

İDRAR YOLU İNFEKSİYONU OLAN ÇOCUKLARDAN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE ÇEŞİTLİ VİRULANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI*

Neşe URDOĞAN İNAN, Nezahat GÜRLER

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

İdrar yolu infeksiyonu şüphesi ile poliklinik hasta grubundan izole edilen 100 suş ve yatan hasta grubundan 79 suş olmak üzere toplam 179 E.coli suşunun antimikrobiallere direnci ve çeşitli virulans özellikleri araştırılmıştır.

Ampisiline, ampisilin-sulbaktama, amoksisilin-klavulanik asit ve ko-trimoksazole yüksek oranda direnç saptanmıştır. Amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, sefuroksim, seftriakson, sefepim ve gentamisin direnci yatan hasta grubundan izole edilen suşlarda poliklinik hastalarından izole edilenlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yatan hasta grubunda % 13, poliklinik hasta grubunda % 1 oranında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) saptanmıştır. Yatan hasta grubunda anlamlı olarak daha fazla çoklu dirençli suşa (% 46/ % 19) rastlanmıştır.

Virulans faktörleri olarak, yatan ve poliklinik hasta gruplarında sırasıyla; % 46 ve % 41 oranında hemolizin; % 47 ve % 37 oranında serumun bakterisid etkisine direnç; % 11 ve % 18 oranında tip I fimbriya saptanmıştır. Yatan ve poliklinik hastalarından izole edilen suşlarda MRHA ve MSHA oranı sırasıyla % 27, % 20 ve % 18, % 28 olarak tespit edilmiştir. Bu özellikler bakımından iki grup suş arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hemagglütinasyon tiplmesi sonucu iki grupta da suşların daha çok tip IV-B (hemagglütinasyon negatif) ve tip V-A olduğu görülmüştür. Toplam 29 suş klasik tabloda bulunmayan hemagglütinasyon paternleri göstermiştir.

Yatan ve poliklinik hasta grubunda E.coli suşlarının virulans faktörleri açısından anlamlı farklı bulunmadığı fakat hastane kaynaklı suşlarda direnç oranlarının genellikle daha yüksek olduğu, çoklu dirence ve GSBL oluşturan suşlara daha fazla rastlandığı dikkat çekmiştir.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, idrar yolu infeksiyonu, virulans faktörleri

SUMMARY

Investigation of Antibiotic Resistance and Some Virulence Factors of *Escherichia coli* Strains Isolated from Children with Urinary Tract Infections

In this study, antibiotic resistance and some virulence factors of 179 E.coli strains (100 isolates from outpatients and 79 isolates from inpatients) were investigated.

The resistance rates for ampicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanic acid and co-trimoxazole were found to be high. The rates of amoxicillin-clavulanic acid, cefazolin, cefuroxime, ceftriaxone, cefepime and gentamicin resistance were found significantly higher in strains from inpatient group than those from outpatient group. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producers were 13 % in inpatients' and 1 % in outpatients' isolates. The multiple resistance rates were found significantly higher in inpatient group (46 % /19 %).

Yazışma adresi: Neşe Urdoğan İnan, Bilim İlaç San. A.Ş., Ayazağa Girişi, Maslak, İSTANBUL

Tel.: (0212) 365 15 66

e-posta: neseurdogan@yahoo.com; ninan@bilimilac.com.tr

Alındığı tarih: 02.03.2004, revizyon kabulü: 04.08.2004

*18. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresinde sunulmuştur (25-29 Mayıs 2003, Antalya). Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiştir. Proje no:T-1065/19022001

As virulence factors; hemolysin producers were found to be 46 % and 41 %; serum resistance to be 47 % and 37 %; type I fimbriae to be 11 % and 18 % in inpatient and outpatient groups, respectively. MRHA and MSHA were detected as 27 % and 20 %, and 18 % and 28 % in these two groups. The differences between two groups of strains for these properties were found to be insignificant. Hemagglutination types were similar in both groups; type IV-B (nonhemagglutinating type) and type V-A were found to be main types. Totally 29 strains gave hemagglutination patterns which are absent in classical table.

In conclusion, there was no significant difference in the frequency of virulence factors between inpatient and outpatient groups, but antibiotic resistance rates were generally higher in inpatient group, and multiple resistance and ESBL production were significantly higher in this group.

Key words: antibiotic resistance, *Escherichia coli*, urinary tract infection, virulence factors.

GİRİŞ

İdrar yolları infeksiyonu (İYİ), çocukluk çağında, solunum sistemi infeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta görülen infeksiyondur⁽²⁷⁾. *E.coli* İYİ'larının en sık etkeni olmakla birlikte, çok çeşitli klinik tablolara da neden olur⁽⁹⁾.

Üropatojen *E.coli* suşlarının bilinen virulans faktörleri arasında kapsül oluşturma, üroepitel hücrelere yapışma yeteneği (adezyon), idrarda üreme hızı, serum direnci, P fimbriya oluşturma, siderofor üretimi, sitotoksik nekrotizan faktör-1 ve hemolizin üretimi, belirli O ve K serogrubuna ait olma, kolisin V üretimi özellikleri sayılabilir^(9,22).

