

# Çocuk ve Yetişkin Üriner *Escherichia coli* İzolatlarında Plazmidik Kinolon Direnç Genlerinin Araştırılması

Melisa Akgöz<sup>1</sup>, İrem Akman<sup>1</sup>, Asuman Begüm Ateş<sup>1</sup>, Cem Çelik<sup>1</sup>, Betül Keskin<sup>1</sup>,  
Büşra Betül Özmen Çapın<sup>2</sup>, Zeynep Ceren Karahan<sup>2,3</sup>

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>Dönem IV Öğrencisi, <sup>2</sup>Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, <sup>3</sup>İbni Sina Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı

# Giriş

- ✓ Üriner sistem enfeksiyonları, en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardır ve her yıl 150 milyon insanı etkilemektedir
- ✓ *Escherichia coli*, hastane (%50) ve toplum kaynaklı (%70-95) üriner sistem enfeksiyonlarının en sık izole edilen etkenidir.

*Klebsiella pneumoniae*

*Enterococcus* spp.

*Proteus mirabilis*

*Pseudomonas aeruginosa*

*Staphylococcus saprophyticus*

*Staphylococcus aureus*

Grup B streptokoklar

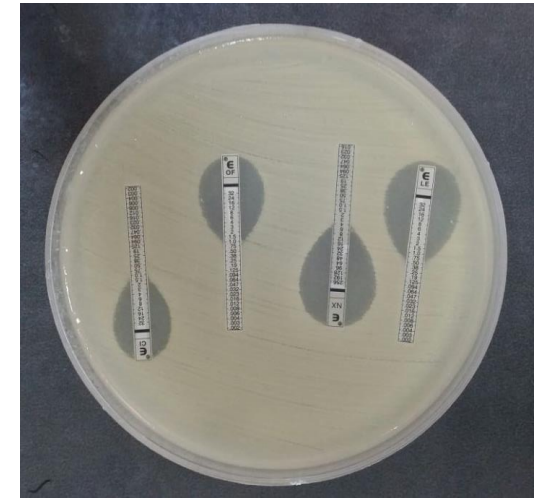
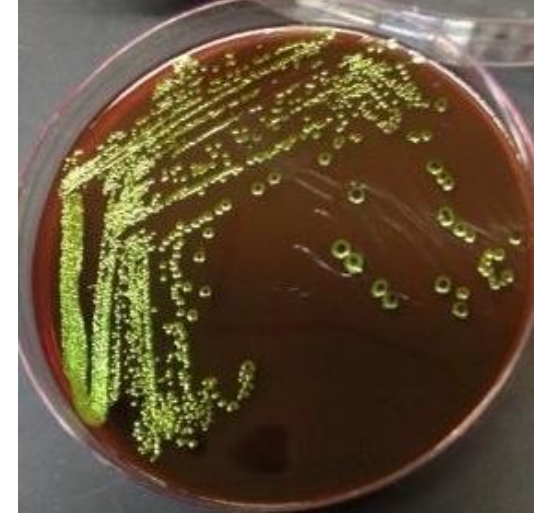
*Candida* spp.

- Gram-negatif enterik basillerde GSBL üretimine bağlı gelişen beta-laktam direnci, özellikle toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında antimikrobiyal alternatiflerini azaltmakta ve florokinolonların (FQ) kullanımında artışa neden olmaktadır.
- Yaygın FQ kullanımını başlıca, hedef genlerde (*par* ve *gyr*) mutasyon gelişimi sonucu direnç yolu açmaktadır.
- Son yıllarda yapılan çalışmalar plazmidlerle aktarılan direnç genlerinin ekspresyonuna bağlı olarak farklı mekanizmalarla FQ direnci gelişiminin önemine dikkat çekmektedir.
  - *qnr* → koruyucu protein sentezi
  - *qepA* → eflüks pompası kodlanması
  - *aac(6')Ib-cr* → enzimatik inaktivasyon

- Bu plazmidik direnç genlerinden bazılarının (*qnr* genleri) GSBL üretimini de kodlayan plazmidler üzerinde yer alması, iki ayrı grup antimikrobiyale birlikte direnç gelişimine ve bu direncin hızla duyarlı popülasyonlara aktarılmasına neden olabilmektedir.
- Bu çalışmanın amacı, çocuk ve yetişkinlerden toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen FQ dirençli [FQ (R)] ve/veya GSBL (+) *E. coli* izolatlarında plazmidik FQ direnç genlerinin sıklığının araştırılmasıdır.

