tür düzeyinde tanımlanması esnasında ek maliyet gerektirmeden hızlı ve kolay bir şekilde tespit edilebilir.

Klinik *E. coli* izolatları arasında ST131’in prevalansı, çalışılan popülasyon, coğrafi bölge, konak özellikleri, çalışmanın yapıldığı zamana göre %12.5-30 arasında değişen sayılarda rapor edilmiştir. ST131 oranı, florokinolon dirençli izolatlarda %70–80 ve GSBL-pozitif izolatlarda %50–60 oranında tespit edilmiştir (7). Çocuk hastalarla yapılan çalışma sınırlı sayıda olmakla birlikte bu popülasyonda GSBL üreten klinik *E. coli* izolatları arasında ST131 prevalansı %37-%46.3 arasında değişmektedir (7-10).

Ekstraintestinal patojenik *E. coli*'nin ana rezervuarı, insan sindirim sistemidir. Sağlıklı bireylerin bağırsağında GSBL üreten *E. coli* kolonizasyonunu değerlendirmek için dünyanın farklı yerlerinde yapılan çalışmalarda global taşıyıcılık prevalansı tüm popülasyonda %15.8 – %27.0 olarak belirlenmiştir (11).

Sağlıklı çocuklarda *E. coli* ST131 klonu taşıyıcılığı üzerine yapılan çalışmalar ise oldukça sınırlıdır. Çeşitli çalışmalarda sağlıklı çocukların dışkılarında bulunan GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında ST131 oranı %28 ile %37 arasında saptanmıştır (10,12). Sağlıklı çocuklarda yüksek riskli ST131 *E. coli* klonu taşıyıcılığının, hastanede yatış öyküsüyle, antibiyotik alımıyla ve günlük bakıma tabi olmakla ilişkili olduğu bildirilmiştir (13).

Türkiye’de sağlıklı çocukta *E. coli* ST131 klonunun intestinal taşıyıcılığını belirlemek için yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada amaç, sağlıklı çocukların dışkı kültürlerinden elde edilen *E. coli* izolatlarında yüksek riskli ST131 klonu oranını belirlemek ve bu oranı klinik izolatlardaki *E. coli* ST131 oranıyla karşılaştırmaktır. ST131 olduğu belirlenen izolatlarda antimikrobiyal direnç durumunu belirlemek ve ST131 taşıyıcılığına sebep olan risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *ESCHERİCHİA COLİ*

Escherichia coli (*E. coli*), Enterobacterales üyesi gram negatif bir basildir. *E. coli* insan yaşamının ilk saatlerinde yenidoğan sindirim sisteminde kolonize olur (14). Genellikle kommensal olan ancak enfeksiyon etkeni olarak çeşitli hastalıklara ve her yıl milyonlarca ölüme neden olan bir patojendir (15). *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonlar, intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlar olarak ikiye ayrılır (16). *E. coli*, filogenetik açıdan A, B1, B2 ve D olmak üzere dört gruba ayrılmıştır (17). En sık görülen ve en virülen özellikteki ekstraintestinal *E. coli* suşları filogenetik grup B2'de yer alır. Ekstraintestinal enfeksiyonlar sırasında daha az virülans sergileyen *E. coli* suşları filogenetik grup D'ye aittir. *E. coli*'nin çeşitli kommensal suşları A ve B1 gruplarında yer alır (18). Bağırsak enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* suşlarının ortak adı, ishal yapan (diyarejenik) *E. coli* (DEC)'dir. İntestinal patotipler ise enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Vero veya Shiga-toksin üreten *E. coli* (VTEC veya STEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve diffuz aderent *E. coli* (DAEC)'dir (17,19).

Gastrointestinal sistem dışında enfeksiyonlara neden olma kabiliyetine sahip olan *Escherichia coli* izolatları, ekstraintestinal patojenik *E. coli* izolatları olarak adlandırılır (20). Ekstraintestinal patojenik *E. coli*, insanlarda idrar yolu enfeksiyonlarının ve sistemik enfeksiyonların önemli bir nedenidir (16). Ekstraintestinal patojenik *E. coli* yaygın olarak idrar yolu enfeksiyonu ve bakteriyemi etkeni olmakla birlikte, solunum yolu, cilt ve yumuşak doku gibi bölgelerde de izole edilmiştir. Ekstraintestinal patojenik *E. coli*, neonatal menenjitin önde gelen nedenlerinden biridir ve prostatit, peritonit ve pnömoninin sık görülen etkenlerindendir (21).

İdrar yolu enfeksiyonuna sebep olan üropatojenik *E. coli* (UPEC), toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının %70-95'inden ve hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %50'sinden sorumludur (22). Üropatojenik *E. coli*'nin birincil rezervuarının intestinal bölge olduğuna inanılır. UPEC, üroepitelyal

hücrelere adezyon ve kolonizasyon için çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. Bu virülans faktörleri başlıca P fimbrialar olmak üzere, hemolizin, kapsül ve demir alımını sağlayan pek çok sistemden oluşmaktadır (16,23). Bununla birlikte, muhtemelen üropatojen *E. coli* ile kontamine olmuş gıda tüketimine bağlı olarak toplum kaynaklı klonal idrar yolu enfeksiyonu salgınları da tanımlanmıştır (24).

2.1.1 *E. coli*'de Antimikrobiyal Direnç

Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (EARSS-Net) 2020 Raporuna göre, invaziv *E. coli* izolatlarında florokinolon direnci Avrupa Birliği (AB) ortalaması %23.8 (%10.0-%48.2) olarak bildirilirken, üçüncü kuşak sefalosporin direnci için %14.9 (%5.8-%41.4), aminoglikozid direnci için %10.9 (%5.5-%34.2), karbapenem direnci için ise %0.2 (%0-%0.8) olarak bildirilmiştir (25).

Ülkemizde *E. coli* antimikrobiyal direnç oranları, 2019 yılı Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) verilerine göre, invaziv *E. coli* izolatlarında; üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftriakson/sefotaksim direnci %53, seftazidim direnci ise %47 olarak saptanmıştır. Aminoglikozidlerden gentamisin/tobramisin direnci %26, amikasin direnci ise %2 olarak belirlenmiştir. Florokinolon grubundan siprofloksasin/levofloksasin/ofloksasin direnci %52 olarak saptanmıştır. Karbapenem grubundan ertapenem direnci %9, imipenem/meropenem direnci ise %3 olarak belirlenmiştir (26).

Antimikrobiyal dirence farklı mekanizmalar sebep olabilir. Florokinolonlara direnç; ilaç hedefinde değişiklik, plazmid aracılı direnç aktarımı ve hücrede ilaç birikiminin azalması (membran permeabilitesinde azalma, aktif pompalama ile antibiyotiğin hücre dışına atılması) ile gerçekleşmektedir (27). İlaç hedefinde değişiklik; DNA giraz alt birimleri olan *gyrA*, *gyrB* ve Topoizomeraz IV subuniteleri olan *parC* ve *parE* genlerindeki mutasyonla olabilmektedir (28). Aminoglikozidlere karşı direnç, ribozomal subunitenin modifikasyonu ve/veya aminoglikozid molekülünün enzimatik nötralizasyonu yolu ile olabilmektedir (29). Günümüzde bildirimi artan kolistin direnci çoğunlukla kromozomal kaynaklı olup, genellikle özgül iki bileşenli düzenleyici sistemlerini kodlayan genlerde mutasyonlara neden olan mekanizmalardan kaynaklanmaktadır (30). 2015 yılında *E. coli*'de plazmid

aracılı kolistin direncine sebep olan mcr-1 proteininin, yatay gen transferi ile hızlı bir şekilde türler arasında yayılım gösterdiği belirlenmiştir (31).

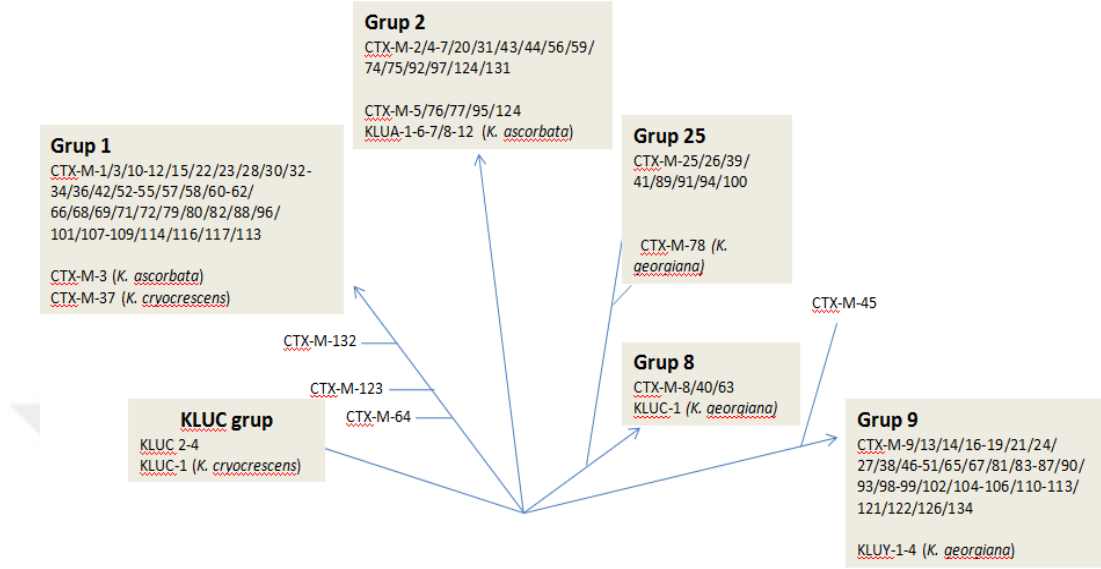
E. coli'de beta laktam antibiyotiklere karşı direnç, çoğunlukla bakterilerin kromozomal veya plazmid kaynaklı genleri tarafından sentezlenen beta laktamaz enzimleri aracılığıyla olur. Beta laktamazlar, beta-laktam halkasının siklid amid bağını hidrolize ederek beta-laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirirler (32). *E. coli* genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretiminin en sık saptandığı bakteriler arasındadır (33).

GSBL'ler oksimino- β -laktamlar (sefuroksim, 3. ve 4. Kuşak sefalosporinler ve aztreonam) da dahil olmak üzere penisilinler ve sefalosporinlerin çoğunu hidrolize eden, ancak sefamisinler ve karbapenemleri etkilemeyen enzimlerdir. GSBL'lerin çoğu Ambler Sınıf A'da yer alır ve β laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) ve diazabisklooktanonlar (avibaktam) ile inhibe olur (34).

Enterobacterales üyelerinde ilk plazmid aracılı β -laktamaz 1960'ların başında *E. coli*'de tarif edilmiştir (35). 1983'te ilk genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) tespit edildikten sonra global bir yayılım göstermiştir. Bu yayılım; klonal çoğalma, GSBL genlerinin plazmidler ile aktarılmaları ve nadiren de yeni enzimlerin ortaya çıkmasının bir sonucudur. GSBL'ler içerisinde en önemli grup, 2000li yılların başında ortaya çıkan CTX-M (Cefotaksimase-Munich) enzimleridir. Bu grubu, SHV (SulfhydrylVariable) ve TEM (Temoneira) türevi GSBL'ler izlemektedir (34).

CTX-M enzimi 2000'li yıllarda Avrupa, Afrika, Asya, Güney ve Kuzey Amerika'da *E. coli* klinik izolatlarında görülmesiyle öne çıkmıştır (36). 2000'lerin ortalarından bu yana CTX-M β -laktamazlar Enterobacterales'lerin farklı üyelerinde olduğu kadar Enterobacterales olmayan gruplarda da tanımlanmıştır. CTX-M enzimi, özellikle *E. coli*'de yaygındır ve dünya çapında tanımlanan en yaygın GSBL tipidir (37). CTX-M tipi enzimler; sefalotine penisilinden, sefotaksime de seftazidimden daha yüksek düzeyde direnç özelliği gösterirler. Ayrıca, diğer GSBL'lerden farklı olarak CTX-M grubu enzimler, klavulanik asit veya sulbaktama oranla tazobaktam ile daha iyi inhibe olurlar. CTX-M-15, ekstraintestinal patojenik *E. coli* izolatları arasında en yaygın GSBL'dir (38).

CTX-M ailesi aminoasit dizilerine göre farklı gruplara ayrılmıştır. Bu gruplar: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 ve KLUC grup'tur (Şekil 1) (39).



Şekil 1. *E. coli*'de CTX-M enzimlerinin dağılımı (39)

Farklı zamanlarda, farklı bölgelerden birbirinden bağımsız şekilde izole edilmiş ancak ortak atadan köken alan MLST yöntemi veya diğer bir moleküler tiplendirme yöntemi ile identik veya çok yakın ilişkili olan suşlar klon olarak isimlendirilir (40). Dünyada yaygın olarak bulunan bazı klonlar, çok ilaca dirençli özellik göstermektedir. Çok ilaca dirençli bakteriler, integronlar, transpozonlar ve plazmidler gibi çok sayıda genetik eleman için konak görevi yapmaktadır (38). Dirençli klonlarının hızlı yayılmasının, lokalize ekstraintestinal hastalık salgınlara yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca, geniş spektrumlu sefalosporinlere ve florokinolonlara sıklıkla dirençli olan *E. coli* ST131 klonunun yaygınlaşması, bakteriyemi ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisini ciddi şekilde karmaşıktırmıştır (41).

2.2 *E. COLI* ST131

2.2.1 Epidemiyoloji

2000'li yıllarda, İngiltere ve Kanada'da CTX-M üreten *E. coli* izolatları saptanmış olup, bu izolatların PFGE ("Pulsed Field Gel Electrophoresis") tiplendirilmesi sonucunda izolatlar arasında birbiriyle ilişkili olan farklı pulsotipler olduğu görülmüştür. İngiltere'deki pulsotipler klon A'dan E'ye kadar isimlendirilirken, Kanada'daki pulsotipler ise klon 15A ve 15AR olarak isimlendirilmiştir (4,5). Pulsotipler arası %80'den az benzerlik olması nedeniyle Tenover kriterlerini tam olarak karşılamadığı saptanmıştır (42).

2008'de, İspanya, Fransa, Kanada, Portekiz, İsviçre, Lübnan, Hindistan, Kuveyt ve Kore olmak üzere dokuz ülkede aynı anda tanımlanan CTX-M-15 üreten *E. coli* izolatlarına MLST ile sekans tiplendirmesi yapılmış, bu izolatlarda ST131 klonu tespit edilmiştir (43,44). Ayrıca Birleşik Krallık'ta tanımlanan Klon A, B, C, D ve E'nin de ST131 olduğu ortaya çıkmıştır (45). ST131 klonunun toplum kaynaklı ortaya çıktığı düşünülmüş; kıtalar arası görülmesinin, kontamine gıda/su kaynaklı yayılımla beraber, uluslararası yolculuk sebebiyle de olabileceği bildirilmiştir (38,43,45,46). CTX-M üreten *E. coli* daha sonra İtalya, Türkiye, Hırvatistan, Japonya, Amerika Birleşik Devletleri ve Norveç'te tanımlanmıştır (47-52). Kanada'da GSBL üretmeyen *E. coli* idrar izolatları arasında da ST131 yüksek prevalansta bulunmuştur. Ayrıca Paris'te sağlıklı konakçıların dışkılarında yapılan bir çalışmada CTX-M-15 üretmeyen ST131 izolatları izole edilmiştir (53,54). Yeni Zelanda'da yapılan CTX-M-15 üreten *E. coli*'nin sebep olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada, son üç ay içerisinde Hint Yarımadası'na, Afrika kıtasına ve Orta Doğu'ya seyahatin, enfeksiyon açısından risk oluşturduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacıların yaptığı bir başka çalışmada CTX-M-15 üreten *E. coli* ST131'in enfeksiyona neden olma riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (55,56).

ST131 klonunun evrimsel kökenine dair yapılan bir çalışmada, Kanada'da 2002-2004 yılları arasında idrarlardan izole edilen trimetoprim-sülfametoksazol ve florokinolon dirençli 199 *E. coli* izolatının %23'ünde ST131 klonu tanımlanmış olup ST131 izolatların %99'unda florokinolon direnci bildirilmiştir (53). Küresel

sürveyans çalışmaları, ST131'in florokinolon direnci ile ilişkili bir klon olduğunu, aynı zamanda CTX-M-15 ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir (7).