E.coli çeşitli tipte hemolizin üretir. Alfa, beta, gama ve enterohemolizin üreten *E.coli* suşlarının, hemoliz yapmayan suşlara göre insan serumunun öldürücü etkisine daha dirençli oldukları ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosite edildiklerinde de yüksek oranda canlı kaldıkları saptanmıştır⁽³⁶⁾. Bakterilerin demir elde etmelerinde, sideroforlara alternatif yol hemolizin oluşturmalarıdır^(3,21). Ekstraintestinal infeksiyonlardan izole edilen suşlarda % 50'den daha çoğunda hemolizin saptanırken, dışkı suşlarının % 10'undan azı hemolizin oluşturma özelliğine sahiptir. Alfa-hemolizin lenfositler üzerinde daha sitotoksikken, beta-hemolizin daha çok fagositozu ya da nötrofillerin kemotaksisini inhibe edebilir⁽⁹⁾. Beta-hemolizin hücreye bağlı protein yapısındadır ve birçok hayvan eritrositlerini eritme özelliği vardır. Beta-hemolizinin, bakterinin metabolik aktivitesi için gerekli olduğu belirlenmiştir⁽³⁾. Gama-hemolizin nalidiksik aside dirençli mutant *E.coli* suşları tarafından üretilen bir hemolizindir⁽³⁸⁾. Enterohemolizin, beta-hemolizin gibi hücreye bağlı protein yapısındadır. Kanlı agarda enterohemoliz tarafından oluşturulan lizis zonları alfa ve beta-hemoliz zonlarından daha küçük ve bulanıktır. Alfa-hemoliz için 3 saatlik inkübasyon yeterli iken enterohemolizinin belirlenmesi için 24 saatlik inkübasyona gerek vardır^(2,3). Hemolizin üretiminin genellikle demir fazlalığında baskılandığı, demir miktarının düşük olduğu durumlarda arttığı belirlenmiştir^(34,38,43).

Birçok Gram negatif bakteri taze insan serumu ile

karşılaştıklarında, taze insan serumunun etkisi ile canlılıklarını yitirirler. Bakteriler komplemanın öldürücü etkisinden; kompleman şelalesinin aktivasyonunu bloke ederek, kritik membran hedef bölgelerine kompleman komponentlerinin tutunmasını engelleyerek (O polisakkaritler) veya dış membrana ulaşmış ve normal fonksiyon görüyor olsa bile membran hücum kompleksinden korunarak kaçarlar. Serum direnci sıklıkla çok faktörlüdür⁽³⁹⁾. Serumun öldürücü etkisinde alternatif yol daha önemlidir. Kompleman mikroorganizmayı lizozim enzimine daha duyarlı hale getirir. Lizozim (muramidaz) hücre duvarı peptidoglikan yapısını yıkar. Gram negatif bakteriyemi ve piyelonefritli hastalarda *E.coli* suşlarının serumun öldürücü etkisine direnci, asemptomatik bakteriüri veya dışkı suşlarına göre daha fazladır. Serum direnci, suşun lipopolisakkarit yan zincirindeki karbonhidrat uzunluğuyla ilişkilidir. K1 antijenine sahip *E.coli* suşlarında serum direnci artmıştır^(22,24,40).

Bakterilerin idrar yollarında infeksiyona yol açabilmesi için öncelikle üroepitel hücrelere spesifik olarak bağlanması gereklidir. Bu da fimbriyal ve fimbriyal olmayan diğer adezinler sayesinde gerçekleşir. Fimbriyalar antijenik ve fonksiyonel olmak üzere 2 farklı şekilde tanımlanmıştır. Kolonizasyon faktörleri antijenik olarak tanımlanır ve gastroenterit etkeni birçok *E.coli* suşunda saptanır⁽³¹⁾. Fimbriyalar bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasını sağlar ve bu nedenle de önemli bir virulans faktörüdür. Fimbriya antijenleri, kolonizasyon faktör antijenleri (Colonization Factor Antigens – CFAs) olarak da tanımlanır. İnsan kaynaklı ETEC suşları CFA I, II, III ve IV olmak üzere dört farklı antijen sentezleyebilir. Özellikle CFA I ve CFA II insan ve sığır eritrositleri ile mannoza dirençli hemagglütinasyon verirken, kobay eritrositleri ile agglütinasyon oluşturmazlar. CFaII, CS1, CS2, CS3 (coli surface antijen) komponentlerinden oluşur. CFA IV ise CS4, CS5, CS6 komponentlerine sahiptir. Hayvan kaynaklı ETEC suşlarında benzer şekilde K88, K99 ve 987P gibi kolonizasyon faktör antijenleri bulunur⁽¹⁴⁾. Bazı *E.coli* suşları ince barsağın peristaltik savunmasına karşı koyan, barsak mukozasına ve idrar yollarına yapışmalarını sağlayan

fimbriyalara sahiptir. *E.coli*'lerin fimbriyaları biyolojik, antijenik ve genetik farklılıklarına göre; tip1, P, S, M, F, G, Dr fimbriyaları olarak gruplandırılmıştır. Üriner sistemde, infeksiyon oluşturan bazı suşlar F1 (tip 1) fimbriya veya F7 – F13 fimbriya (P fimbriya) taşırlar. Bu suşlar, fimbriyaların yardımı ile hücrelere tutunup idrar akımına karşı koyarak patojenitelerini artırırlar. Böyle suşlara, üropatojen *E.coli* adı verilir^(22,24,37). Tip 1 fimbriyalar, üretra ve mesaneye ilk kolonizasyonda rol alırlar. Mannoz duyarlı olarak adlandırılırlar. Çünkü, D-mannoz hemagglütinasyonunu inhibe eder ve hedef hücrelere yapışmayı engeller. Mannan içeren mayaları ve kobay eritrositlerini aglütine ederler⁽²²⁾. Tip 1 fimbriya inflamasyona cevabı arttırmada ve bakteri persistansında rol alır. Hayvan deneylerinde tip 1 fimbriya taşıyan suşların daha fazla sayıda hayatta kaldıkları ve daha fazla sayıda nötrofil göçüne yol açtığı belirtilmiştir⁽⁵⁾.