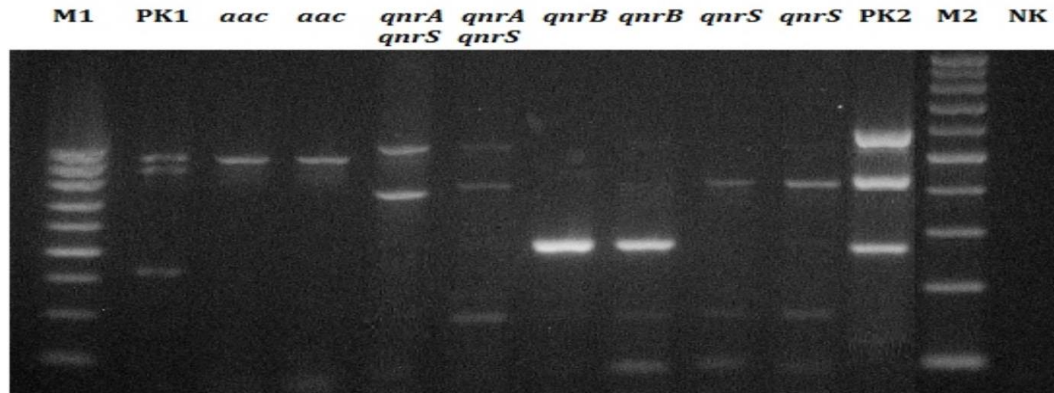
# Gereç-Yöntem

- Temmuz 2015 - Mart 2016 tarihleri arasında AÜTF Hastaneleri Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarları'na gönderilen çocuk (n=92) ve yetişkin (n=103) hastalara ait idrar kültürlerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen GSBL (+) ve/veya FQ (R) *Escherichia coli* suşları ile tüm antimikrobiyallere duyarlı 63 izolat (38 yetişkin, 25 çocuk) değerlendirilmiştir.
- Disk difüzyon yöntemi ile FQ direnci saptanan izolatların norfloksasin (NOR), ofloksasin (OFL), siprofloksasin (CIP) ve levofloksasin (LEV) MİK değerlerinin belirlenmesinde gradyent şerit test yöntemi kullanılmıştır



# Gereç-Yöntem

- DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi ile yapılmıştır
- Plazmidik florokinolon direnç genlerinin [*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA*, *aac(6')1b*] varlığı multipleks PZR yöntemiyle araştırılmıştır
- *aac(6')-1b-cr* varyantının tespiti için PZR işlemini takiben *BseGI* restriksiyon enzimiyle kesim yapılmıştır.
- İstatistiksel analiz, SPSS 20.0 programında ki-kare testiyle yapılmış,  $p < 0,05$  anlamlı kabul edilmiştir



# Bulgular

- 103 dirençli yetişkin izolatınının 30'u GSBL (+), 36'sı FQ(R), 36'sı GSBL(+)/FQ(R),
- 92 dirençli çocuk izolatınının 68'i GSBL (+), beşi FQ(R), 19'u GSBL(+)/FQ (R) idi
- FQ (R) 96 izolatın dördü hariç tümünde tüm florokinolonlara yüksek düzey direnç (NOR >32 µg/ml, OFL>32 µg/ml, CİP >32 µg/ml, LEV>32 µg/ml) tespit edilmiştir

İzolat No	Direnç durumu	Plazmidik kinolon direnç geni varlığı
1	Kinolon dirençli, GSBL pozitif	<i>qnrB</i>
2	Kinolon dirençli	Negatif
3	Kinolon dirençli, GSBL pozitif	Negatif
4	Kinolon dirençli, GSBL pozitif	Negatif