ST131 klonunun ilk olarak GSBL üreten *E. coli*'lerle, özellikle de CTX-M-15 eksprese edenlerle ilişkili olduğu düşünülse de, ST131 izolatlarının GSBL negatif ancak florokinolon, aminoglikozid ve trimetoprim-sülfametoksazole dirençli olabildiği gösterilmiştir (57). İnsan klinik *E. coli* izolatları arasında ST131'in prevalansı; çalışılan popülasyon, coğrafi bölge, konak özellikleri, çalışmanın yapıldığı zamana göre değişmekte olup %12.5-30 arasında değişen oranlarda rapor edilmiştir. ST131 oranı, florokinolon dirençli izolatlarda %70–80, GSBL-pozitif izolatlarda %50–60 oranında tespit edilmiştir (7).

ST131 izolatlarının idrar yolu enfeksiyonu, bakteriyemi, karın içi ve yumuşak doku enfeksiyonu, menenjit, osteoartiküler enfeksiyonlar, miyozit, pnömoni gibi çeşitli klinik tablolara yol açtığı bilinmektedir. ST131 kolonizasyonu ve enfeksiyonları yaşlılar arasında oldukça yaygın olmakla birlikte, uzun süreli bakım tesislerinde yaşayanlar arasında da yüksek prevalansa sahiptir (58,59). Bunun yanı sıra hayvanlar, gıda ve çevre gibi insan dışı kaynaklarda da tespit edilmiştir (57). Ancak ST131 kolonizasyonu ve enfeksiyonu, insanlar arasında insan olmayan konakçılardan belirgin ölçüde daha fazladır (60).

2.2.2 ST131 Popülasyon Yapısı

ST131, B2 filogenetik grubunun subgrup 1'inde yer almaktadır. ST131 içindeki en yaygın alt klon H30'dur. H30 alt klonu ilk olarak 2000 yılında ortaya çıkmış olup sonrasında hızla yayılmıştır. Çoğu H30 izolatının yakın genetik benzerliği, bu alt klonun *fimH30* geni taşıyan tek bir atadan kaynaklandığını ortaya koymuştur. H30 alt klonu aynı zamanda tip 1 fimbrial adezin geni *fimH*'nin H30 varyantını (*fimH30*) içerir. H30 alt klonu, MLST ve PFGE ile *fimH*, *gyrA* ve *parC* genlerinin alt tiplendirmesi sonucu tanımlanmıştır (61). Yapılan bir çalışmada farklı coğrafi bölgelerden ve kaynaklardan gelen tüm yeni florokinolon dirençli *E. coli* izolatlarının yaklaşık yarısında H30 alt klonu tespit edilmişken, florokinolon duyarlı ST131 izolatları arasında H30 alt klonu %1 gibi düşük bir oranda saptanmıştır (17).

H30 alt klonu içinde, daha geniş antimikrobiyal direnç ve virülans profili çizen H30-R ve H30-Rx olarak adlandırılan önemli iki alt klon, tam genom dizilimi ve filogenetik analiz kullanılarak tanımlanmıştır (62). Yapılan ileri araştırmalarda H30-R alt klonunun CTX-M-15 ilişkisi saptanmazken florokinolon direnci ile ilişkili olduğu, H30-Rx alt klonunun ise hem CTX-M-15 hem de florokinolon direnci ile ilişkili olduğu görülmüştür (38).

H30, H30-R ve H30-Rx ST131 alt klonlarının prevalans ve direnç fenotipleri ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada tanımlanmıştır. GSBL üreten *E.coli* izolatları arasında ST131 klonunun oranı %50 olarak bulunmuş, ST131 izolatlarının %98'inde H30-R alt klonu, bu alt klonun ise %92'sinde H30-Rx alt klonu tespit edilmiştir (63). Amerika'da H30 alt klonunun prevalansının belirlendiği bir başka çalışmada ise bu alt klon florokinolon duyarlı izolatlarda %12.5, florokinolon dirençli olanlarda %95 oranında saptanmıştır (64). Farklı coğrafi bölgelerde yapılan çalışmalarda ST131 izolatları arasında H30 alt klonu %31.7-%94 oranında bulunmuştur (65–67).

Bazı ST131 izolatlarında, O25b:H4 ve O16:H41 serotipleri tanımlanmıştır. O16:H41 serotipi, *FimH41* soyuna ait olup trimetoprim-sulfametoksazol ve gentamisin direnci ile ilişkili olduğu, GSBL varlığı ve florokinolon direnci (*fimH30* ST131 soyuna kıyasla) ile ilişkili olmadığı görülmüştür (68,69). Sürveyans çalışmalarında *E. coli* ST131 izolatlarında O16:H5 serotipi %1-5 oranında bulunmuştur. *FimH41* soyunun tespiti için O16 *rfb* genini ST131 spesifik *mdh* ve *gyrB* allelleri ile birleştirerek PZR hızlı tarama testi geliştirilmiştir (68).

O25b:H4 serotipine ait *fimH22* ve *fimH35* olarak isimlendirilen iki ST131 soyu daha tanımlanmıştır (69). Bu soylar, *bla_{CTX-M-15}* geni ve florokinolon direnci ile ilişkili olup, *aac(6')-lb-cr* geni bulundurmaktadır. Johnson ve arkadaşları ST131'in alt klonları ile yaptığı bir çalışmada *fimH* tabanlı 7 adet soy (*fimH15*, *fimH22*, *fimH27*, *fimH30*, *fimH35*, *fimH41*, *fimH94*) belirlemiştir. En yüksek oranda (%67) *fimH30* soyu saptanırken, *fimH22* %21, *fimH41* ve *fimH35* sırasıyla %5.6, %5.4 olarak tespit edilmiştir (61).

2.2.3 ST131 ve Plazmid İlişkisi

Plazmidler, bakterilerde bulunan dairesel yapıda ekstra kromozomal elemanlardır. Antibiyotik direnci ile ilişkili plazmidlerin konjugasyon yoluyla horizontal transferi, antimikrobiyal direnç genlerinin yayılması için önemli bir mekanizmadır. ST131’lerde bulunan *bla_{CTX-M-15}* ile ilişkili olduğu gösterilen, F replikonlarıyla (IncF olarak adlandırılan) uyumsuzluk [Inc(incompatibility)] gruplarına ait olan direnç plazmidleri, direnç genleri edinme ve ardından Enterobacterales’ler arasında hızla yayılma yeteneğine sahiptir (70). Bu plazmidlerin ayrıca, florokinolonlar, makrolidler ve aminoglikozidler de dahil olmak üzere, birden fazla direnç geni taşıdığı bilinmektedir (71).

2.2.4 Uluslararası Çoklu İlaç Dirençli Yüksek Riskli Klon olarak ST131

2011 yılında ortaya çıkan “yüksek riskli klon” terimi antibiyotik direncinin yayılmasını artıran bakteri klonlarını tanımlamak için kullanılmıştır (72). Bu klonlar, yalnızca hastaların tedavisi için önemli bir zorluk oluşturdıkları için değil, aynı zamanda antimikrobiyal direnç genlerinin yayılmasına sebep olduğu için de halk sağlığı açısından büyük bir endişeye sebep olmaktadır (3,17). Bu klonlar; global bir dağılım gösterme, çeşitli antimikrobiyal direnç elemanları ile ilişkili olma, kolonize olma, konaklar arası geçiş gösterme, gelişmiş patojenite mekanizmasına sahip olma, şiddetli ve/veya tekrarlayan enfeksiyonlara neden olma yeteneği gibi özelliklere sahiptir. ST131 klonu yüksek riskli klonlarda görülen bu özelliklere sahiptir. Enterobacterales üyelerinde sıklıkla görülen diğer yüksek riskli klonlar *E. coli* ST38, ST155, ST393, ST405, ve ST648; ve *K. pneumoniae* ST14, ST37, ST147, ve ST258’dir (38,72).

a. Küresel Yayılım:

Escherichia coli ST131 başlangıçta üç kıtada yer alan dokuz ülkedeki (Kanada, Fransa, İsviçre, Portekiz, İspanya, Kuveyt, Lübnan, Hindistan ve Kore) *bla_{CTX-M-15}* izolatları arasında tanımlanmıştır (44,46). Daha sonra ST131, dünyanın her köşesinde GSBL pozitif ve GSBL negatif, florokinolon dirençli ve florokinolon duyarlı *E. coli* izolatları arasında tanımlanmıştır (57). *Escherichia coli* ST131

yayılım açısından pandemik klon özelliği gösterir ve Antarktika hariç tüm kıtalarda görülmüştür (38).

b. Antimikrobiyal Direnç Mekanizması

E. coli ST131'in, çoğunlukla CTX-M-15'e bağlı olarak GSBL ve florokinolon direnci ile ilişkili olduğu bilinmektedir (58,61,64). Yapılan araştırmalar, ST131 H30 soyundaki florokinolon direncinin çoğunlukla topoizomera II ve IV'teki *gyrA1AB* ve *parC1aAB* mutasyonlarından kaynaklandığını göstermiştir (61). Aynı zamanda ST131, kinolon direnci ile ilişkili plazmid aracılı *aac(6')-lb-cr*'nin varlığı ile ilişkilidir (49). Bu direnç determinantı, florokinolonlara karşı duyarlılığın azalmasına ve ayrıca aminoglikozidler, tobramisin ve amikasin'e karşı dirence neden olur (17).

ST131'de görülen diğer direnç determinantları arasında *mph(A)* (makrolidlere direnç), *catB4* (kloramfenikol direnci), *tetA* (tetrasikline direnç), *dfrA7* (trimetoprim'e direnç), *aadA5* (streptomisine direnç) ve *sulI* (sülfonamidlere direnç) yer alır (57).

c. Kolonize Olma Özelliği

ST131 bağırsak kolonizasyonunun artmasının, bu klonun yayılmasından sorumlu olması mümkündür. Ekstraintestinal patojenik *E. coli* ile bağırsak kolonizasyonunun ekstraintestinal enfeksiyon için predispozan faktör olduğuna inanıldığından, bağırsak kolonizasyonunun artmasının ST131'in yayılmasından kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir (17). Fare modellerinde yapılan bir çalışmada ST131 izolatlarının tip 1 fimbria aracılığıyla farelerin bağırsak, mesane ve böbreğini etkin bir şekilde kolonize etme kabiliyetine sahip olduğuna dair veriler saptanmıştır (73). İnsanlarda intestinal kolonizasyon prevalansının veya süresinin ST131 ve diğer alt klonlar için farklı olup olmadığı açık değildir. H30-R ve H30-Rx alt klonlarının diğer ST131 alt soylara (örneğin H4, H35 ve H22) kıyasla intestinal kolonizasyon kabiliyetinin daha iyi olup olmadığı henüz açıklanamamıştır (17).

d. Konaklar Arası Geçiş

ST131'in aynı aile üyeleri ve evcil hayvanlar (özellikle köpekler ve kediler) arasında bulaşı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (7, 57). İsviçre'den yapılan bir araştırma, ST131'in hastane ortamından ziyade aynı hanenin üyeleri arasında bulaşma olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir (74). Fransa'da çocuk bakım

merkezinde yapılan bir çalışmada bu merkeze gelen yedi çocuğun da aynı CTX-M-15 üreten ST131 suşuyla bağırsak kolonizasyonu olduğu gösterilmiştir (12). Ender ve arkadaşları gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol ve florokinolonlara dirençli CTX-M-15 üreten ST131 izolatının bir baba ile kızı arasında bulaştığını göstermişlerdir (75). Johnson ve arkadaşları ST131'e bağlı osteomyelit gelişen kız bebekte ve bebeğin annesine ait dışkıda aynı ST131 suşunu saptamıştır (76).

Owens ve arkadaşları CTX-M-15 üreten, florokinolon dirençli ST131 suşunun aile içi yayılımını araştırmış, çalışmalarında orta yaşlı indeks hastada ve sonrasında da metabolik hastalığı bulunan kız kardeşinde ST131'e bağlı idrar yolu enfeksiyonu görülmüş, ST131 suşunun aynı hanenin üyeleri arasında bulaştığı tespit edilmiştir (77).

e. Virulans ve “Fitness” Mekanizması

ST131'in klinik izolatlar arasında artan prevalansının, ST131 suşlarının diğer *E. coli* izolatlarından daha virülan olması ve ona “fitness” avantajı sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. ST131'in hızlı yayılım gösterdiğini ve biyofilm üretme yeteneğini gösteren çalışmalarda, bu klonun yüksek bir metabolik potansiyele sahip olduğu, büyük olasılıkla “fitness” mekanizmasının bağırsak kolonizasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (78). Ancak Gibreel ve arkadaşları çalışmalarında ST131 suşlarının diğer bilinen üropatojenik *E. coli* (UPEC) suşlarından daha az virülan olduğuna dair veriler elde etmişlerdir (79). ST131 suşlarının virülansı ve metabolik “fitness” mekanizması değişkendir.

E. coli ST131 izolatlarında virülansa katkısı olan başlıca genler *sat* (salgılanan ototransporter toksini), *fimH* (tip 1 fimbria), *fyuA* (yersiniabactin reseptörü), *kpsM II* (grup 2 kapsül sentezi), *usp* (üropatojen spesifik protein), *malX* (patojenite adası markörü), *iha* (adhezin siderofor reseptörü), *ompT* (dış zar reseptörü) *iucD* (aerobactin), *iutA* (aerobactin reseptörü) ve *tratT* (serum direnci ile ilişkili)'dir (57).

f. Şiddetli ve / veya Tekrarlayan Enfeksiyonların Nedeni

ST131'in diğer *E. coli* suşlarından daha ağır bir klinik tabloya neden olup olmadığı belirsizdir, çünkü bazı çalışmalar ST131'in kalıcı veya tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına neden olma olasılığının daha yüksek olduğunu öne

sürerken, diğerleri anlamlı fark bulmamıştır (58,80). ST131'in yüksek virülans ile ilişkili H30-Rx alt klonunun sepsis ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (62). Avustralya'da yapılan bir dizi çalışmada ST131, *E. coli*'nin sebep olduğu piyelonefrit vakalarının %30'unda, sistit vakalarının %13'ünde tespit edilmiştir (78). Birleşik Krallık'ta yapılan bir çalışmada, ST131 prevalansı, bakteriyemi izolatları arasında %21 iken idrar izolatları arasında sadece %7 olarak gösterilmiştir (81).

2.2.5 *E. coli* ST131 Tespiti için Yöntemler

a. “Multi-lokus” sekans tiplendirme (MLST):

MLST yönteminde, belirli bakteri türünün izolatlarını karakterize etmek amacıyla temel metabolik fonksiyonu kodlayan “housekeeping” genlerindeki değişiklik doğrudan DNA dizi analizi ile gösterilmektedir. Yedi “housekeeping” geninin yaklaşık 500 baz çiftlik internal fragmentlerinin dizi analizi çıkarılmakta, her bir lokus için, her farklı dizilim farklı bir alel numarası ile gösterilmekte ve böylece suşa ait bir alelik profil tanımlanmaktadır (82,83). Her bir alelik profil, dizi tipi (sequence type=ST) olarak ifade edilmektedir. MLST, web tabanlı oluşturulan veritabanları aracılığıyla farklı laboratuvarlardan karşılaştırmalar yapmak için uygun bir yöntemdir. MLST, çok sayıda bakteriyel patojenin moleküler analizinde yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir. Bu yöntemle antibiyotiklere dirençli klonların tiplendirilmesinin yanı sıra, klonların evrimsel gelişimi de izlenebilmektedir (84). MLST doğrudan klinik örneklerden çalışılabilir. Ayrıca zahmetli, zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir (38).