Bu çalışmada, yatan ve poliklinik hastalarından izole edilen *E.coli* suşlarının antibiyotiklere direnci ile hemolizin oluşturma, serumun bakterisid etkisine direnci ve hemagglütinasyon oluşturma gibi virülans faktörlerinin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2001-Ocak 2002 arasında, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalının Nefroloji ve Hematoloji servisleri ile Yoğun Bakım Ünitesinde yatırılarak izlenen idrar yolu infeksiyonu kuşkusu olan çocukların idrar kültürlerinden izole edilen 79 *E.coli* suşu ve polikliniğe müracaat eden çocukların idrarlarından izole edilen 100 *E.coli* suşunun antibiyotik direnci ve çeşitli virülans özellikleri araştırılmıştır.

Direnç belirlenmesi

Suşların çeşitli antibiyotiklere dirençleri NCCLS önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agarda belirlenmiştir⁽²⁸⁾. Beş ve üzerinde antibiyotiğe dirençli suşlar çoklu dirençli olarak kabul edilmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır⁽¹⁶⁾.

Hemolizinlerin belirlenmesi

E.coli suşlarında hemolizin üretimini belirlemek için % 5 koyun kanı içeren kanlı agar besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat 37°C'de inkübasyondan sonra kolonilerin etrafında şeffaf hemoliz zonu beta-hemoliz olarak değerlendirilmiştir. Alfa-hemolizin belirlenebilmesi için fosfat tamponlu tuzlu su ile üç kez yıkanmış % 5 koyun eritrositleri ile 10 mM CaCl₂ içeren kanlı agar besiyeri kullanılmıştır. 37°C'de 3 saat inkübe edildikten sonra koloniler etrafında oluşan hemoliz zonu alfa-

hemolizin olarak, aynı besiyerleri 24 saatlik inkübasyonu tamamladıktan sonra oluşan yeni hemoliz zonu enterohemolizin olarak değerlendirilmiştir. Gama-hemolizinin saptanması için suşlar, iki farklı besiyerine nokta ekim yöntemi ile ekilmiştir. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonucu % 5 koyun kanı içeren Colombia agarda dar bir hemoliz oluşturup % 5 insan kanlı agarda hemoliz oluşturmayan *E.coli* suşları gama-hemolizin açısından olumlu değerlendirilmiştir^(2,3).

Serum direncinin belirlenmesi

Bakterilerin normal insan serumuna karşı duyarlılığının ölçümünde Olling ve ark.⁽²⁹⁾'nın geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. Suşlar beyin kalp infüzyonu (BHI) besiyerine ekilip bir gece 37°C'de inkübe edildikten sonra bu besiyerlerinden 0.1 ml alınarak 0.5 ml BHI besiyerine pasaj yapılmış, 30 dakika 37°C'de inkübasyondan sonra Hanks solüsyonu ile 1/100 oranında sulandırılmıştır. 0.2 ml bakteri süspansiyonu, 0.2 ml taze insan serumu ile karıştırılıp, 30 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir. Örneklerin absorbansları 600 nm'de 3. ve 5. saatlerde spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Alınan sonuç serum ilave edilmeden bakteri süspansiyonunun Hanks çözeltisi ile % 50, % 10 ve % 1 oranında sulandırıldığı tüplerde alınan sonuçlarla mukayese edilmiş ve % 10'luk süspansiyondakine eşit veya daha yüksek absorbans alınan suşlar serumun bakterisid etkisine dirençli olarak kabul edilmiştir⁽²⁹⁾.

Hemagglütinasyon deneyi

Hemagglütinasyon tiplmesi Evans ve ark.^(11,12)'in kullandığı tiplmeye göre yapılmıştır. Suşların kültürleri için kolonizasyon faktör antijen agar (CFA agar) besiyeri kullanılmıştır. İnsan O grubu, kobay, tavuk ve sığır kan örnekleri PBS ile sulandırılmıştır. Eritrosit süspansiyonları ikiye bölünerek birine % 1 oranında metil- α -mannosid eklenmiştir. CFA besiyerinde üretilen suşlar, mannozlu ve mannozsuz birer damla kan ile karıştırılmış, lam hemagglütinasyon yöntemi ile hemagglütinasyon varlığı araştırılmıştır. Mannoz varlığında devam eden hemagglütinasyon tipi mannoza dirençli hemagglütinasyon (MRHA); mannoz varlığında inhibe olan hemagglütinasyon tipi ise mannoza duyarlı hemagglütinasyon (MSHA) olarak tanımlanmıştır.