- Tüm yetişkin izolatlarının %26'sı, tüm çocuk izolatlarının %26,4'ü ile tüm dirençli yetişkin izolatlarının %34'ü ve tüm dirençli çocuk izolatlarının %29,3'ü en az bir plazmidik FQ direnç geni taşımaktadır
- Plazmidik FQ direnç geni taşıyan izolatların (n=68) %88,2'si (n=60) *qnrS*, %10,2'si (n=7) *qnrB*, %4,4'ü (n=3) *qnrA* ve %1,4'ü (n=1) *aac(6')-1b-cr* pozitiftir
- Hiçbir izolatta *qnrC* ve *qepA* genleri bulunmamıştır



- Yetişkinlerde tüm antimikrobiyallere duyarlı izolatların (n=38) ikisinde (%5,3) [*qnrS*] , çocuklarda (n=25) dördünde (%16) [*qnrS* (n=3), *qnrB* (n=1)] plazmidik FQ direnç geni tespit edilmiştir
- Tüm izolatlar arasında GSBL(+)/FQ(R) bir yetişkin izolatı *aac(6')-1b-cr* geni bulundurmaktadır
- *qnrS* sıklığı GSBL(+) yetişkin izolatlarında GSBL(-) izolatlardan (**p=0,006**); GSBL(+)/FQ(R) izolatlarda duyarlı izolatlardan yüksektir (**p=0,009**)

258 *E. coli* izolatu

141 yetişkin

117 çocuk

103 dirençli

38 duyarlı

92 dirençli

25 duyarlı

30 GSBL (+)  
19 negatif  
11 *qnrS* (+)

36 negatif  
2 *qnrS* (+)

68 GSBL (+)  
48 negatif  
18 *qnrS* (+)  
1 *qnrA/qnrS* (+)  
1 *qnrB/qnrS* (+)

21 negatif  
3 *qnrS* (+)  
1 *qnrB* (+)

36 kinolon dirençli  
26 negatif  
8 *qnrS* (+)  
1 *qnrB* (+)  
1 *qnrA/qnrS* (+)

5 kinolon dirençli  
4 negatif  
1 *qnrS* (+)

36 GSBL (+) ve kinolon dirençli  
23 negatif  
10 *qnrS* (+)  
1 *aac(6')Ib-cr* (+)  
1 *qnrA/qnrS* (+)  
1 *qnrB/qnrS* (+)

19 GSBL (+) ve kinolon dirençli  
13 negatif  
3 *qnrS* (+)  
2 *qnrB* (+)  
1 *qnrB/qnrS* (+)

# Sonuç:

- FQ duyarlı izolatlarda dahi plazmid kökenli FQ direnç genleri bulunabilmektedir.
- GSBL pozitifliği, plazmid kökenli FQ direnç genlerinin varlığının bir habercisi olabilir
- Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında FQ kullanımından mümkün olduğunca kaçınılmalıdır
- Çocuk izolatlarının da yaklaşık dörtte birinin plazmid kökenli FQ direnç geni taşıması bu yaş grubunda antibiyotik kullanımı konusunda dikkatli davranmak gerekliliğini ortaya koymaktadır
- FQ duyarlı olduğu halde GSBL(+) izolatlarda FQ kullanımı konusunda dikkatli olunmalıdır

- ☹️ Kısıtlı bütçe ve zaman içerisinde gerçekleştirilen bir öğrenci odaklı proje olması nedeniyle FQ direncinden primer sorumlu *gyr* ve *par* geni mutasyonlarına ve GSBL enzim tipine bakılmamıştır
- ☹️ Bu genlerin varlığının tek başına dirence katkısı konusunda yorum yapılması mümkün olmamıştır

- 😊 Multipleks PZR analizinde pozitif kontrol olarak kullanılan izolatları gönderen Prof. Dr. Ufuk HASDEMİR'e
- 😊 Çalışmayı destekleyen Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Ofisine (Proje No:15Ö0230001) teşekkür ederiz.

# Teşekkürler...