MLST ST131'in tespiti için altın standart moleküler yöntemdir. *E. coli* ST131'i tanımlamak için sıklıkla kullanılan iki MLST şeması vardır. Achtman şeması yedi “housekeeping” genin (*adk* (adenilat kinaz), *fumC* (fumarat hidratase), *gyrB* (DNA giraz), *icd* (izositrat / izopropilmalat dehidrogenaz), *mdh* (malat dehidrogenaz), *purA* (adenilsosüksinat dehidrogenaz) ve *recA* (ATP / GTP bağlanma motifi) dizilerini kullanır. Pasteur şeması sekiz “housekeeping” geni kullanır (*dinB* (DNA polimeraz), *icdA* (isocitrate dehidrogenase), *pabB* (p -aminobenzoat sintazı), *polB* (polimeraz II [Pol II]), *putP* (prolin geçirgenliği), *trpA* (triptofan sintaz alt birimi A), *trpB* (triptofan sintaz alt birimi B) ve *uidA* (beta-glukuronidaz)). Birçok

araştırmacı, ST131'i rutin olarak tanımlamak için Achtman MLST şemasını kullanır (17).

b. Pulsed Field Jel Elektroforez (PFGE):

PFGE, yeni veya devam eden salgınlardan sorumlu farklı klonları tanımlamak için altın standart yöntemdir. Bu yöntem, agaroz içerisindeki bakteri hücrelerinden elde edilen genomik DNA'nın, uygun enzim ile kesimi sonucu oluşan bant desenlerinin yorumlanması prensibine dayanır (85). PFGE zahmetli ve zaman alıcı bir yöntem olmakla birlikte deneyimli çalışan tarafından yapılması gerekmektedir (17).

PFGE, 2000'li yılların sonlarında ST131'e ait izolatları tanımlamak için yaygın olarak kullanılmıştır (55). ST131'in yüksek düzeyde soylar arası genetik varyasyon sergileyen farklı pulsotipler bulundurması, PFGE'nin bu klonu tanımlamak için yeterli olmadığını düşündürmektedir (17).

c. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

PZR tabanlı teknikler, *E. coli* ST131'i tanımlamak için kullanılan bir başka moleküler temelli yöntem olup çok sayıda *E. coli* izolatu arasında ST131'i taramak için kullanılabilir. PZR tarama yöntemleri, O serogruplarının SNP'lerinin ve ST131'e özgü "housekeeping" genlerinin saptanmasına dayanır (57).

Bir *E. coli* izolatının ST131 soyuna ait olup olmadığını belirlemek için çeşitli PZR tarama yöntemleri yaygın olarak mevcuttur. ST131 O25b serotipi, *rfb* lokusunun 5' kısmı ve *pabB* geni allel spesifik PZR ile amplifikasyonu ile tespit edilmiştir (86). Johnson ve arkadaşları, *mdh* ve *gyrB* genlerine dayalı bir sekans methodu tasarlayarak ST131 klonunu tanımlamışlardır (53). ST131'e özgü *mdh* ve *gyrB* alelleriyle birleştirerek yapılan PZR testi ile ST131'in iki serogrubu olan O25b (*fimH30*) ve O16 (*fimH41*) ayırt edilebilir (68). *fimH30* soyunun ve H30-Rx alt klonunun tanımlanması için PZR yöntemleri de mevcuttur (61,63,68).

d. Matriks Aracılı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS):

MALDI-TOF günümüzde mikroorganizma tanımlanmasında kullanılan hızlı, ucuz, doğru sonuç veren bir yöntemdir. Bu yöntemde mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül) iyonize edildikten sonra elektrik ve/veya manyetik alandan geçirilerek protein profilleri çıkarılmaktadır. Bu profil spektralarına ait grafiksel görüntülerin sistemin veri tabanındaki referans organizmaya uyumuna göre mikroorganizmalar cins ve tür bazında tanımlanabilmektedir (87).

E. coli ST131 klonu, MALDI-TOF MS kullanılarak elde edilen spektrumlardaki klona özgü piklerin değerlendirilmesi ile, bakterinin identifikasyonu sırasında ek maliyet gerektirmeksizin, hızlı ve kolay bir şekilde tanımlanabilir. Lafolie ve arkadaşları MALDI-TOF MS ile *E. coli* ST131 klonuna özgü 6612, 9713 ve 10474 Da'daki piklerin varlığını araştırmışlardır (6). Aktaş ve arkadaşları, ST131 klonunu tespit etmede MALDI-TOF MS yöntemi ile PZR yöntemini karşılaştırmış, MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığını %92.6 ve özgüllüğünü %100 olarak bulmuşlardır (88).

2.2.6 ST131 Toplum Taşıyıcılığı ve İntestinal Kolonizasyon

Antibiyotik direnci ile ilişkili bakteriler sadece hastane ortamında değil, toplumda da yüksek seviyede dolaşım göstermektedir. Sindirim sistemi, ekstraintestinal patojenik *E. coli*'nin ana rezervuarıdır. Gastrointestinal sistemde yüksek antibiyotik direnci ile ilişkili *E. coli* kolonizasyonu, bu bakterilerin topluma yayılımı bakımından önemlidir (89). Konaklar, doğrudan (enfekte kişinin, duyarlı konakçı ve kontamine vücut sıvıları ile doğrudan temas) veya dolaylı olarak (mikroorganizmanın konakçıya bir aracı vasıtası ile bulaşması) bulaşma yoluyla kolonize olabilirler (90). Hem kolonize hem de enfekte kişiler, bu bulaşa katkıda bulunur. Kolonizasyon süresi, dirençle ilişkili “fitness” mekanizmasından ve antibiyotik kullanımından etkilenebilir. Kolonizasyon, tipik olarak kolonize hastaların bir kısmında meydana gelen enfeksiyona kadar ilerleyebilir ve bu ilerleme hızı patojenite seviyesi ile ilişkili olabilir (91).

Çok sayıda çalışmayla, toplulukta GSBL üreten Enterobacterales tarafından artan bağırsak kolonizasyon oranları belgelenmiş olup, bu oranlar coğrafi bölgeye [Asya (%2-%70) ve Afrika'ya (%7-%31) ve Avrupa (%2-%12)] göre dikkate değer bir heterojenite göstermiştir (92).

Tip 1 fimbria, mukozadaki reseptörlere bağlanmaya yardımcı olan, bakteri hücre yüzeyinde bulunan saç benzeri çıkıntılardır. *E. coli*'de tip 1 fimbria, epitel hücresi üzerindeki mannoz içeren reseptörlerle birlikte adezyona aracılık ederek kolonizasyonun gelişiminde önemli bir rol oynar (56). *fim* genleri tarafından kodlanan tip 1 fimbria, *E. coli*'de aynı zamanda önemli bir virülans faktörüdür. Totsika ve arkadaşları ST131'in *fimB* geninde ISL3 benzeri bir transpozaz olduğunu bulmuş, bu transpozazın tip 1 fimbria ekspresyonunun daha seyrek açık konuma getirilmesine neden olduğunu göstermiştir. Aynı araştırmacılar asendan idrar yolu enfeksiyonunun patofizyolojik incelemesi için fare modelini kullanmış ve tip 1 fimbria ekspresyonunu açık konuma getirebilen *E. coli* ST131 izolatlarının fare mesane ve idrarını kolonize ettiğini, tip 1 fimbria ekspresyonunu açık konuma getiremeyenlerin ise sadece idrarı kolonize ettiğini göstermiştir. Bu çalışma, tip 1 fimbriaların çoğu *E. coli* ST131 izolatının kolonizasyon açısından anahtar bir virülans faktörü olduğunu açıkça göstermiştir (93).

Toplumda antibiyotik direnci ile ilişkilendirilen yüksek riskli klonların asemptomatik taşıyıcılık oranları dünya çapında artmaktadır. Araştırmacılar kolonizasyonla ilgili bakteriyel veya konakçı faktörlerle ilgili çalışmalar yapmıştır. Yüksek riskli klonların gösterdiği pandemik yayılma potansiyelinin, aynı türün diğer klonları ile karşılaştırıldığında artan bulaşıcılık, uzun kolonizasyon süresi ve/veya daha yüksek patojenik potansiyelden kaynaklanabileceği belirtmiştir (91). Sarkar ve arkadaşlarının fare modelleriyle yaptığı çalışmada ST131 suşlarının bağırsak epitel hücrelerine adezyonunun, probiyotik ve kommensal suşlardan daha fazla gerçekleştiği belirtilmiş ve ST131 *E. coli* yüzeyinde bulunan tip 1 fimbria ekspresyonunun yüksek düzeyde intestinal kolonizasyona neden olduğu gösterilmiştir (94).

Yüksek riskli *E. coli* ST131 fekal kolonizasyon oranları dünya genelinde artmaya devam etmektedir. Farklı popülasyonlardaki ST131 fekal kolonizasyon prevalansını belirlemek için dünyanın birçok yerinde çalışmalar yapılmıştır. Spesifik

olarak GSBL üreten *E. coli* ile kolonize olan bireyler arasında ST131 taşıyıcılığının prevalansına ilişkin çalışmalarda, ST131 kolonizasyon oranları, %10-44 arasında değişmiştir (56). Bazı çalışmalar ise dışkıda saptanan tüm *E. coli* izolatları arasında ST131 taşıyıcılığını değerlendirmiş ve ST131 prevalansının %0-25 arasında değiştiğini göstermiştir (7).

Araştırmacılar, farklı popülasyonların sindirim yolunu kolonize eden GSBL üreten *E. coli* izolatları arasında ST131 prevalansını değerlendirmiştir. Çin ve Fransa'da sağlıklı bireyler arasında yapılan çalışmalarda bu oranlar sırasıyla %7 ve %9,5 olarak saptanmıştır (95,96). İsviçre'de birinci basamak sağlık merkezine başvuran hastaların %26'sında ve rehabilitasyon ünitelerinden gelen hastalarda yaklaşık %40 oranında GSBL üreten ST131 klonu bulunmuştur (97,98).

Çocuklarda bakteriyel enfeksiyonların potansiyel sonuçları ve ciddiyeti göz önüne alındığında, bu popülasyondaki ST131 kolonizasyonu ve risk faktörlerini belirlemek toplum sağlığı açısından önem arz eder. Bağırsak bakterilerinin özellikle prematüre bebeklerde epitel bariyeri boyunca kolayca invaze olabildiği göz önüne alındığında, ST131 ile kolonizasyonun bu yaş grubunda morbidite ve mortaliteyi artırdığı belirlenmiştir (99). Bir kez alındıktan sonra, ST131 de dahil olmak üzere GSBL üreten *E. coli* gibi dirençli bakterilerin, bebek bağırsağını ortalama 7.5 ay kolonize edebildiği görülmüştür (100).

Çocuk yaş grubunda *E. coli* ST131 klonu taşıyıcılığı üzerine yapılan çalışmalar ise sınırlıdır. Fransa'da yapılan bir çalışmada 2010 yılında çocukların dışkılarında bulunan GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının %10'unda ST131 klonu tespit edilmişken 2015'te bu oran %37'ye çıkmıştır (10). ABD'de 80 ikiz ve anneleri üzerinde yapılan 2 yıl süren prospektif bir kohort çalışmasında, çocukların %18'inin ve annelerin %20'sinin en az bir dışkı örneğinde siprofloksasine dirençli *E. coli* bulunduğu, bu izolatların ise %91'inin ST131 klonu olduğu tespit edilmiştir (101).

a. İntestinal Kolonizasyon Risk Faktörleri

ST131'in küresel yayılımından sorumlu olan bakteriyel faktörler net olarak aydınlatılamamış olup, bu durumun büyük ölçüde memeli bağırsağını başarılı bir şekilde kolonize etme yeteneği ile ilgili olduğu düşünülmektedir (78). ST131, her yaşta insan arasında ve hem toplum hem de hastane ortamlarında bulaşabilir. Araştırmacılar kolonizasyona neden olan risk faktörlerine ilişkin çalışmalar

yapmışlardır. Bir vaka çalışmasında, GSBL üreten ST131 *E. coli*'ye bağlı idrar yolu enfeksiyonu gelişen iki çocuk indeks hasta olarak kabul edilmiş, 19 hafta boyunca üçer dışkı örneği alınan altı üyeli hane halkının hepsinde bu suşun kolonize olduğu, alınan üç dışkı örneğinin en az ikisinde ST131 bulunduğu saptanmıştır (102).

ST131 enfeksiyonları için en sık kullanılan antimikrobiyal ajanlar arasında florokinolonlar ve sefalosporinler bulunur. Uzun süreli bakım merkezleri gibi yoğun antimikrobiyal kullanımı olan ortamlarda ST131'in yüksek prevalansı, antimikrobiyal kullanımının ST131 kolonizasyonunu kolaylaştırdığı fikrini dolaylı olarak desteklemektedir (57). Hertz ve arkadaşlarının, antibiyotik kullanımı ile ST131 bağırsak kolonizasyonu ilişkisini değerlendirdikleri fare modeli çalışmasında, sefotaksim, dikloksasilin ve klindamisin, *E. coli* ST131'in aşırı üremesini desteklediğini, klindamisin uzamış kolonizasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir (103).

Barroso ve arkadaşları hastane ve toplum kaynaklı ST131 fekal taşıyıcılığının risk faktörlerini belirlemek için yaptıkları çalışmada hastane temaslıları arasında yatağa bağımlı olma ve üriner kateter takmanın kolonizasyon ile ilişkili olduğu görülmüş, toplum temaslıları arasında ise PPI kullanımı, temaslı kişinin yaş yüksekliğinin kolonizasyon açısından risk oluşturduğu görülmüştür (58). Fransa'da çocuklarda ST131 kolonizasyonu için risk faktörlerinin belirlendiği bir çalışmada son 6 ayda hastaneye yatış öyküsünün anlamlı bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (10).

Aynı hane halkı arasında bulaş durumunun evcil hayvanlar için de geçerli olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada ST131'e bağlı tekrarlayan asemptomatik bakteriüri gelişen köpeklerle aynı hane içindeki diğer köpek ve kedilerden dışkı örnekleri alınmış ve ST131, indeks köpeğin ve iki ev kedisinin dışkısında bulunmuştur. Tümü sefalosporine duyarlı olan ve CTX-M-15 bulundurmayan bu ST131 izolatları, birbirleriyle ve indeks idrar izolatu ile karşılaştırıldığında aynı virülans gen ve PFGE profillerine sahip olduğu görülmüştür (104).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız prospektif ve tanımlayıcı bir çalışma olarak tasarlanmıştır.

Çalışmanın tasarımı, Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO) kılavuzuna uygun olarak yapılmıştır (MICRO, The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) kılavuzunun modifikasyonudur) (105,106).

Uluslararası etik kurallarına uyulmuş ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan 27.04.2021 tarihli 3245 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.1 BAKTERİYEL İZOLATLAR

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Nisan 2021 - Ekim 2021 tarihleri arasında yapılmıştır ve genel pediatri polikliniğine kontrol amaçlı başvuran çocuklardan gönderilen dışkı örnekleri toplanmıştır. Aynı dönemde pediatri servis ve polikliniklerinden gönderilmiş olan klinik örneklerden izole edilen *E. coli* izolatları da değerlendirilmiştir. Klinik örneklerden elde edilen *E. coli* izolatlarında kolonizasyon-enfeksiyon ayrımı pediatri uzmanları tarafından yapılmış olup, hastalık etkeni olarak değerlendirilen *E. coli* izolatları çalışmaya dahil edilmiştir.

Aynı hastadan tekrarlayan örnekler çalışmadan dışlanmıştır. Dışkı örnekleri için genel pediatri polikliniğine başvuran çocuklar için başvurudan önceki 1 ay içerisinde antibiyotik kullanan, gastrointestinal sistem patolojisi olan, kronik hastalığı olan ve hastaneye yatışı olan çocuklar çalışma dışında bırakılmıştır.

Sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığını belirlemek için genel pediatri polikliniği 2019 yılı hasta sayısı 3136 kişi, 2021 yılı öngörülerek %5 hata payı ile %80-99 güven seviyelerinde örneklem büyüklükleri hesaplanmıştır. Çalışmaya %90 güven seviyesini karşılayacak şekilde 340 dışkı izolatı dahil edilmiştir. Çalışma periyodunda elde edilen 200 klinik izolatı çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2 HASTA BİLGİLERİNİN TOPLANMASI

Genel pediatri polikliniğine başvuran çocuklara ait bilgiler, çocukların veli/vasileriyle görüşülerek yaş, cinsiyet, doğum şekli, son üç ayda antibiyotik kullanımı, son 6 ayda enfeksiyon geçirme öyküsü, hastaneye yatış öyküsü, kardeş varlığı, evde hayvan besleme durumunu içeren hasta bilgileri, anket formu ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formu doldurularak toplanmıştır (Ek 1 ve Ek 2). Risk faktörleri belirlenirken literatürdeki çalışmalardan yararlanılmıştır (10,107,108). Elde edilen veriler Excel programında depolanmıştır.