BULGULAR

E.coli suşlarının antimikrobiyallere dirençleri tablo 1'de gösterilmiştir. Amoksisilin-klavulanik aside, sefazoline, sefuroksime, seftriaksona, sefepime, gentamisine dirençli suşların sıklığı, yatan ve poliklinik hasta gruplarında karşılaştırıldığında, yatan hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (Tablo 1). İmipenem, meropenem ve amikasin dirençli suşa rastlanmamıştır. Yatan hasta grubunda 10 (% 13) ve poliklinik grubunda 1 (% 1) suşta GSBL üretimi saptanmış

ve yatan hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek GSBL üretimi belirlenmiştir ($p<0.01$). Yatan hasta grubunda çoklu direnç pozitifliği 36 (% 46), poliklinik grubunda 19 (% 19) suşta saptanmış ve yatan hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

Tablo 1: *E.coli* suşlarında antibiyotiklere direnç (%).

| Antibiyotikler | Yatan (n:79) n (%) | Poliklinik (n:100) n =% | p |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------------|--------|
| Ampisilin | 62 (78) | 68 | |
| Ampisilin-sulbaktam | 42 (53) | 59 | |
| Amoksisilin-klavulanik asit | 51 (65) | 38 | <0.001 |
| Sefazolin | 23 (29) | 15 | <0.05 |
| Sefuroksim | 11 (14) | 3 | <0.01 |
| Sefoksitin | 2 (3) | 2 | |
| Seftriakson | 9 (11) | 1 | <0.01 |
| Sefepim | 6 (8) | 0 | <0.01 |
| Sefoperazon-sulbaktam | 5 (6) | 1 | |
| İmipenem | 0 (0) | 0 | |
| Meropenem | 0 (0) | 0 | |
| Gentamisin | 10 (13) | 2 | <0.01 |
| Tobramisin | 9 (11) | 5 | |
| Netilmisin | 4 (5) | 4 | |
| Amikasin | 0 (0) | 0 | |
| Ko-trimoksazol | 46 (58) | 67 | |
| Nalidiksik asit | 18 (23) | 17 | |
| Siprofloksasin | 10 (13) | 9 | |
| Ofloksasin | 10 (13) | 9 | |

Tablo 2: *E.coli* suşlarının hemaglutinasyon özelliklerine göre dağılımı.

| Hemaglutinasyon tipi | Eritrosit | | | | Suşların kaynağı | | |
|--|-----------|-------|-------|-------|------------------|------------|--------|
| | İnsan | Sığır | Tavuk | Kobay | Yatan | Poliklinik | Toplam |
| I-A | MR | MR | MR | - | 0 | 0 | 0 |
| I-B | MR | MR | MR | MS | 0 | 0 | 0 |
| II-A | - | MR | MR | - | 0 | 0 | 0 |
| II-B | - | MR | MR | MS | 0 | 0 | 0 |
| II-C | MS | MR | MR | MS | 0 | 0 | 0 |
| III-A | - | - | MS | MS | 1* | 3* | 4* |
| III-B | MR | - | MS | MS | 0 | 0 | 0 |
| IV-A | MS | - | MS | MS | 2* | 5* | 7* |
| V-A | MR | - | - | - | 9 | 16 | 25 |
| V-B | - | MR | - | - | 1 | 1 | 2 |
| V-C | - | - | MR | - | 0 | 0 | 0 |
| V-E | - | - | - | MR | 1 | 1 | 2 |
| V-F | MR | - | MS | MS | 1* | 2* | 3* |
| VI-A | MR | - | MR | - | 3 | 0 | 3 |
| VI-B | MR | - | MR | MS | 1* | 0 | 1* |
| VI-C | MR | - | - | - | 0 | 0 | 0 |
| VI-D | MR | - | MS | MS | 1* | 0 | 1* |
| VI-E | MR | - | MR | MR | 1 | 0 | 1 |
| VII-A | MR | MR | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Klasik tabloya göre hemaglutinasyon tipi belirlenemeyenler | | | | | | | |
| | - | - | - | MS | 3* | 6* | 9* |
| | MS | - | - | MS | 0 | 2* | 2* |
| | MS | - | - | - | 5 | 10 | 15 |
| | MR | MR | - | MR | 3 | 0 | 3 |
| Toplam | | | | | 32 | 46 | 78 |
| IV-B (Hemaglutinasyon negatif) | - | - | - | - | 47 | 54 | 101 |

*Tip 1 fimbriya oluşturan suşlar

Hemaglutinasyon tiplemesi sonucu her iki grupta da suşların daha çok tip IV-B (hemaglutinasyon negatif) ve tip V-A olduğu görülmüştür (Tablo 2). Ayrıca 29 suş Evans ve ark.^(11,12)'nin şemasında bulunmayan hemaglutinasyon paternleri vermiştir. Yatan ve poliklinik hastalarına ait suşlarda hemaglutinasyon oluşturmada anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kobay eritrositleri ile MSHA veren, sığır eritrositleri ile hemaglutinasyon vermeyen suşlar tip 1 fimbriya olarak değerlendirilmiştir. Buna göre yatan hasta grubunda 9 (% 11), poliklinik hasta grubunda ise 18 (% 18) suşta tip 1 fimbriya saptanmıştır ($p>0.05$).