3.3 BAKTERİ TANIMLAMASI

Genel pediatri polikliniğine başvuran 0-18 yaş grubu çocuklardan kontrol amaçlı gönderilen dışkı örnekleri chromID CPS®Elite (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) ve CHROMID® ESBL (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) plaklarına ekilmiştir (109,110). Ekim yapılan plaklar $35,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası chromID CPS®Elite (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) plaklarından elde edilen koloniler, matriks aracılı lazer dezorbsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi MALDI-TOF MS (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) ile tanımlanmıştır. Tanımlama sonucu *E. coli* olarak identifiye edilen koloniler çalışmaya alınmıştır. *Escherichia coli* ATCC 8739 suşu, tanımlama sırasında kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Benzer zamanda çeşitli çocuk poliklinik ve servislerinden gönderilen klinik örnekler toplanmıştır. İdrar örneklerinin ekimi için chromID CPS®Elite (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France), diğer klinik örnekler (invaziv idrar örnekleri, apse, yara, steril vücut sıvıları, trakeal aspirat) için Columbia agar + %5 sheep blood, Mac Conkey Agar ve Chocolate Agar + PoliviteX™ (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) besiyerleri kullanılmıştır. Kültür ekim yöntemleri, rehberine uygun olarak yapılmıştır (111).

3.4 ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, VITEK 2 sistemi (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, France) veya Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) önerileri doğrultusunda yapılmıştır (112). Klinik örneklerin antimikrobiyal duyarlılık testi, AST N325 ve N327 kartlarıyla VITEK-2 (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) sistemiyle yapılmıştır. Gerekli durumlarda GSBL doğrulaması çift disk sinerji testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çift disk sinerji yöntemine göre sefalosporin (sefotaksim, seftazidime, sefepim) içeren diskler, plakta amoksisilin-klavulanik asit diskinin yanına konmuştur. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin zon çapı klavulanik asit diskinin bakan yüzünde genişlemesi, veya arada üremenin olmadığı bir "anahtar deliği" görülmesi durumunda, test pozitif olarak değerlendirilmiştir (112).

Klinik örnekler için VITEK 2 sistemi ile, dışkı örnekleri için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile gentamisin (10 µg), ertapenem (10 µg), meropenem (10 µg), seftriakson (30 µg), siprofloksasin (5 µg) (Bioanalyse®, Turkey) antibiyotiklerine duyarlılık testi yapılmıştır. Antibiyotik seçimi yapılırken çeşitli literatürler dikkate alınmış olup, ST131 klonunda dirençle ilişkilendirilmiş antibiyotikler seçilmiştir (10,12,101,102). Sonuçlar excel dosyasına kaydedilmiştir.

3.5 MALDI -TOF MS ile ST131 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Yüksek riskli *E. coli* ST131 klonunun tespiti, laboratuvarımızda bakteri tiplendirilmesinde rutin olarak kullanılan MALDI-TOF MS sistemi ile Lafolie ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemler esas alınarak yapılmıştır (6). Kütle spektrumları, 2,000 ila 20,000 Da kütle aralığı üzerinde 60 Hz'lik bir lazer frekansında doğrusal pozitif iyon modunda çalışan bioMe'rieux – VITEK® MS Acquisition Station v1.6.0 platformu ile elde edilmiştir. ST131 olan ve ST131 olmayan izolatları ayırt eden pikler, spesifik spektrumların görsel olarak karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. Yaklaşık olarak 9713, 6612 ve 10474 m/z'de ST131 izolatları ayıran piklerin varlığı araştırılmış ve her izolatin kütle spektrumları not edilmiştir. ST131 olmayan izolatlar için ise yaklaşık 9740 m/z'deki pikin varlığı araştırılmıştır (6). Kontrol suşu olarak MLST ile tanımlanmış ST131 olan ve ST131

olmayan izolatlar kullanılmıştır. Dışkı kültürlerinde üreyen beş adet koloni ST131 varlığı açısından değerlendirilmiştir (113,114). Sonuçlar excel dosyasına kaydedilmiştir.

3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

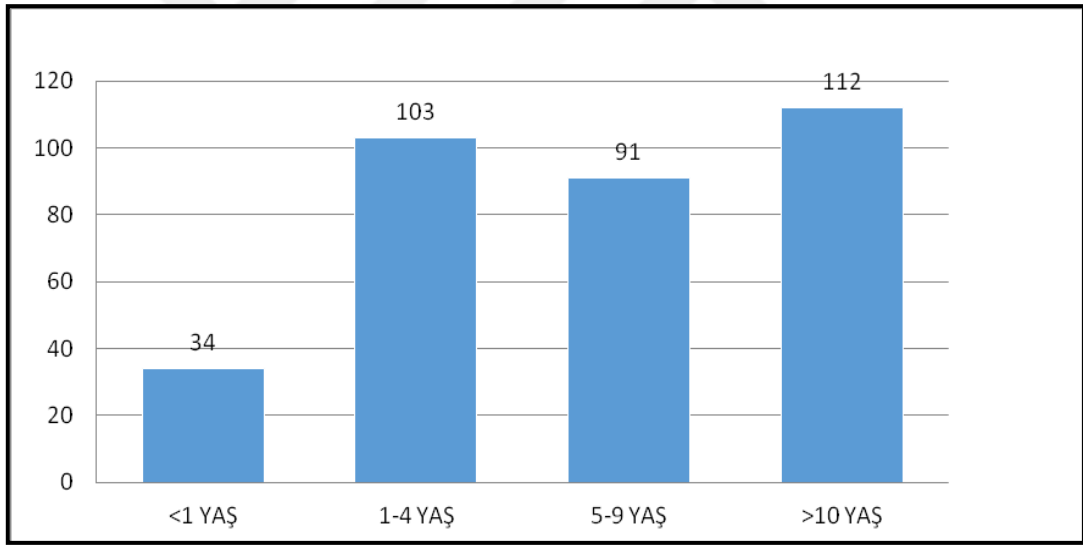
İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum, maksimum, median olarak verilmiştir. Gruplarda oranlar Ki Kare Testi ile karşılaştırılmıştır. Sayısal değişkenlerin bağımsız iki grup karşılaştırmaları normal dağılım koşulu sağlanmadığından Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. Risk faktörleri Lojistik Regresyon Analizi ile incelenmiştir. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 ÇALIŞMA POPULASYONUNUN VE İZOLATLARIN ÖZELLİKLERİ

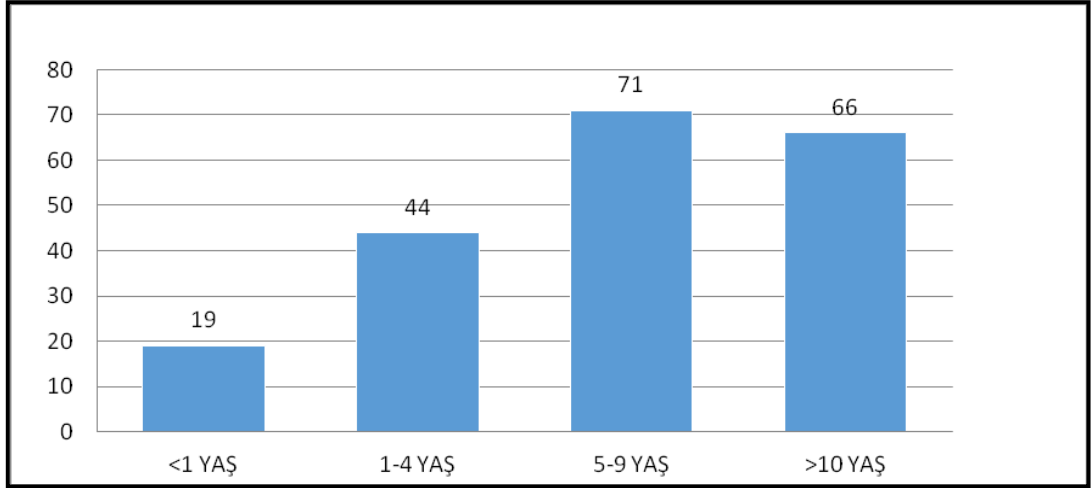
Bu çalışmaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Nisan-Ekim 2021 tarihleri arasında sağlıklı çocuklardan gönderilen 340 dışkı *E. coli* izolatu ve çeşitli klinik örneklerden elde edilen 200 klinik *E. coli* izolatu dahil edilmiştir.

Dışkı örnekleri gönderilen sağlıklı çocuklarda ortalama yaş 6.9 ± 5.3 olarak saptanmıştır. Dışkı örneği değerlendirilen sağlıklı çocukların yaş dağılımı Şekil 2’de gösterilmiştir. İncelenen dışkı örneklerinin, 171’i (%50.3) erkek, 169’u (%49.7) kız çocuklardan toplanmıştır.

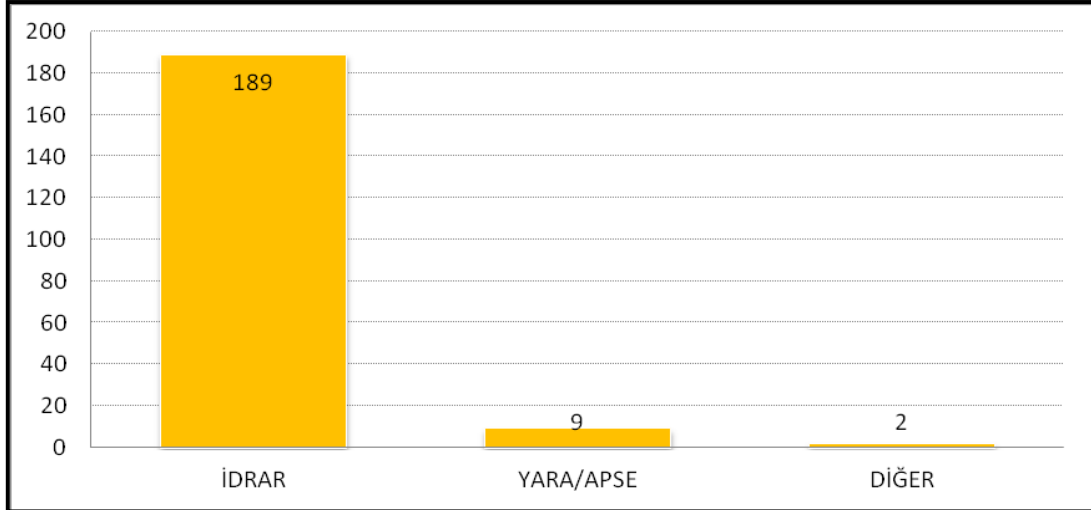


Şekil 2. Dışkı örnekleri değerlendirilen sağlıklı çocukların yaş dağılımı

Klinik izolatların, 163’ü (%81.5) kız, 37’si (%18.5) erkek hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların yaş dağılımı ve *E. coli* izolatlarının örnek türlerine göre dağılımı Şekil 3 ve 4’te gösterilmiştir. Klinik hastalarda ortalama yaş 7.5 ± 5.0 olarak saptanmıştır. 200 izolatın 182’si polikliniklerden, 18’i servislerden gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Klinik örnekleri çalışılan hastaların birimlere göre dağılımı Şekil 5 ’te gösterilmiştir.

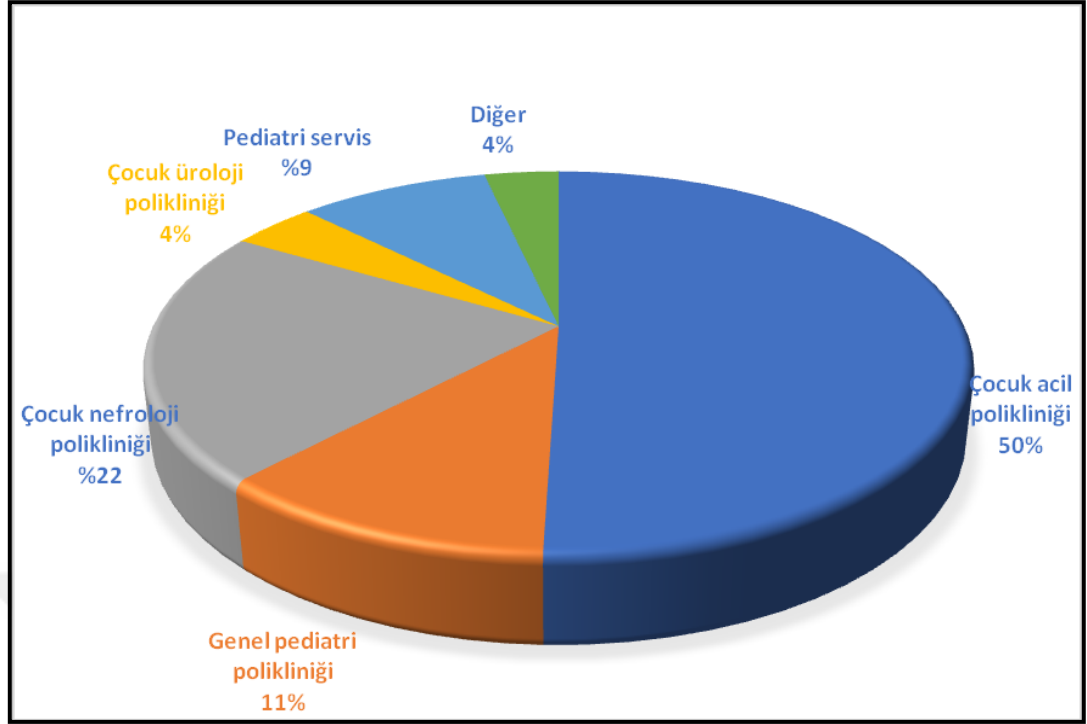


Şekil 3. Klinik örnekleri değerlendirilen çocuk hastaların yaş dağılımı



Şekil 4. Klinik *E. coli* izolatlarının örnek türlerine göre dağılımı

DİĞER: periton, trakeal aspirat



Şekil 5. Klinik örnekleri çalışılan hastaların birimlere göre dağılımı

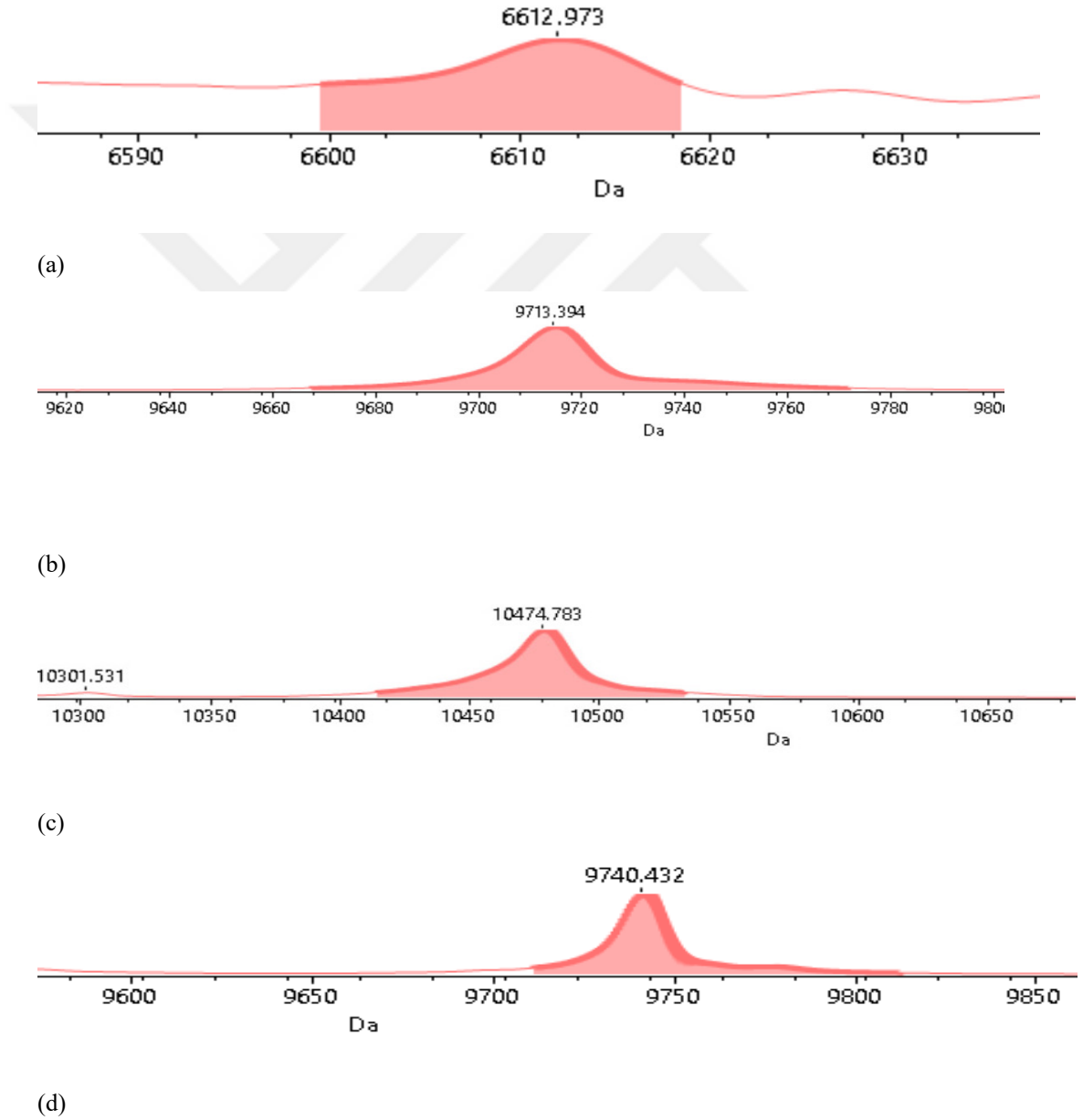
Diğer: Çocuk cerrahisi polikliniği, çocuk gastroenteroloji polikliniği, çocuk hematoloji polikliniği

4.2 ST131 TANIMLAMA SONUÇLARI

Dışkı örneklerinden elde edilen 340 *E. coli* izolatın 84 (%24.7)'ü, 200 klinik izolatın ise 89 (%44.5)'u ST131 klonu olarak tespit edilmiştir. Dışkı örneklerinden ve klinik örneklerden elde edilen ST131 klonuna ait izolatların sayı ve yüzdeleri Tablo 1'de gösterilmiştir. ST131 oranının klinik izolatlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Klinik örnekleri değerlendirilen çocuk hastaların ve dışkı örneği değerlendirilen sağlıklı çocukların demografik özelliklerine göre ST131 durumu Tablo 2'de verilmiştir.

ST131 varlığı açısından klinik ve dışkı izolatları değerlendirildiğinde, hastaların ve sağlıklı çocukların cinsiyetleri ve yaşları ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Klinik ve dışkı izolatları için 5 yaş altı çocuklar ile 5 yaş üstü çocuklar karşılaştırıldığında, ST131 varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 2).

MALDI-TOF MS ile tespit edilen ST131 ve ST131 dışı izolatlara özgü pikler Şekil 6'da gösterilmiştir. Değerlendirmeye alınan beş izolatin her birinde benzer pik değerleri elde edilmiştir.



Şekil 6. MALDI-TOF MS ile tespit edilen ST131 ve ST131 dışı izolatlara ait özgül pikler

ST131 ayırıcı pikleri yaklaşık 6612 (a), 9713 (b) ve 10474 (c) m/z
ST131 dışı ayırıcı pikleri yaklaşık 9740 (d) m/z

Tablo 1. Dışkı izolatlarında ve klinik izolatlarda ST131 dağılımı

ST131 n (%)		Dışkı	Klinik	P
	Negatif	256(75.3)	111(55.5)	<0.001*
	Pozitif	84(24.7)	89(44.5)	

Tablo 2. Klinik örnekleri değerlendirilen çocuk hastaların ve dışkı örneği değerlendirilen sağlıklı çocukların demografik özelliklerine göre ST131 durumu

ST131						
			Total	Negatif	Pozitif	p
Dışkı Örnek	Cinsiyet	Erkek	171 (50,3%)	133 (52,0%)	38 (45,2%)	0,285
		Kız	169 (49,7%)	123 (48,0%)	46 (54,8%)	
	Yaş	6,9±5,3	6,7±5,4	7,5±4,5	0,139	
	Yaş	<5 yaş	137 (40,3%)	110 (43,0%)	27 (32,1%)	0,079
Klinik Örnek	Cinsiyet	Erkek	37 (18,5%)	18 (16,2%)	19 (21,3%)	0,353
		Kız	163 (81,5%)	93 (83,8%)	70 (78,7%)	
	Yaş	7,5±5,0	7,7±4,8	7,2±5,2	0,513	
	Yaş	<5 yaş	63 (31,5%)	33 (29,7%)	30 (33,7%)	0,547

4.3 DIŞKI İZOLATLARINDA GSBL ve ST131 DAĞILIMI

Dışkı örneklerinde tarama plağında üreyen 151 *E. coli* izolatı için çift disk sinerji testi ile doğrulama testi yapılmış olup, 81 *E. coli* izolatının GSBL üreticisi olduğu tespit edilmiştir. GSBL üreten dışkı izolatların 24'ü (%29.6), GSBL üretmeyen izolatların 60'ı (%23.2) ST131 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). ST131 klonuna ait izolatlarla, ST131 dışı izolatlar arasında GSBL pozitifliği oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.289$). ST131 olarak saptanan 84 izolatın 24'ünün (%28.6) GSBL ürettiği tespit edilmiştir. ST131 dışı izolatların ise 57'sinin (%22.3) GSBL ürettiği tespit edilmiştir (Tablo 3). GSBL üreten izolatlarla, GSBL üretmeyen izolatlar arasında ST131 klonu oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.289$).

Tablo 3. Çalışmaya alınan dışkı izolatlarındaki ST131 ve GSBL dağılımı

	GSBL			p
	Toplam	Pozitif	Negatif	
	n	n	n	
ST131	84	24	60	0.289
ST131 dışı	256	57	199	
Toplam	340	81	259	

4.4 KLİNİK İZOLATLARDA GSBL ve ST131 DAĞILIMI

Çalışmaya alınan 200 klinik izolatın 44 (%22)'ünün GSBL ürettiği tespit edilmiştir. GSBL üreten klinik izolatların 20'si (%45.5.), GSBL üretmeyen izolatların 69'u (%44.2) ST131 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4). GSBL üreten izolatlarla, GSBL üretmeyen izolatlar arasında ST131 klonu oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.885$). ST131 izolatlarının 20'sinin (%22.5), ST131 dışı izolatların 24'ünün (%21.6) GSBL ürettiği tespit edilmiştir (Tablo 4). ST131 klonuna ait izolatlarla, ST131 dışı izolatlar arasında GSBL pozitifliği oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.885$).

Tablo 4. Çalışmaya alınan klinik izolatlardaki ST131 ve GSBL dağılımı

	GSBL			p
	Toplam	Pozitif	Negatif	
	n	n	n	
ST131	89	20	69	0.885
ST131 dışı	111	24	87	
Toplam	200	44	156	

Klinik örneklerdeki ST131 sayıları, idrar izolatlarında 87 (%46), yara-apse izolatlarında 1 (%11.1), diğer izolatlarda 1 (%25) olarak belirlenmiştir.

4.5 ST131 KLONU DIŞKI ve KLİNİK İZOLATLARDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

ST131 klonu dışkı ve klinik izolatlarda antimikrobiyal direnç oranları Tablo 5'te verilmiştir. ST131 klonuna ait dışkı izolatlarında en yüksek direnç oranı,

seftriaksona karşı (%41.6) saptanmıştır. ST131 klonuna ait klinik izolatlarda en yüksek direnç oranı, siprofloksasine karşı (%18) saptanmıştır. ST131 izolatlarındaki karbapenem direnç oranları klinik izolatlarda ertapenem için %2.3 olarak belirlenmiş, meropeneme karşı direnç saptanmamıştır. ST131 dışkı izolatlarında karbapenem direnci saptanmamıştır. (Tablo 5).

ST131 dışkı izolatlarında, ST131 klinik izolatlara göre seftriakson direncinde anlamlı bir fark görülmüş olup siprofloksasin, gentamisin, ertapenem ve meropenem direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 6).

Tablo 5. ST131 klonu olan dışkı izolatlarında ve klinik izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu

		ST131 izolatlar		p değeri
		Dışkı	Klinik	
Seftriakson n(%)	S	48 (58.4)	74 (83.2)	0.001*
	R	35 (41.6)	15 (16.8)	
Siprofloksasin n(%)	S	65 (77.4)	73 (82)	0.448
	R	19 (22.6)	16 (18.0)	
Gentamisin n(%)	S	76 (90.5)	86 (96.7)	0.097
	R	8 (9.5)	3 (3.3)	
Ertapenem n(%)	S	84 (100)	87 (97.7)	0.498
	R	0 (0.0)	2 (2.3)	
Meropenem n(%)	S	84 (100)	89(100)	-
	R	0 (0.0)	0 (0.0)	
GSBL n(%)		24(28.6)	20(22.5)	0.441

4.6 ST131 ve ST131 DIŞI KLİNİK İZOLATLARDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

ST131 ve ST131 dışı klinik izolatlardaki antimikrobiyal direnç durumları Tablo 6'da gösterilmiştir. ST131 izolatlarının 16'sı (%18) siprofloksasin dirençli olarak belirlenmiştir. ST131 dışı izolatlardaki siprofloksasin direnci %11.7 olarak saptanmıştır. ST131 izolatlarındaki karbapenem direnç oranları ertapenem için %2.3 iken meropeneme karşı direnç saptanmamıştır. ST131 dışı klinik izolatlarda ertapenem direnci %1.8 iken meropeneme karşı direnç görülmemiştir. Klinik

örneklerdeki GSBL pozitiflik oranı %22 olarak bulunmuştur. Siprofloksasin dirençli tüm klinik izolatların 16'sında (%55.2) ST131 klonu tespit edilmiştir.

ST131 izolatlarında, ST131 dışı izolatlara göre siprofloksasin, seftriakson, gentamisin, ertapenem, meropenem direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Klinik örneklere ait ST131 ile ST131 dışı izolatlarda antimikrobiyal direnç

		Klinik Örnekler		
		ST131	ST131 dışı	p değeri
Seftriakson n(%)	S	74 (83.1)	92 (82.9)	0.961
	R	15 (16.9)	19 (17.1)	
Siprofloksasin n(%)	S	73 (82)	98 (88.3)	0.211
	R	16 (18.0)	13 (11.7)	
Gentamisin n(%)	S	86 (96.7)	100 (90.1)	1.000
	R	3 (3.3)	11 (9.9)	
Ertapenem n(%)	S	87 (97.8)	109 (98.2)	0.072
	R	2 (2.2)	2 (1.8)	
Meropenem n(%)	S	89(100)	111(100)	-
	R	0 (0.0)	0 (0.0)	
GSBL n(%)		20(22.5)	24(21.6)	0.885

4.7 ST131 KOLONİZASYONUNUN RİSK FAKTÖRLERİ ile İLİŞKİSİ

Sağlıklı çocuklarda ST131 kolonizasyonu ile ilişkili olabilecek yaş, cinsiyet, doğum şekli, son üç ayda antibiyotik kullanımı, son altı ayda enfeksiyon geçirme öyküsü, hastaneye yatış ya da ameliyat olma öyküsü, kardeş sayısı, evde hayvan besleme durumunu içeren hasta bilgileri değerlendirildiğinde; ST131 taşıyıcılığı olan sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olmayan çocuklara göre sezaryen doğum oranı düşük, kardeş varlığı oranı yüksek saptanmıştır (p=0,002, p=0,042). Değerlendirilen diğer faktörler için anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı için değerlendirilen olası risk faktörleri

Dışkı Örnek ST131				
	Total (n=340)	ST131 dışı (n=256)	ST131 (n=84)	p
Preterm Doğum	49 (14,4%)	36 (14,1%)	13 (15,5%)	0,749
Sezaryen	191 (56,2%)	156 (%60,9)	35 (%41,7)	0,002
Hayvan Besleme	118 (34,7%)	86 (%33,6)	32 (%38,1)	0,452
Kardeş varlığı	237 (69,7%)	171 (%66,8)	66 (%78,6)	0,042
Son 6 Ayda Enfeksiyon Geçirme	83 (24,5%)	57 (%22,4)	26 (%31,0)	0,112
Son 3 Ayda Antibiyotik Kullanımı	38 (11,2%)	27 (%10,5)	11 (%13,1)	0,520
Son 6 Ayda Hastaneye Yatış	7 (2,1%)	7 (%2,7)	0 (%0,0)	0,200
Doğumdan Sonra Hastaneye Yatış	116 (34,1%)	91 (%35,5)	25 (%29,8)	0,332

Tek değişkenli analizlerde $p < 0,250$ saptanan değişkenlerden oluşturulan modelde sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olası risk faktörleri çok değişkenli Lojistik Regresyon Analizi ile incelenmiş olup sezaryen doğum, ST131 taşıyıcılığı açısından koruyucu faktör olarak saptanmıştır ($p = 0,002$ OR:0,424 %95 CI:0,249-0,724) (Tablo 8).

Tablo 8. Sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı için değerlendirilen olası risk faktörleri

	p	OR	95,0% C.I.	OR
Cinsiyet (Ref:Erkek) Kadın	0,281	1,336	0,789	2,261
Yaş	0,353	0,961	0,883	1,046
Sezaryen	0,002	0,424	0,249	0,724
Kardeş Varlığı	0,064	1,798	0,965	3,350
Son 6 Ayda Enfeksiyon Geçirme	0,153	1,536	0,853	2,768
Son 6 Ayda Hastaneye Yatış	0,999	0,000	0,000	.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda hastanemizde sağlıklı çocukların dışkı örneklerinden ve çocuk hastaların çeşitli klinik örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarında ST131 klonu yüksek oranlarda (sırasıyla %24.7 ve %44.5) tespit edilmiştir. Klinik izolatlardaki ST131 oranı dışkı izolatlarındaki ST131 oranından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). ST131 taşıyıcılığı olan sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olmayan çocuklara göre sezaryen doğum oranı düşük, kardeş varlığı oranı yüksek saptanmış ($p=0,002$, $p=0,042$) olup sezaryen doğum, ST131 taşıyıcılığı açısından koruyucu faktör olarak saptanmıştır.

CTX-M ve kinolon direnci ile ilişkili ST131 klonu, antibiyotik direncinin dünya çapında artan prevalansından ve yayılımından sorumludur. Klinik *E. coli* izolatları arasında ST131 klonunun prevalansı, çalışılan popülasyon, coğrafi bölge, konak özellikleri, çalışmanın yapıldığı zamana göre %12.5-30 arasında değişen oranlarda rapor edilmiştir. ST131 oranı, florokinolon direçli izolatlarda %70–80 ve GSBL pozitif izolatlarda %50–60 oranında tespit edilmiştir (7). Türkiye’de ilk kez 2008 yılında, Yumuk ve arkadaşlarının çalışmasında GSBL üreten 17 *E. coli* izolatından birinin ST131 klonu olduğu bildirilmiştir (47). Can ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada, kan kültüründen izole edilen 297 *E. coli* suşunun 49’unda (%16) ST131 klonu tespit edilmiştir. Tüm izolatlardaki GSBL pozitifliği %45, GSBL üreten izolatlardaki ST131 klonu oranı %31 olarak bulunmuştur. Ayrıca araştırmacılar ST131 prevalansının dört yılda %13’ten %23’e yükseldiğini belirtmişlerdir (66). Can ve arkadaşları yaptıkları diğer bir çalışmada idrardan elde ettikleri 294 *E. coli* izolatının 35’ini (%12) ST131 olarak tespit etmişlerdir. ST131 olarak tespit edilen *E. coli* izolatlarından 21’i (%60) GSBL pozitif iken, ST131 dışı izolatların 49’unun (%19) GSBL ürettiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar idrar yolu enfeksiyonlarında *E. coli* ST131 klonunun global dirençle ilişkili olduğu ve tedavi başarısızlığının bir göstergesi olduğunu düşünmüşlerdir (115). Demirci ve arkadaşları idrar örneklerinden elde ettikleri 101 *E. coli* izolatının 23 (%22.27)’ünü ST131 olarak tespit etmişlerdir (116). İsmail ve arkadaşları İYE tanısı almış 221 genç kadından elde edilen *E. coli* izolatlarının 65’ini (%29,4) ST131

klonu olarak saptamışlardır. Ayrıca ST131 klonundaki izolatların diğer klonlara göre kinolonlara karşı daha dirençli (%6.2'ye karşı %1.3) olarak tespit etmişlerdir (117). Hastanemizde 700 klinik izolat ile yapılan çalışmadan ST131 oranı %34.3 olarak saptanmıştır (118).