Yatan hasta grubunda 36 (% 46) suş hemolizin oluştururken, poliklinik hasta grubunda 41 (% 41) suşta hemolizin saptanmıştır (Tablo 3). Toplamda 7 suşun iki tip hemolizin oluşturduğu belirlenmiştir. Enterohemolizin oluşturan suşa rastlanmamıştır. Hemolizin pozitif suşların dağılımında iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

E.coli suşlarının 74'ü (% 41) serumun bakterisid etkisine dirençli olarak saptanmıştır. Yatan hasta grubunda 37 (% 47) suş serumda dirençli saptanırken; poliklinik grubunda da 37

(% 37) suş serum dirençli bulunmuştur. İki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Hemoliz oluşturan 77 suşun 47'si (% 60) aynı zamanda hemagglütinasyon pozitif bulunmuştur. Bu bulgular hemoliz özelliği ile hemagglütinasyon özelliği arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermiştir ($p<0.001$). Hemoliz pozitif suşların serum direncine bakıldığında, hemoliz oluşturan 77 suşun 41'inin (% 53) aynı zamanda serumun bakterisid etkisine dirençli olduğu saptanmıştır. Bu korelasyon da anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Hemagglütinasyon pozitif 78 suşun 15'inde (% 19), hemagglütinasyon negatif 101 suşun ise 40'ında (% 40) çoklu direnç saptanmıştır ve hemagglütinasyon negatif suşlarda çoklu direnç fazlalığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Serumun bakterisid etkisine dirençli olmayan suşlarda da çoklu direnç anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Hemoliz özelliği ile çoklu dirençli suşlar arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 3: E.coli suşlarının hemolizinin sonuçları.

| Hemolizin | Yatan (n:79) n (%) | Poliklinik (n:100) n=% | Toplam (n:179) n (%) |
|------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|
| Alfa-hemolizin | 9 (11) | 15 | 24 (13) |
| Beta-hemolizin | 27 (34) | 26 | 53 (30) |
| Gama-hemolizin | 2 (2) | 5 | 7 (4) |
| Enterohemolizin | 0 | 0 | 0 |
| Hemolizin pozitif suş* | 36 (46) | 41 | 77 (43) |

*7 suş iki tip hemolizin oluşturmıştır.

Tablo 4: Çoklu direnç ile suşların hemagglütinasyon, hemoliz ve serum dirençlilik özelliklerinin karşılaştırılması [n (%)].

| | | Çoklu direnç var | Çoklu direnç yok | Toplam |
|-------------------|---|---------------------|---------------------|--------|
| Hemagglütinasyon | + | 15 (19) | 63 (81) | 78 |
| Hemagglütinasyon* | - | 40 (40) | 61 (60) | 101 |
| Hemoliz | + | 23 (30) | 54 (70) | 77 |
| Hemoliz | - | 32 (31) | 70 (69) | 102 |
| Serum direnci | + | 11 (15) | 63 (85) | 74 |
| Serum direnci* | - | 44 (42) | 61 (58) | 105 |

* Hemagglütinasyon negatif ($p<0.01$) ve serum direnci olmayan ($p<0.001$) suşlarda çoklu direnç anlamlı şekilde yüksektir.

Yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından izole edilen suşlarda çeşitli virülans faktörleri tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5: E.coli virülans özelliklerinin karşılaştırılması.

| | Yatan n (%) | Poliklinik n=% | Toplam n (%) | p |
|---------------------|----------------|-------------------|-----------------|-----------|
| MSHA ve/veya MRHA | 32 (41) | 46 | 78 (44) | $p>0.05$ |
| Tip 1 fimbriya var | 9 (11) | 18 | 27 (15) | $p>0.05$ |
| Hemolizin oluşturma | 36 (46) | 41 | 77 (43) | $p>0.05$ |
| Serum direnci var | 37 (47) | 37 | 74 (41) | $p>0.05$ |
| Çoklu direnç var | 36 (46) | 19 | 55 (31) | $p<0.001$ |

TARTIŞMA

Çocuklarda İYİ tanısının erken konması, doğru ve zamanında tedavi ve profilaksi protokollerinin belirlenmesi, piyelonefritik skar, hipertansiyon ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonların gelişimini önleyeceğinden büyük önem taşımaktadır^(4,25,40). Bu çalışmada çocuk hastalarda idrarlardan izole edilen E.coli suşlarında ampisilin, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit ve ko-trimoksazole yüksek oranda direnç saptanırken, karbapenem grubundan imipenem ve meropenem için dirence rastlanmamıştır. Amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, sefuroksim, seftriakson, sefepim ve gentamisine dirençli suşların sıklığı yatan hasta grubunda, poliklinik grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çalışmaların sonucuna göre en yüksek direncin % 71 - 92 oranı ile ampisiline ve % 51 - 58 oranı ile ko-trimoksazole karşı olduğu gözlenmiştir^(6,10,15,23).

Bu çalışmada, yatan hastalarda nalidiksik asit için % 23, ofloksasin ve siprofloksasin için % 13 oranlarında direnç saptanırken; poliklinik hasta grubunda bu antibiyotiklere sırasıyla % 17, % 9 ve % 9 oranında direnç bulunmuştur. Pediatrik hastalarda, çocuklarda sınırlı kullanımı olan kinolon grubu antibiyotiklere de % 9 - % 23 arasında direnç saptanması dikkat çekicidir.

Belçika'da yapılan bir çalışmada E.coli suşlarında % 39 ampisilin, % 14.8 sefazolin, % 4.4 sefuroksim, % 6.5 amoksisilin-klavulanik asit, % 23 ko-trimoksazol ve % 8.9 siprofloksasin direnci bulunmuştur⁽¹⁷⁾. Alon ve ark.⁽¹⁾'nin çocuk hastalarda yaptığı çalışmada, E.coli insidansı poliklinik hastalarında % 80'nin üzerinde iken bu oran hastane kaynaklı suşlarda % 50'dir. Buna ek olarak, hastane kaynaklı üropatojenlerde 4 yılda ko-trimoksazol direncinin % 46'dan (1980) % 63'e (1984); poliklinik hastalarında ise % 27'den (1981) % 51'e (1985) yükseldiği bildirilmektedir. Kanada'da yapılan bir çalışmada hastane kaynaklı E.coli suşlarının % 50'si ampisiline dirençli saptanırken; toplum kaynaklı suşlarda bu oran % 30 olarak belirtilmiştir⁽⁴⁵⁾.