ST131'in küresel olarak yayılmasına zemin hazırlayan önemli faktörlerden biri, sağlıklı bireyler arasında taşınmasıdır. ST131 asemptomatik bağırsak kolonizasyonu, gelecekte tedavi edilmesi zor enfeksiyonlara dönüşebilme potansiyeli nedeniyle endişe edici bir durum haline gelmiştir (119). Özellikle GSBL üreten *E. coli* ile kolonize bireyler arasında ST131 taşıyıcılığının prevalansına ilişkin çalışmalarda, ST131 kolonizasyon oranları, %10-44 arasında değişmiştir (56). Bazı çalışmalar ise dışkıda saptanan tüm *E. coli* izolatları arasında ST131 taşıyıcılığını değerlendirmiş ve ST131 prevalansının %0-25 arasında değiştiğini bulmuştur (7). 340 dışkı örneğinin dahil edildiği çalışmamızda, ST131 oranı literatürle uyumlu olarak oldukça yüksek oranda bulunmuştur (%24.7). ST131 *E. coli* tarafından bağırsak kolonizasyonu sonraki enfeksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çocuklarda görülen ST131 gastrointestinal kolonizasyonu, potansiyel olarak yaygın topluluk yayılımını düşündürür ve çocuklarda “potansiyel patojen” olarak bu klon üzerinde odaklanmayı gerektirir.

Çocuklarda GSBL üreten Enterobacterales üyelerinin taşıyıcılığındaki artışın ST131 klonal grubunun kitlesel yayılımı nedeniyle olabileceği bildirilmiştir (7). Pediatrik popülasyonda ST131 *E. coli* kolonizasyonu, çeşitli ülkelerde farklı prevalans oranlarıyla rapor edilmiştir. Birgy ve arkadaşları yaptıkları prospektif çalışmada 2010-2015 yılları arasında 6-24 aylık çocuklarda ST131 taşıyıcılığını araştırmış, 2010'da GSBL *E. coli* izolatları arasında ST131 oranı %5 olarak saptanırken 2015'te bu oran %37 olarak saptanmıştır (10). Fransa'da çocukların dışkılarından izole edilen CTX-M üreten 27 *E. coli* izolatının %44'ünde ST131 tespit edilmiştir (12). Çalışmamızda dışkı izolatlarının 81'inin (%23.8) GSBL ürettiği saptanmıştır. GSBL üreten dışkı izolatlarının 24'ü (%29.6), GSBL üretmeyen izolatların 60'ı (%23.2) ST131 olarak tespit edilmiş olup GSBL üreten izolatlarla, GSBL üretmeyen izolatlar arasında ST131 klonu oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Dışkıdan elde edilen ST131 izolatlarının

%28.6'sının GSBL ürettiği ve bu oranın ST131 dışı izolatlardaki GSBL oranına (%22.3) göre yüksek olduğu bulunmuştur.

Özellikle pediatrik yaş grubunda dirençli enfeksiyonların klinik yönetimi sorunludur ve bu enfeksiyonlar komplikasyonlara neden olma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle bu popülasyonda, çoklu ilaca dirençli bakterileri ve ilişkili yüksek riskli klonları belirlemek gerekmektedir (9). Ancak çocuklarda yüksek riskli ST131 klonunun varlığına ilişkin çalışmalar sınırlıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde pediatrik hastalarla yapılan bir çalışmada, GSBL üreten 68 *E. coli* izolatında ST131 prevalansı %10 olarak bulunmuştur (120). Avusturalya'da çocuk hastalara ait 165 idrar *E. coli* izolatı ile yapılan çalışmada ST131 prevalansı %12 olarak bulunmuştur (121). Güney Kore'de yapılan bir araştırmada, çocuk hastalara ait GSBL üreten klinik izolatlarda ST131 oranı %50 olarak tespit edilmiştir (122). Park ve arkadaşları, çocuklara ait 117 bakteriyemi izolatında ST131 oranını %11.9 olarak tespit etmiştir (123). Tayvan'da çocuklara ait GSBL üreten 111 üriner *E. coli* izolatında O25b-ST131 oranı %65 olarak bulunmuştur (124). Hastanemizde pediatrik popülasyonda daha önce yapılan bir çalışmada, GSBL üreten *E. coli* klinik izolatlarında ST131 klonunu %40 oranında tespit etmişlerdir (9). Bu çalışmamızda ise, ST131 oranı oldukça yüksek oranda bulunmuştur (%44.5). Klinik izolatların 44'ünün (%22) GSBL ürettiği saptanmıştır. GSBL üreten klinik izolatların 20'si (%44.4), GSBL üretmeyen izolatların 69'u (%44.2) ST131 olarak tespit edilmiş olup GSBL üreten izolatlarda ST131 oranı ile GSBL üretmeyen izolatlardaki ST131 oranı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Klinik ST131 izolatlarının %22.5'inin GSBL ürettiği belirlenmiş ve bu oranla ST131 dışı izolatlardaki GSBL oranı (%21.6) arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Yaşlılardakine benzer şekilde küçük çocuklarda immün yetmezlik, annede enfeksiyon ve kolonizasyona, ev temaslıları arasında bulaşa bağlı ST131 klonun yüksek düzeyde olabileceği düşünülmektedir (7,12,102,125). Bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlı olup Miles-Jay ve arkadaşları, ST131 oranını küçük çocuklarda daha yüksek oranda bulmuştur (126). Hastanemizde yapılan bir çalışmada *E. coli* ST131 oranı 5 yaş altı çocuklarda 5 yaş üstü çocuklara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (9). Klinik izolatlar ve dışkı izolatların dahil edildiği çalışmamızda 5

yaş altı ile 5 yaş üstü çocuklar arasında *E. coli* ST131 oranı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olan ekstraintestinal patojenik *E. coli* suşlarının genellikle proksimal bulaş yoluyla konağın kendi bağırsak mikrobiyotasından türediği bildirilmiş, belirli bir klonla yaygın bağırsak kolonizasyonunun klonların pandemik yayılımına neden olabileceği düşünülmüştür (127,128). Çeşitli çalışmalarda, ST131 klonunun enfekte olmamış konakların yaygın ve kalıcı bir kolonizasyona neden olduğu ve klinik hastalığa yol açabileceği bildirilmiştir (56,58,102,129-131). Bağırsak kolonizasyonunun klinik enfeksiyon oluşturma durumunu ele alan çalışmalar ise kısıtlıdır. Hussain ve arkadaşlarının 350 klinik izolatla ve sağlıklı kişilerden topladıkları 50 dışkı örneğiyle yaptıkları çalışmada klinik izolatlardaki ST131 oranını dışkı izolatlarından yüksek olarak bulmuşlardır (132). Çalışmamızda klinik izolatlardaki ST131 oranı dışkı izolatlarındaki ST131 oranından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). ST131 klonunun, klinik izolatlarda yüksek oranlarda tespit edilmiş olmasının, ST131 klonunun virülans özelliğinin artışından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. ST131 klonunda belirtilen uzun kolonizasyon özelliğinin enfeksiyona yakınlık oluşturabileceği düşünülmüştür.

ST131 izolatlarında çeşitli IncF plazmidleri belirlenmiştir (17). Bu plazmidlerin florokinolonlar, makrolidler ve aminoglikozitler de dahil olmak üzere, birden fazla direnç geni taşıdığı bilinmektedir (71). Aktaş ve arkadaşları çalışmalarında ST131 izolatlarında siprofloksasin direncinin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (88). Çizmeci ve arkadaşları çalışmalarında siprofloksasin direncini, ST131 izolatlarında, ST131 klonu olmayan izolatlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (133). 2016 yılında Can ve arkadaşları ST131 izolatları arasında siprofloksasin, amoksisilin-klavunat, ampicilin-sulbaktam, aztreonam, levofloksasin, piperasilin-tazobaktam, sefazolin, sefotaksim, seftriakson direncini, ST131 dışındaki izolatlara göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (114).

Pediyatrik popülasyonda yüksek riskli ST131 klonunda antibiyotik direncine ilişkin çalışmalar sınırlıdır. Yun ve arkadaşları pediyatrik hastalarda yaptıkları çalışmada, siprofloksasin direncini ST131 izolatlarda ST131 dışı izolatlara göre

anlamli derecede yu'ksek bulunmuştur (134). Hastanemizde yapılan bir çalışmada, çocuklara ait GSBL u'reten ST131 izolatlarında siprofloksasin direnci %45.6 bulunurken, bu oran GSBL u'reten ST131 dışı izolatlarda % 31.6 olarak tespit edilmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamli derecede yu'ksek bulunmuştur (9). Pediatrik popu'lasyonda yapılan çalışmamızda, t'um dışkı u'rnelerinden ve klinik u'rnelerden izole edilen t'um ST131 *E. coli* izolatlarında siprofloksasin direnci sırasıyla %22.6 ve %18 olarak tespit edilmiştir. ST131 klinik izolatlarda siprofloksasin direnci ST131 dışı klinik izolatlardakinden daha yu'ksek saptanmış olup anlamli bir fark g'oru'lmemiştir. Siprofloksasin dirençli t'um klinik izolatların 16'sında (%55.2) ST131 klonu tespit edilmiştir. ST131 izolatlarında, pediatrik popu'lasyonda yaygın olarak kullanılmayan siprofloksasine karşı yu'ksek direnç oranları, dolaşımdaki yu'ksek riskli klonların etkisinin onemini g'osterebilir.

Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, çocuklara ait kan izolatlarında sefalosporin grubu antibiyotik direncini incelenmiş ST131 olan izolatlar ile ST131 olmayan izolatlar arasında anlamli fark saptanmamıştır. Aynı çalışmada, gentamisin direnci ST131 izolatlarda anlamli derecede yu'ksek bulunmuştur (123). Kore'de çocuklardan elde edilen klinik izolatlarla yapılan bir çalışmada, gentamisin direnci ST131 izolatlarda ST131 olmayan izolatlara g'ore daha yu'ksek bulunmuş olup bu farkın anlamli olmadığı saptanmıştır (134). *E. coli* izolatları arasındaki karbapenem direnci, klinisyenler için onemli bir zorluk teşkil etmektedir. SMART k'u'sel s'u'rveyans çalışmasında karbapenemaz u'reten *E. coli* izolatlarının %35'inin ST131 klonuna ait olduğu g'osterilmiştir (135). Çalışmamızda, iki karbapenem dirençli klinik izolat ST131 olarak belirlenmiştir. Karbapenem dirençli izolatlarda, ST131 klonlarının oranlarının ve bu izolatlarda karbapenemaz genlerinin varlığının izlenmesi onemlidir.

Bağırsak kolonizasyonu *E. coli* ST131'in konaklar arasında geçişini destekleyen birincil koşuldur. ST131'in artan viru'lans potansiyeliyle birlikte ele alındığında bağırsak kolonizasyonu, bu klonun fırsatçı doğasını g'ostermektedir (57). ST131'in ev içinde ciddi veya u'lu'mcu'l bağırsak dışı enfeksiyonlara yol açtığına dair yayımlanan vaka çalışmalarında, bu klonun fırsatçı hastalığa neden olma potansiyeli g'osterilmiştir (136,137). Aile içi yayılım ile ilgili bildirimlerde yayılımın merkezinde evdeki kişilerle ve fekal bulaşı olmuş cisimlerle oral temaslarının sıklığı nedeniyle

çocukların bulunduğu belirtilmiştir (138). Hilty ve arkadaşları, *E. coli* ST131'in hastanede yatan hastalar ile hanelerinin diğer üyeleri arasında bulaşabileceğini göstermiştir (74). Bir vaka çalışmasında, GSBL üreten ST131 *E. coli*'ye bağlı idrar yolu enfeksiyonu gelişen iki çocuk indeks hasta olarak kabul edilmiş, 19 hafta boyunca üçer dışkı örneği alınan altı üyeli hane halkının hepsinde bu suşun kolonize olduğu, alınan üç dışkı örneğinin en az ikisinde ST131 bulunduğu saptanmıştır (102). Çalışmamızda ise, ST131 taşıyıcılığı olan sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olmayan çocuklara göre ev içi bulaşla ilişkilendirilen kardeş varlığı oranı anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

Yapılan prospektif bir kohort çalışmasında sezaryen ile doğumun uzamış kolonizasyonla ilişkili faktör olduğu tespit edilmiş olup, filogrup B2'ye ait GSBL üreten *E. coli*'nin daha uzun kolonizasyon süresi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (100). Fransa'da yapılan bir çalışmada, sezaryen doğum ile ST131 taşıyıcılığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (10). Çalışmamızda ST131 taşıyıcılığı olan sağlıklı çocuklarda ST131 taşıyıcılığı olmayan çocuklara göre sezaryen doğum oranı anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Vajinal yolla doğan bebeklerin doğum sırasında annenin vajinal ve fekal florasında bulunan yüksek riskli klonlar tarafından kolonize edilebileceği, sezaryen ile doğan bebeklerde ise maternal bulaş görülmemesinin buna sebep olabileceği düşünülmüştür.

ST131 taşıyıcılığı ile ilişkili olası bir faktör de preterm doğumdur. Yapılan bir çalışmada, ST131 klonunun pretermiler arasında daha fazla yayılmanın en olası nedeninin, sağlık personelinin veya annenin el teması veya yüzeyler yoluyla dolaylı bulaş olduğu düşünülmüştür (139). Birgy ve arkadaşları sağlıklı çocuklarda yaptığı çalışmada preterm doğumun fekal taşıyıcılık açısından anlamlı bir risk faktörü olmadığını saptamışlardır (10). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde preterm doğum öyküsü ile ST131 fekal taşıyıcılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

ST131 klonunda dikkat edilmesi gereken bir durum da doğal rezervuarlardır. ST131; köpeklerde, kedilerde, kümes hayvanlarında, atlarda, domuzlarda, martılarda ve farelerde tespit edilmiştir (140). Sekiz ülkeden toplanan ve çoğunlukla çeşitli klinik belirtilere sahip hayvanlardan elde edilen 177 GSBL-pozitif *E. coli* izolatından oluşan bir Avrupa koleksiyonu, izolatların %5.6'sının ST131 O25b olduğunu ortaya

koymuştur (141). Hayvanlardan elde edilen birçok klinik ST131 izolatının, virölans genotiplerine, direnç özelliklerine ve PFGE profillerine dayalı olarak insan klinik ST131 izolatlarına yüksek benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgular, insanlar ve hayvanlar arasında yakın zamanda veya devam etmekte olan zoonotik bulaşı düşündürmektedir (142). Yaptığımız çalışmada hayvan besleme durumu ile ST131 fekal taşıyıcılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamış olup ST131 fekal taşıyıcılığı, hayvan besleme durumu olanlarda daha yüksek oranda bulunmuştur.

Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda 5-24. saatten itibaren mikroorganizma kolonizasyonu başladığı, antibiyotik kullanımının normal florayı bozarak, kolonizasyonu arttırdığı belirtilmiştir (143). Adler ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; GSBL üreten ST131 bulaşının hastaneye yatışla anlamlı derecede ilişkili olduğu, bu klonal grubun hastane ortamında aktif olarak yayıldığı gösterilmiştir (144). Fransa’da sağlıklı çocuklarla yapılan çalışmada son altı ayda ve doğumdan itibaren hastanede yatış öyküsünün ST131 kolonizasyonu ile ilişkisi araştırılmış ve bu iki durumun anlamlı risk faktörleri olmadığı belirlenmiştir (10). Çalışmamızda, sağlıklı ocuklarda ST131 taşıyıcılığı ile son altı ayda ve doğumdan itibaren hastanede yatış öyküsü arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Antibiyotik maruziyetinin; ST131’in yayılmasında etkisi olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (7). Ülkemizde Kiremitçi ve arkadaşları, hastanede yatan veya polikliniğe başvuran ocuklarda GSBL taşıyıcılığı riskini arttıran faktörlerden birinin antibiyotik kullanımı öyküsü olduğunu, ayaktan gelen hastalarda antibiyotik kullanımının fekal taşıyıcılık riskinde 2.4 katlık bir artışa yol atıldığını bildirmişlerdir (145). Birgy ve arkadaşları çocuklarda antibiyotik kullanımının GSBL üreten bakterilerin fekal taşıyıcılığını arttırdıldığını bildirmişlerdir (13). Yapılan bir çalışmada, ikizlerin ve annelerinin dışkı örneklerinde siprofloksasine dirençli *E. coli* kolonizasyonunun önceki antibiyotik kullanımıyla ilişkili olmadığı bulunmuştur (101). Çalışmamızda son üç ayda antibiyotik kullanımı ile ST131 *E. coli* kolonizasyonu arasında ilişki bulunmamıştır.

Sürveyans alışmaları için önemli bir hedef olan *E. coli* ST131 klonunun tespiti için MLST altın standart olmakla birlikte, MALDI-TOF MS kullanılarak elde edilen spektrumlardaki piklerin değerlendirilmesi ile de *E. coli* ST131 klonu yüksek

duyarlılıkla belirlenebilir. Bu sayede, ST131 klonu, bakterinin tür düzeyinde tanımlanması esnasında ek maliyet gerektirmeden hızlı ve kolay bir şekilde tespit edilebilir (17). Lafolie ve arkadaşları MLST ile ST131 klonu olarak tanımlanan izolatların tespitinde alternatif yöntem olarak MALDI-TOF MS yöntemini araştırmış, bu yöntemin yüksek duyarlılıkla (%97.5) ve yüksek doğruluk oranıyla (%98.9) ST131 klonunu tespit edebildiği belirlenmiştir (6). Hastanemizde yapılan bir çalışmada, GSBL pozitif 203 üriner *E. coli* izolatında ST131 klonu tespitinde MALDI-TOF MS ve PZR yöntemlerini karşılaştırılmış olup, 203 izolatın 81'i (%39.9) PZR ile, 75'i (%36.9) ise MALDI-TOF MS ile ST131 klonu olarak tanımlanmıştır. MALDI-TOF MS sonuçları ile PZR sonuçlarını karşılaştırdıklarında duyarlılık %92.6, özgüllük %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %95.3, doğruluk oranı %97.1 olarak saptanmış olup, MALDI-TOF MS'in yüksek riskli klonların tespitinde faydalı bir yöntem olduğu düşünülmüştür (88). Lafolie ve arkadaşları tarafından yüksek duyarlılık ve doğruluk oranıyla tanımlanan MALDI-TOF yöntemi, hastanemizde yapılan daha önceki çalışmada da yüksek doğruluk oranı ile ST131 klonunu tespit etmiştir. Biz de çalışmamızda daha önceki çalışmalarda duyarlılığı ve doğruluk oranı yüksek olarak bulunmuş yöntem olan MALDI-TOF MS sistemini kullanarak ST131 klonu varlığını tespit ettik.

Araştırmamızın prospektif olarak tasarlanmış olması, ülkemizde sağlıklı çocuklarda ST131 klonu taşıyıcılığının değerlendirildiği ilk çalışma olması, aynı zaman diliminde klinik izolatların da çalışmaya alınması, taşıyıcılığa neden olan risklerin sorgulanması çalışmamızın güçlü yönleridir.

Çalışmamız kapsamında ST131 izolatlarında alt klonların, virülans faktörlerinin, dirençle ilişkili plazmidlerin ve GSBL enzimlerinin belirlenmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları olarak değerlendirilebilir. Çalışmamız esnasında kolonize suşun takibinde enfeksiyon etkeni olma durumu takip edilememiştir. Dışkıda ST131 dışı izolatlar antibakteriyel duyarlılık testi çalışmamış olup, dışkıda ST131 ve ST131 dışı izolatlar arasında direnç açısından karşılaştırma yapılamamıştır. Ayrıca risk faktörü olarak seyahat durumu, pandemi kısıtlılıkları nedeniyle sorgulanmamıştır.

6. SONUÇLAR

- Bu çalışma, Türkiye’de ST131 klonunun sağlıklı çocuklarda taşıyıcılığının belirlendiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda, dışkıdan elde edilen *E. coli* izolatları arasında yüksek oranlarda (%24.7) ST131 klonu tespit edilmiştir.
- Klinik izolatlardaki ST131 oranı dışkı izolatlarındaki ST131 oranından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). ST131 klonunun, klinik izolatlarda yüksek oranlarda tespit edilmiş olması enfeksiyon kontrolü açısından endişe vericidir.
- ST131 klonunun konaklar arasında bulaşma ve bağırsakta kalıcı olarak kolonize olma yeteneği, önemli oranlarda klinik enfeksiyona yol açabilir. Yüksek riskli ST131 klonunu daha fazla araştırmak ve yayılmasını önlemek, etkili antibiyotik tedavi seçeneklerini belirlemek ve antibiyotik direncini kontrol etmek için yeni stratejiler geliştirmek önemlidir.
- Bu kolonizasyona neden olan bakteri ve konak faktörlerini anlamak, ST131 gibi yüksek riskli klonların yayılımını sınırlandırmak ve bu klonlarla oluşabilecek enfeksiyonların önüne geçebilmek için büyük önem taşır.

KAYNAKLAR

1. Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *Journal of molecular evolution*. 2020;88(1):26–40.
2. Huemer M, Mairpady Shambat S, Brugger SD, Zinkernagel. Antibiotic resistance and persistence-Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*. 2020;21(12):51034.
3. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011;35(5):736-55.
4. Pitout JD, Church DL, Gregson DB, Chow BL, McCracken M, Mulvey MR, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* in the Calgary Health Region: emergence of CTX-M-15-producing isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007;51(4):1281-6.
5. Woodford N, Ward M, Kaufmann M, Turton J, Fagan E, James D, et al. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum β -lactamases in the UK. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2004;54(4):735-43.
6. Lafolie J, Sauget M, Cabrolhier 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? *Journal of Hospital Infection*. 2015;90(3):208-12.
7. Banerjee R, Johnson JR. A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* ST131. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;AAC.02824-14.
8. Birgy A, Madhi F, Jung C, Levy C, Cointe A, Bidet P et al. Diversity and trends in population structure of ESBL-producing Enterobacteriaceae in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75:96–105.
9. Bulut ME, Hürkal G, Dalgıç N. Investigation of High-Risk ST131 Clone in Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates in Children. *Journal of Pediatric Infectious Diseases*. 2021;16(04):78–182.
10. Birgy A, Levy C, Bidet P, Thollot F, Derkx V, Béchet S et al. ESBL-producing *Escherichia coli* ST131 versus non-ST131: evolution and risk factors of carriage among French children in the community between 2010 and 2015. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(10):2949–2956.
11. Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, Bezabih A, Peterson GM, Bezabhe WM et al. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2021;76(1):22–29.
12. Blanc V, Leflon-Guibout V, Blanco J, Haenni M, Madec JY, Rafignon G et al. Prevalence of day-care centre children (France) with faecal CTX-M-producing *Escherichia coli* comprising O25b:H4 and O16:H5 ST131 strains. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2014;69(5):1231-7.
13. Birgy A, Cohen R, Levy C, Bidet P, Courroux C, Benani M et al. Community faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in French children. *BMC infectious diseases*. 2012;12:315.

14. Ustaçelebi Şemsettin, Günel Mutlu. Temel ve klinik mikrobiyoloji. Güneş kitabevi; 1999.
15. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic escherichia coli. Nature reviews microbiology. 2004;2(2):123.
16. McBride WJH. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 7th edition. CSIRO; 2010
17. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. Escherichia coli ST131: the quintessential example of an international multiresistant high-risk clone. Advances in applied microbiology. 90: Elsevier; 2015;90:109-54
18. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group. Applied and Environmental Microbiology. 2000;66(10):4555-8.
19. Lo RYC. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals: Fourth Edition. John Wiley & Sons Inc.;2010
20. Pitout JDD. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: A combination of virulence with antibiotic resistance. Frontiers in Microbiology. 2012;19;3:9
21. Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: focus on an increasingly important endemic problem. Microbes and infection. 2003; 5(5):449–456.
22. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. Nature reviews Urology. 2010; 7(12):653–660.
23. Giray b, Uçar FB, Aydemir AŞ. Characterization of uropathogenic Escherichia coli strains obtained from urology outpatient clinic of Ege Medical Faculty in İzmir. Turkish Journal of Medical Sciences. 2012;42(Sup. 1):1328-37.
24. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Experimental and molecular pathology. 2008;85(1):11–19.
25. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 - 2020 data, Surveillance Report ECDC/WHO 2022. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2022-2020-data>
26. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance,. CAESAR Annual Report 2020, 2022 Available from <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2020/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2020>.
27. Jacoby GA. Mechanisms of Resistance to Quinolones. Clinical Infectious Diseases. 2005;15;41:120–126.
28. Bansal S, Tandon V. Contribution of mutations in DNA gyrase and topoisomerase IV genes to ciprofloxacin resistance in Escherichia coli clinical isolates. International journal of antimicrobial agents. 2011;37(3):253–255.
29. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi Y, Raporu THSK, Sağlık Bakanlığı Ankara. Ulusal antimikrobiyal direnç surveyans sistemi 2016 yıllık raporu. 2016. Available from: <http://uamdss.thsk.gov.tr>.
30. Miller AK, Brannon MK, Stevens L, Johansen HK, Selgrade SE, Miller SI et al. PhoQ Mutations Promote Lipid A Modification and Polymyxin Resistance of Pseudomonas

aeruginosa Found in Colistin-Treated Cystic Fibrosis Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011; 55(12):5761-9.

31. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(2):161–168.
32. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y et al. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*. 2019; 431(18):3472–3500.
33. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 1995; 8(4):557-584.
34. Testing ECoAS. The EUCAST guideline on detection of resistance mechanisms, version 2. EUCAST, Växjö, Sweden. 2017.
35. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*. 1965;16;208(5007):239–241.
36. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Current opinion in microbiology*. 2006;9(5):466-75.
37. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious diseases*. 2008;8(3):159-66
38. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(3):565-91.
39. D’Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. *Undefined*. 2013;303(6-7):305–317.
40. Dijkshoorn L, Ursing BM, Ursing JB. Strain, clone and species: comments of three basic concepts of bacteriology. *Journal of Medical Microbiology*. 2000;49(5):397-401
41. Johnson JR, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Castanheira M. Escherichia coli sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant E. coli infections in the United States. *Clinical infectious diseases*. 2010;51(3):286-94.
42. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of clinical microbiology*. 1995;33(9):2233.
43. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro surveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2008;20;13(47):19044.
44. Nicolas-Chanoine M-H, Blanco J, Leflon-Guibout V, Demarty R, Alonso MP, Caniça MM, et al. Intercontinental emergence of Escherichia coli clone O25: H4-ST131 producing CTX-M-15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008;61(2):273-81.
45. Lau SH, Kaufmann ME, Livermore DM, Woodford N, Willshaw GA, Cheasty T, et al. UK epidemic Escherichia coli strains A–E, with CTX-M-15 β -lactamase, all belong to the

international O25: H4-ST131 clone. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;62(6):1241-4

46. Coque TM, Novais Â, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(2):195
47. Cagnacci S, Gualco L, Debbia E, Schito GC, Marchese A. European emergence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* clonal groups O25: H4-ST 131 and O15: K52: H1 causing community-acquired uncomplicated cystitis. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(8):2605-12.
48. Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine M-H, Sotto A, Lavigne J-P. Turkey: a further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;62(2):284-8.
49. Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25: H4. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;35(4):316-21.
50. Naseer U, Haldorsen B, Tofteland S, Hegstad K, Scheutz F, Simonsen GS, et al. Molecular characterization of CTX - M - 15 - producing clinical isolates of *Escherichia coli* reveals the spread of multidrug - resistant ST131 (O25: H4) and ST964 (O102: H6) strains in Norway. *Apmis*. 2009;117(7):526-36.
51. Literacka E, Bedenic B, Baraniak A, Fiett J, Tonkic M, Jajic-Bencic I, et al. blaCTX-M genes in *Escherichia coli* strains from Croatian hospitals are located in new (blaCTX-M-3a) and widely spread (blaCTX-M-3a and blaCTX-M-15) genetic structures. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(4):1630-5.
52. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J-i, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008;63(1):72-9.
53. Johnson JR, Menard M, Johnston B, Kuskowski MA, Nichol K, Zhanel GG. Epidemic clonal groups of *Escherichia coli* as a cause of antimicrobial-resistant urinary tract infections in Canada, 2002 to 2004. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(7):2733-9.
54. Leflon-Guibout V, Blanco J, Amaqdouf K, Mora A, Guize L, Nicolas-Chanoine MH. Absence of CTX-M enzymes but high prevalence of clones, including clone ST131, among fecal *Escherichia coli* isolates from healthy subjects living in the area of Paris, France. *J Clin Microbiol*. 2008;46(12):3900-5.
55. Pitout JD, Campbell L, Church DL, Wang PW, Guttman DS, Gregson DB. Using a commercial DiversiLab semiautomated repetitive sequence-based PCR typing technique for identification of *Escherichia coli* clone ST131 producing CTX-M-15. *Journal of clinical microbiology*. 2009;47(4):1212-5.
56. Laupland KB, Church DL, Vidakovich J, Mucenski M, Pitout JD. Community-onset extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*: importance of international travel. *Journal of Infection*. 2008;57(6):441-8.
57. Nicolas-Chanoine M-H, Bertrand X, Madec J-Y. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clinical microbiology reviews*. 2014;27(3):543-74.

58. Banerjee R, Johnston B, Lohse C, Porter SB, Clabots C, Johnson JR. *Escherichia coli* sequence type 131 is a dominant, antimicrobial-resistant clonal group associated with healthcare and elderly hosts. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2013;34(4):361-9.
59. Morales Barroso I, López-Cerero L, Navarro MD, Gutiérrez-Gutiérrez B, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Intestinal colonization due to *Escherichia coli* ST131: Risk factors and prevalence. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2018;15;7:135.
60. Platell JL, Cobbold RN, Johnson JR, Heisig A, Heisig P, Clabots C, et al. Commonality among fluoroquinolone-resistant sequence type ST131 extraintestinal *Escherichia coli* isolates from humans and companion animals in Australia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;AAC. 00306-11.
61. Johnson JR, Tchesnokova V, Johnston B, Clabots C, Roberts PL, Billig M, et al. Abrupt emergence of a single dominant multidrug-resistant strain of *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(6):919-28.
62. Price LB, Johnson JR, Aziz M, Clabots C, Johnston B, Tchesnokova V, et al. The epidemic of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, H30-Rx. *MBio*. 2013;4(6):00377-13.
63. Banerjee R, Robicsek A, Kuskowski MA, Porter S, Johnston BD, Sokurenko E, et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* sequence type ST131 and its H30 and H30-Rx subclones among extended-spectrum beta-lactamase-positive and-negative *E. coli* clinical isolates from the Chicago region (2007-2010). *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;AAC:01604-13.
64. Colpan A, Johnston B, Porter S, Clabots C, Anway R, Thao L, et al. *Escherichia coli* Sequence type 131 (ST131) subclone H 30 as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clinical infectious diseases*. 2013;57(9):1256-65.
65. Alqasim A, Abu Jaffal A, Alyousef AA. Prevalence and molecular characteristics of sequence type 131 clone among clinical uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*. 2020; 27(1):296–302.
66. Li B, Lu Y, Lan F, He Q, Li C, Cao Y. Prevalence and characteristics of ST131 clone among unselected clinical *Escherichia coli* in a Chinese university hospital. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2017;6(1):118.
67. Can F, Kurt-Azap Ö, İspir P, Nurtop E, Seref C, Loçlar İ, et al. The clinical impact of ST131 H30-Rx subclone in urinary tract infections due to multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2016;4:49-52.
68. Johnson JR, Clermont O, Johnston B, Clabots C, Tchesnokova V, Sokurenko E, et al. Rapid and specific detection, molecular epidemiology, and experimental virulence of the O16 subgroup within *Escherichia coli* sequence type 131. *Journal of clinical microbiology*. 2014;JCM:03502-13.
69. Peirano G, van der Bij AK, Freeman JL, Poirel L, Nordmann P, Costello M, et al. Characteristics of *Escherichia coli* sequence type 131 isolates that produce extended-spectrum β -lactamases: global distribution of the H30-Rx sublineage. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(7):3762-7.
70. Carattoli A. Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(6):2227-38.