Yatan hasta grubunda 36 (% 46) suşta, poliklinik grubunda ise 19 (% 19) suşta çoklu dirence rastlanmıştır. Çoklu direnç pozitifliği yatan hasta grubunda anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. İYİ etkeni olarak izole edilmiş Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin direnç fenotiplerinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, E.coli suşlarının % 19.7'sinin çoklu dirençli olduğu bildirilmiştir⁽⁴¹⁾. Ruhi ve ark.⁽³²⁾ piyelonefrit, sistit ve asemptomatik bakteriyüri suşlarında sırasıyla % 43, % 31 ve % 44 oranında çoklu direnç saptamışlardır. ABD'de yapılan sörveyans çalışmasında üropatojen E.coli suşlarının % 7.1'i çoklu dirençli olarak bulunmuş ve bu suşların % 97.8'inin ampisiline, % 92.8'inin ko-trimoksazole, % 86.6'sının sefazoline ve % 38.8'inin ise

siprofloksasine dirençli olduğu saptanmıştır. Çoklu dirençli suşların yatan hastalarda poliklinik hastalarına oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir⁽³³⁾.

Bu çalışmada, yatan hasta grubunda 10 (% 13) suşun ve poliklinik grubunda ise 1 (%1) suşun GSBL oluşturduğu saptanmıştır. Çetin ve ark.⁽⁷⁾ hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilmiş *E.coli* suşlarında % 15.8 oranında GSBL saptamışlardır. Gürdoğan ve Arslan⁽¹⁶⁾, hastane suşlarında % 9, poliklinik suşlarında % 7.8; Tünger ve ark.⁽⁴²⁾ ise sırası ile % 13.4 ve % 6.7 oranında GSBL üretimi bildirmişlerdir.

Yatan ve poliklinik hastalarından izole edilen 179 *E.coli* suşunda alfa, beta, gama ve enterohemolizin varlığı araştırılmıştır. Yatan hasta grubunda 36 (% 46) suş hemolizin oluştururken, poliklinik hasta grubunda 41 (% 41) suşta hemolizin saptanmıştır. Yatan hasta grubunda 9 (% 11) suşta alfa-hemolizin, 27 (% 34) suşta beta-hemolizin, 2 (% 3) suşta gama-hemolizin saptanırken, 2 suşta alfa ve beta-hemolizine birlikte rastlanmıştır. Poliklinik hasta grubunda ise 15 (% 15) suşta alfa-hemolizin, 26 (% 26) suşta beta-hemolizin ve 5 (% 5) suşta gama-hemolizin saptanırken, 3 suşta alfa ve gama-hemolizine, 2 suşta alfa ve beta-hemolizine birlikte rastlanmıştır. Bu çalışmada *E.coli* suşlarında enterohemolizine rastlanmamıştır (Tablo 3). Çeşitli çalışmalarda idrar yolu infeksiyonu etkeni olan *E.coli* suşlarında hemolizin oluşturma oranları % 38-% 48 arasında bildirilmektedir^(6,13,18,19,30).

Bu çalışmada; hemolizin oluşturan suşların % 60'ının hemaglütinasyon özelliği de pozitif, % 53'ünün ise serumun bakterisid etkisine dirençli olduğu saptanmıştır. Hemolizin oluşturma özelliği ile hemaglütinasyon ve serumun bakterisid etkisine direnç arasındaki bu korelasyon anlamlı bulunmuştur. Siegfried ve ark.⁽³⁵⁾ hemolitik *E.coli* suşlarının, nonhemolitik suşlara göre insan serumunun öldürücü etkisine daha dirençli olduklarını ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosite edildiklerinde de yüksek oranda canlı kaldıkların saptamışlardır. Çoşar⁽⁶⁾ da üropatojen *E.coli* suşlarında hemolizin yapımı ile hemaglütinasyon aktiviteleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda yatan hasta grubundan izole edilen suşların 37'si (% 47), poliklinik hasta grubunda da 37'si (% 37) serumla dirençli bulunmuştur. Bu fark istatistik olarak anlamsızdır. Çeşitli çalışmalarda serum direnci oranları % 19-70 gibi oranlarda bildirilmiştir. Serum direncinin virülans faktörü olmadığını, kontrol ve patojen suşlar arasında anlamlı fark saptanmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur^(26,29,32,35).

Üropatojen *E.coli* suşlarında bulunan fimbriya yapıları başta mannoz varlığında hemaglütinasyonun devam edip (MRHA) etmemesine (MSHA) göre iki gruba ayrılır. MSHA üropatojen *E.coli* suşlarında tip 1 fimbriya aracılığı ile ve MRHA ise P fimbriya ve X adezinler denilen ve sayıları gün geçtikçe artan fimbriyalar aracılığı ile olmaktadır. Hemaglütinasyon testleri çeşitli türlerin eritrositleri ile; lam,

tüp veya mikropatlarda yapılabilmektedir. Çalışmamızda hemaglütinasyon deneyleri insan 0 grubu, kobby, sığır ve tavuk eritrositleri ile lam aglütinasyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yatan ve poliklinik hastalardan izole edilen suşlarda MRHA ve MSHA oranı sırasıyla % 27, % 20 ve % 18, % 28 olarak tesbit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda MRHA oranı % 31-81 ve MSHA oranı % 12-49 olarak bildirilmektedir^(6,30,32). Toplam 29 suş Evans ve ark.^(11,12)'nın klasik şemasına uymayan hemaglütinasyon paternleri göstermiştir.