71. Woodford N, Carattoli A, Karisik E, Underwood A, Ellington MJ, Livermore DM. Complete nucleotide sequences of plasmids pEK204, pEK499, and pEK516, encoding CTX-M enzymes in three major *Escherichia coli* lineages from the United Kingdom, all belonging to the international O25: H4-ST131 clone. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(10):4472-82.
72. Baquero F, Tedim A-SP, Coque TM. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria. *Frontiers in microbiology*. 2013;4:15.
73. Vimont S, Boyd A, Bleibtreu A, Bens M, Goujon JM, Garry L et al. The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clone O25b: H4-ST131 has high intestine colonization and urinary tract infection abilities. *PloS one* 7. 2012;7(9):46547.
74. Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, Heiniger N, Stadler M, Küffer M, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clinical infectious diseases*. 2012;55(7):967-75.
75. Ender PT, Gajanana D, Johnston B, Clabots C, Tamarkin FJ, Johnson JR. Transmission of an extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (sequence type ST131) strain between a father and daughter resulting in septic shock and emphysematous pyelonephritis. *Journal of clinical microbiology*. 2009;47(11):3780-2.
76. Johnson JR, Anderson JT, Clabots C, Johnston B, Cooperstock M. Within-household sharing of a fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* sequence type ST131 strain causing pediatric osteoarticular infection. *The Pediatric infectious disease journal*. 2010;29(5):473–475.
77. Owens RC, Johnson JR, Stogsdill P, Yarmus L, Lolans K, Quinn J. Community transmission in the United States of a CTX-M-15-producing sequence type ST131 *Escherichia coli* strain resulting in death. *Journal of clinical microbiology*. 2011;49(9):3406-8
78. Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong F, Anderson P, Gilbert GL. *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) as a prominent cause of antibiotic resistance among urinary *Escherichia coli* isolates from reproductive-age women. *Journal of clinical microbiology*. 2013;JCM:01315-13.
79. Gibreel TM, Dodgson AR, Cheesbrough J, Bolton FJ, Fox AJ, Upton M. High metabolic potential may contribute to the success of ST131 uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of clinical microbiology*. 2012;JCM:01423-12.
80. Chung H-C, Lai C-H, Lin J-N, Huang C-K, Liang S-H, Chen W-F, et al. Bacteremia caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type ST131 and non-ST131 clones: comparison of demographic data clinical features, and mortality. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(2):618-22.
81. Alhashash F, Weston V, Diggle M, McNally A. Multidrug-resistant *Escherichia coli* bacteremia. *Emerging infectious diseases*. 2013;19(10):1699.
82. Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG. eBURST: Inferring Patterns of Evolutionary Descent among Clusters of Related Bacterial Genotypes from Multilocus Sequence Typing Data. *Journal of Bacteriology*. 2004;186(5):1518-30.
83. Persing DH, Tenover FC. *Molecular microbiology : diagnostic principles and practice*. ASM Press, Washington D.C; 2004.
84. Feil EJ, Enright MC. Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens. *Current opinion in microbiology*. 2004;7(3):308–313.

85. Türe M, Altinok İ, Ürünleri Merkez S, Enstitüsü A, Yomra T, Teknik K, Ktu Ü, Mühendisliği BT. Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) Metodu ve Akuatik Organizmalarda Kullanımı. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi. 2013;9(1):44–54.
86. Clermont O, Johnson JR, Menard M, Denamur E. Determination of *Escherichia coli* O types by allele-specific polymerase chain reaction: application to the O types involved in human septicemia. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2007;57(2):129–136.
87. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları TAF Preventive. *Medicine Bulletin* 2014;13:421-6.
88. 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. *Microbial Drug Resistance*. 2017;23(8):1032-6
89. Birgand G, Armand-Lefevre L, Lolom I, Ruppe E, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge. *American journal of infection control*. 2013;41(5):443–447.
90. Bulaşıcı hastalıklar ile mücadele rehberi. THSK, Sağlık Bakanlığı Ankara. Bulaşıcı hastalıklar ile mücadele rehberi 2018 yıllık raporu. Available from <https://khgmsaglikhizmetleridb.saglik.gov.tr/TR-48633/bulasici-hastaliklar-ile-mucadele-rehberi>
91. Dautzenberg MJD, Haverkate MR, Bonten MJM, Bootsma MCJ. Epidemic potential of *Escherichia coli* ST131 and *Klebsiella pneumoniae* ST258: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2016;17;6(3):009971
92. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clinical microbiology reviews*. 2013;26(4):744–758.
93. Totsika M, Kostakioti M, Hannan TJ, Upton M, Beatson SA, Janetka JW et al. A FimH inhibitor prevents acute bladder infection and treats chronic cystitis caused by multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* ST131. *The Journal of infectious diseases*. 2013;208(6):921–928.
94. Sarkar S, Hutton ML, Vagenas D, Ruter R, Schüller S, Lyras D et al. Intestinal Colonization Traits of Pandemic Multidrug-Resistant *Escherichia coli* ST131. *The Journal of infectious diseases* 2018;218(6):979–990.
95. Li B, Sun JY, Liu QZ, Han LZ, Huang XH, Ni YX. High prevalence of CTX-M β -lactamases in faecal *Escherichia coli* strains from healthy humans in Fuzhou, China. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2011;43(3):170–174.
96. Nicolas-chanoine MH, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68(3):562–568.
97. Izdebski R, Baraniak A, Fiett J, Adler A, Kazma M, Salomon J. Clonal structure, extended-spectrum β -lactamases, and acquired AmpC-type cephalosporinases of *Escherichia coli* populations colonizing patients in rehabilitation centers in four countries. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(1):309–316.

98. Nüesch-Inderbilen MT, Abgottspon H, Zurfluh K, Nüesch HJ, Stephan R, Hächler H. Cross-sectional study on fecal carriage of Enterobacteriaceae with resistance to extended-spectrum cephalosporins in primary care patients. *Microbial drug resistance*. 2013;19(5):362–369.
99. Whitmer GR, Moorthy G, Arshad M. The pandemic *Escherichia coli* sequence type 131 strain is acquired even in the absence of antibiotic exposure. *PLOS Pathogens*. 2019;15(12):1008162.
100. Rodríguez-Revuelta MJ, López-Cerero L, Serrano L, Luna-Lagares S, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Duration of Colonization by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Healthy Newborns and Associated Risk Factors: A Prospective Cohort Study. *Open forum infectious diseases*. 2018;5(12):312.
101. Gurnee EA, Ndao IM, Johnson JR, Johnston BD, Gonzalez MD, Burnham CAD. Gut Colonization of Healthy Children and Their Mothers With Pathogenic Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*. 2015;212(12):1862–1868.
102. Madigan T, Johnson JR, Clabots C, Johnston BD, Porter SB, Slater BS et al. Extensive household outbreak of urinary tract infection and intestinal colonization due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type 131. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;61(1):5–12.
103. Hertz FB, Løbner-Olesen A, Frimodt-Møller N. Antibiotic Selection of *Escherichia coli* Sequence Type 131 in a Mouse Intestinal Colonization Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014;58(10):6139–44.
104. Johnson JR, Miller S, Johnston B, Clabots C, DebRoy C. Sharing of *Escherichia coli* sequence type ST131 and other multidrug-resistant and Urovirulent *E. coli* strains among dogs and cats within a household. *Journal of clinical microbiology*. 2009;47(11):3721–3725.
105. Turner P, Fox-Lewis A, Shrestha P, Dance DAB, Wangrangsimaikul T, Cusack TP, et al. Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO): a framework for the reporting and interpretation of clinical microbiology data. *BMC medicine*. 2019;17(1):70.
106. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Annals of internal medicine*. 2007;147(8):573–7.
107. Söğütlü N, Cömert F, Pişkin İE, Aktaş E, Köktürk F, Külah C. Fecal Carriage of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Children in Zonguldak. *Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. 2019;24(3):236–243.
108. Johnson JR, Thuras P, Johnston BD, Weissman SJ, Limaye AP, Riddell K. The Pandemic H30 Subclone of *Escherichia coli* Sequence Type 131 Is Associated with Persistent Infections and Adverse Outcomes Independent from Its Multidrug Resistance and Associations with Compromised Hosts. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62(12):1529–1536.
109. Paniagua R, Valverde A, Coque TM, Baquero F, Cantón R. Assessment of prevalence and changing epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae fecal carriers using a chromogenic medium. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2010;67(4):376–379.

110. Chan WS, Au CH, Ho DN, Chan TL, Ma ESK, Tang BSF. Prospective study on human fecal carriage of Enterobacteriaceae possessing mcr-1 and mcr-2 genes in a regional hospital in Hong Kong. *BMC Infectious Diseases*. 2018;18(1):81.
111. Garcia S, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Third Edition, ASM Press, Washington DC. 2010.
112. Eucast, "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters," 2021
113. Lidin-Janson G, Kaijser B, Lincoln K, Olling S, Wedel H. The homogeneity of the faecal coliform flora of normal school-girls, characterized by serological and biochemical properties. *Medical Microbiology and Immunology* 1978;164(4):247–253.
114. Foster-Nyarko E, Alikhan NF, Ikumapayi UN, Sarwar G, Okoi C, Tientcheu PEM. Genomic diversity of *Escherichia coli* from healthy children in rural Gambia. *PeerJ*. 2021;9:10572.
115. Can F, Azap OK, Seref C, Ispir P, Arslan H, Ergonul O. Emerging *Escherichia coli* O25b/ST131 clone predicts treatment failure in urinary tract infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;60(4):523-7.
116. Demirci M, Ünlü Ö, Tosun Aİ. Detection of O25b-ST131 clone, CTX-M-1 and CTX-M-15 genes via real-time PCR in *Escherichia coli* strains in patients with UTIs obtained from a university hospital in Istanbul. *Journal of infection and public health*. 2019.
117. Ismail MD, Ali I, Hatt S, Salzman EA, Cronenwett AW, Marrs CF et al. Association of *Escherichia coli* ST131 lineage with risk of urinary tract infection recurrence among young women. *Journal of global Antimicrobial Resistance*. 2018;13:81-84
118. Kına N. Tıpta Uzmanlık Tezi, SBÜ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2019;1-70
119. Bernasconi OJ, Campos-Madueno EI, Donà V, Perreten V, Carattoli A, Endimiani A. Investigating the use of bacteriophages as a new decolonization strategy for intestinal carriage of CTX-M-15-producing ST131 *Escherichia coli*: An in vitro continuous culture system model. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2020;22:664–671.
120. Chandramohan L, Revell PA. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a pediatric patient population. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(9):4765–4770.
121. Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong F, Anderson P, Gilbert GL. Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection and from healthy carriers. *The Pediatric infectious disease journal*. 2013;32(5):543–548.
122. Yun KW, Lee MK, Kim W, Lim IS. Uropathogenic *Escherichia coli* ST131 in urinary tract infections in children. *Korean Journal of Pediatrics*. 2017;60(7):221–226.
123. Park JY, Yun KW, Choi EH, Lee HJ. Prevalence and characteristics of sequence type 131 *Escherichia coli* isolated from children with bacteremia in 2000-2015. *Microbial Drug Resistance*. 2018;24(10):1552–1558.
124. Cheng MF, Chen WL, Hung WY, Huang IF, Chiou YH, Chen YS et al. Emergence of extended spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* O25b-ST131: A major community-acquired uropathogen in infants. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2015;34(5):469–475.

125. Johnson JR, Davis G, Clabots C, Johnston BD, Porter S, DebRoy C et al. Household Clustering of *Escherichia coli* Sequence Type 131 Clinical and Fecal Isolates According to Whole Genome Sequence Analysis. *Open forum infectious diseases*. 2016;3(3):0fw129.
126. Miles-Jay A, Weissman SJ, Adler AL, Tchesnokova V, Sokurenko E v., Baseman JG et al. Epidemiology and Antimicrobial Resistance Characteristics of the Sequence Type 131-H30 Subclone among Extraintestinal *Escherichia coli* Collected from US Children. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;66(3):411–419.
127. Grüneberg RN. Relationship of infecting urinary organism to the faecal flora in patients with symptomatic urinary infection. *Lancet*. 1969;2(7674):766–768.
128. Yamamoto S, Tsukamoto T, Terai A, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. Genetic evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by *Escherichia coli*. *The Journal of Urology*. 1997;157(3):1127-9.
129. Ludden C, Cormican M, Vellinga A, Johnson JR, Austin B, Morris D. Colonisation with ESBL-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, vancomycin-resistant enterococci, and meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term care facility over one year. *BMC infectious diseases* 2015;15:168.
130. Overdeest I, Haverkate M, Veenemans J, Hendriks Y, Verhulst C, Mulders A. Prolonged colonisation with *Escherichia coli* O25:ST131 versus other extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* in a long-term care facility with high endemic level of rectal colonisation, the Netherlands, 2013 to 2014. *Eurosurveillance*. 2016; 21(42):30376.
131. Burgess MJ, Johnson JR, Porter SB, Johnston B, Clabots C, Lahr BD et al. Long-Term Care Facilities Are Reservoirs for Antimicrobial-Resistant Sequence Type 131 *Escherichia coli*. *Open forum infectious diseases* 2015;2(1):011.
132. Hussain A, Ranjan A, Nandanwar N, Babbar A, Jadhav S, Ahmed N. Genotypic and Phenotypic Profiles of *Escherichia coli* Isolates Belonging to Clinical Sequence Type 131 (ST131), Clinical Non-ST131, and Fecal Non-ST131 Lineages from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014;58(12):7240-9.
133. Çizmeçi Z, Otlı B, Aktaş E, Ördekçi S, Açıkgöz Ö, Güleç N. 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. *Mikrobiyoloji Bulteni* 2018;52(1):13–22.
134. Yun KW, Lee MK, Kim W, Lim IS. Uropathogenic *Escherichia coli* ST131 in urinary tract infections in children. *Korean Journal of Pediatrics*. 2017;60(7):221–226.
135. Peirano G, Bradford PA, Kazmierczak KM, Badal RE, Hackel M, Hoban DJ. Global Incidence of Carbapenemase-Producing *Escherichia Coli* ST131. *Emerging Infectious Diseases*. 2014;20(11):1928–1931.
136. Morales-Barroso I, López-Cerero L, Molina J, Bellido M, Navarro MD, Serrano L. Bacteraemia due to non-ESBL-producing *Escherichia coli* O25b:H4 sequence type 131: insights into risk factors, clinical features and outcomes. *International journal of antimicrobial agents*. 2017;49(4):498–502.
137. Mora A, Dahbi G, López C, Mamani R, Marzoa J, Dion S. Virulence patterns in a murine sepsis model of ST131 *Escherichia coli* clinical isolates belonging to serotypes O25b:H4 and O16:H5 are associated to specific virotypes. *PloS one*. 2014;9(1):87025.

138. Kaarme J, Molin Y, Olsen B, Melhus Å. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy Swedish preschool children. *Acta paediatrica*. 2013;102(6):655–660.
139. Silwedel C, Vogel U, Claus H, Glaser K, Speer CP, Wirbelauer J. Outbreak of multidrug-resistant *Escherichia coli* sequence type 131 in a neonatal intensive care unit: efficient active surveillance prevented fatal outcome. *Journal of Hospital Infection*. 2016;93(2):181–186.
140. Yair Y, Gophna U. Pandemic Bacteremic *Escherichia Coli* Strains: Evolution and Emergence of Drug-Resistant Pathogens. *Current topics in microbiology and immunology*. 2018;416:163–180.
141. Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler Tet al. Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(4):651–660.
142. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2011;66(1):1–14.
143. Sipahi OR, Arda B, Erdem HA, Uyar M, Tünger A, ve ark. Risk factors for gastrointestinal colonization by ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in anaesthesiology and reanimation intensive care unit. *Mikrobiyoloji bülteni*. 2013;47(2):223–229.
144. Adler A, Gniadkowski M, Baraniak A, Izdebski R, Fiett J, Hryniewicz W. Transmission dynamics of ESBL-producing *Escherichia coli* clones in rehabilitation wards at a tertiary care centre. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012;18(12):497-505.
145. Kiremitçi A, Dinleyici E, Yargıç ZA, Durmaz G, Tekin N, Aybey AD ve ark. Prevalence and risk factors of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae in hospitalized and ambulatory children. *Cocuk Enfeksiyon Dergisi*. 2011;5:54–58.