Yatan ve poliklinik hastalarının tip 1 fimbriya pozitifliği oranı % 11 ve % 18 olarak düşük bir oranda saptanmıştır. Tip 1 fimbriya genotipi çeşitli çalışmalarda % 92 - % 100 oranında oldukça yüksek bulunurken fenotip % 14 - % 90 arasında gözlenmektedir^(13,20,44). *E.coli*'de kobby eritrositleri ile MSHA oluşturan, sığır eritrositleri ile hemaglutinasyon oluşturmayan tek fimbriya tip 1 fimbriyadır. Fimbriya ekspresyonu tip 1 fimbriya operonu ile kontrol edilmektedir. Bakteri fimbriyalı durumdan fimbriyasız duruma genomik bir değişimle geçebilir. Çevresel koşullar tip 1 fimbriyanın fenotipik olarak saptanmasında farklı sonuçlara neden olabilir. Bu çalışmada tip 1 fimbriyanın düşük oranda saptanması bu şekilde açıklanabilir. Sıvı besiyerinde seri pasajlar sonucu mannoza bağlanma oranının arttığı bildirilmiştir⁽⁸⁾.

Sonuç olarak, yatan hasta ve poliklinik hasta gruplarında idrardan izole edilen *E.coli* suşlarının bazı antimikrobiyalere direnç, GSBL üretimi ve çoklu dirençlilik özellikleri karşılaştırıldığında anlamlı farklar saptanırken; hemaglütinasyon, tip 1 fimbriya, hemolizin oluşturma ve serumun bakterisid etkisine direnç gibi virülans özellikleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Alon U, Davidai G, Berant M, Merzbach D: Five-year survey of changing patterns of susceptibility of bacterial uropathogens to trimethoprim-sulfamethoxazole and other antimicrobial agents, *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:126-8.
2. Beutin L: The different hemolysins of *Escherichia coli*, *Med Microbiol Immunol* 1991;180:167-82.
3. Beutin L, Montenegro MA, Orskov I, Orskov F, Prada J, Zimmermann S, Stephan R: Close association of verotoxin (Shiga-Like Toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*, *J Clin Microbiol* 1989;27:2559-64.
4. Chon CH, Lai FC, Shortliffe LMD: Pediatric urinary tract infections, *Pediatric Clin N Am* 2001;48:1441-59.
5. Connell H, Agace W, Klemm P, Schembri M, Marild S, Svanborg C: Type 1 fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract, *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:9827-32.
6. Çoşar G: Üropatojen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları,

- hemoliz ve insan O grubu eritrositler ile hemagglütinasyon özellikleri, *İnfeksiyon Derg* 1988;2:55-60.
7. Çetin BD, Gündüz A, Şensoy A, Korkmaz F, Seber E: Hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere duyarlılık özellikleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2001;31:41-5.
 8. Duguid JP, Clegg S, Wilson MI: The fimbrial and nonfimbrial hemagglutinins of *Escherichia coli*, *J Med Microbiol* 1979;12:213-27.
 9. Eisenstein BI, Zaleznik DF: Enterobacteriaceae, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5.baskı" kitabında s. 2294-301, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
 10. Erayman İ, Erayman B, Arıbaş ET: İdrar örneklerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2001;15:164.
 11. Evans DJ, Evans DG, Dupont HL: Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* determined with human, bovine, chicken and guinea pig erythrocytes in the presence and absence of mannose, *Infect Immun* 1979;23:336-46.
 12. Evans DJ, Evans DG, Young LS, Pitt J: Hemagglutination typing of *Escherichia coli*: Definition of seven hemagglutination types, *J Clin Microbiol* 1980;12:235-42.
 13. Foxman B, Zhang L, Palin K, Tallman P, Marrs CF: Bacterial virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates from first-time urinary tract infection, *J Infect Dis* 1995;171:1514-21.
 14. Greenwood D, Slack R, Pentherer J: Medical Microbiology, 15.baskı, s. 267-75, Churchill Livingstone, New York (1997).
 15. Gür D, Kanra G, Ceyhan M, Seçmeer G, Kanra B, Kaymakoğlu İ: Epidemiology and antibiotic resistance of Gram negative urinary pathogens in pediatric patients, *Turk J Pediatr* 1999;41:37-42.
 16. Gürdoğan K, Arslan H: Hastane kökenli ve hastane dışı *Escherichia coli*'lerde çift disk sinerji yöntemiyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz araştırılması ve izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumu, *Flora* 1999;4 :177-80.
 17. Hubrecht JM, Lontie M, Caudron M: The in vitro susceptibility of urinary tract pathogens to mecillinam, compared with other antimicrobial agents: a multicenter study, *Clin Microbiol Infect* 2001;7 (Suppl 1) :70.
 18. Hughes C, Hacker J, Roberts A, Goebel W: Hemolysin production as a virulence marker in symptomatic and asymptomatic urinary tract infections caused by *Escherichia coli*, *Infect Immun* 1983;39:546-51.
 19. Hughes C, Phillips R, Roberts AP: Serum resistance among *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection in relation to O type and the carriage of hemolysin, colicin and antibiotic resistance determinants, *Infect Immun* 1982;35:270-5.
 20. Hull RA, Rudy DC, Wieser IE, Donovan WH: Virulence factors of *Escherichia coli* isolates from patients with symptomatic and asymptomatic bacteriuria and neuropathic bladders due to spinal cord and brain injuries, *J Clin Microbiol* 1998;36:115-7.
 21. Jacobson SH, Hammorind M, Lidfeldt KJ: Incidence of aerobactin positive *Escherichia coli* strains of patient with symptomatic urinary tract infection, *Eur J Clin Microb Infect Dis* 1998;7:630.
 22. Johnson JR: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection, *Clin Microbiol Rev* 1991;4:80-128.
 23. Kılıç SS, Felek S, Aşçı Z, Barlas H, Orak S: İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 1990;4:571-7.
 24. Kunin CM: Urinary tract infection detection, prevention and management, 5.baskı, s. 78-98, 280-321, Williams and Wilkins, Baltimore (1997).
 25. Larcombe J: Urinary tract infection in children, *BMJ* 1999;319:1173-5.
 26. Marild S, Wettergren B, Hellström M, Jodal U, Lincoln K, Orskov I, Orskov F, Svanborg-Eden C : Bacterial virulence and inflammatory response in infants with febrile urinary tract infection or screening bacteriuria, *J Pediatr* 1988;112:348-54.
 27. McMillan J, DeAngelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (eds): Oski's Pediatrics Principle and Practice, 3. baskı, s. 1560, Lippincott William and Wilkins, Philadelphia (1999).
 28. National Committee for Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Twelfth Informational Supplement, NCCLS Document M 100-S12, s.27, NCCLS, Wayne (2002).
 29. Olling S, Hanson LA, Holmgren J, Jodal U, Lincoln K, Lindberg U: The bactericidal effect of normal human serum on *Escherichia coli* strains from normals and from patients with urinary tract infections, *Infection* 1973;1:24-8.
 30. Ögüt T: *Escherichia coli* suşlarında çeşitli virulans faktörlerin araştırılması, İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul (2001).
 31. Rozenberg-Arska M, Visser MR: Enterobacteriaceae, "Armstrong D, Cohen J (eds): Infectious Disease" kitabında s.17.1-17.12, Mosby Co., London (1999).
 32. Ruhi MZ, Özenci H, Ataoğlu H, Aysev D: Üriner sistem infeksiyonu bulunan çocukların idrarlarında izole edilen *Escherichia coli* suşlarının virulans faktörleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000; 30: 85-92.
 33. Sham DF, Thornsberry C, Mayfield DC, Jones ME, Karlowsky JA: Multidrug resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli*: Prevalence and patient demographics in the United States in 2000, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45: 1402-6.
 34. Short EC, Kurtz HJ: Properties of the hemolytic activities of *Escherichia coli*, *Infect Immun* 1971;3:678.
 35. Siegfried L, Kmetova M, Janigova V, Sasinka M, Takacova V: Serum response of *Escherichia coli* strains causing dyspepsia and urinary tract infection: Relation to a hemolysin production and O Type, *Infect Immun* 1995;63:4543-5.
 36. Siegfried L, Puzova H, Kmetova M, Kerestesova A: Killing of a hemolytic and nonhemolytic *Escherichia coli* strains in human serum and polymorphonuclear leukocytes, *J Med Microb* 1992;37:3.
 37. Sobel JD, Kaye D: Urinary tract infections, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5.baskı" kitabında, s. 773, Churchill

- Livingstone, Philadelphia (2000).
38. Steadman R, Topley N: The virulence of *Escherichia coli* in the urinary tract, "Brumeitt W, Hamilton-Miller JMT, Bailey RR (eds): *Urinary Tract Infections*" kitabında.s.37-58, Chapman and Hall Medical, London (1998).
 39. Taylor PW: Sensitivity of some smooth strains of *Escherichia coli* to the bactericidal action of normal human serum, *J Clin Path* 1974;27: 626-9.
 40. Tullus K, Winberg J: Urinary tract infections in childhood, "Brumeitt W, Hamilton-Miller JMT, Bailey RR (eds): *Urinary Tract Infections*" kitabında, s. 175-97, Chapman and Hall Medical, London (1998).
 41. Turku T, Corcaci C, Luca V, Fintinaru R, Scurtu R, Teodor A: Resistance phenotypes at *Enterobacteriaceae* spp. involved in urinary tract infections: the task of the microbiologist in guiding antibiotherapy. *Clin Microbiol Infect* 2001;7 (Suppl 1) :71.
 42. Tnger , Srcoğlu S, Gazi H, zbakkaloğlu B: Hastane dışı ve hastane kkenli idrar yolu infeksiyonlarından soyutlanan *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2000;14: 143.
 43. Waalwijk C, Maclaren DM, Graaff J: In vivo function of hemolysin in the nephropathogenicity of *Escherichia coli*, *Infect Immun* 1983;42:245-9.
 44. Westerlund B, Siitonen A, Elo J, Williams PH, Korhonen TK, Mkel PH: Properties of *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in boys, *J Infect Dis* 1998;158:996-1002.
 45. Zhanei GG, Karlowsky JA, Harding GKM, Carrie A, Mazzulli T, Low DE: A Canadian National Surveillance Study of Urinary Tract Isolates from Outpatients: Comparison of the activities of trimethoprim- sulfamethoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin and ciprofloxacin, *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1089-92.