

## İKİ AYLIK BİR DÖNEMDE PEDIATRİK POLİKLİNİK HASTALARININ İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN GSBL OLUŞTURAN *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA* SUŞLARI

Lütfiye ÖKSÜZ\*, Nezahat GÜRLER\*, Nurver AKINCI\*\*, Aydan ŞİRİN\*\*

\*İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa-İSTANBUL

\*\* İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı, Çapa-İSTANBUL

### ÖZET

Bu çalışmada, iki aylık bir sürede İstanbul Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı'nda ayaktan takip edilen çocuk hastaların idrar örneklerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) oluşturan *Escherichia coli* (n=11) ve *Klebsiella* spp. (n=4) suşları incelenmiştir. Tüm suşlar karbapenemlere duyarlı bulunmuş ve "E-test ESBL" ile GSBL fenotipi gösterilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sonuçlarına göre, *E.coli* suşlarının dokuzunun (% 82) TEM-tipi, ikisinin (% 18) CTX-M-tipi beta-laktamaz ürettiği bulunmuştur. *K.pneumoniae* suşlarının (n=2) hem TEM, hem de SHV-tipi beta-laktamaz ürettiği, *K.oxytoca* suşlarından (n=2) ise sadece birinin TEM tipi beta-laktamaz ürettiği saptanmış, ikinci *K.oxytoca* suşunun TEM, SHV, CTX-M'den başka bir beta-laktamaz taşıdığı anlaşılmıştır. ERIC-2 primeri kullanılarak yapılan RAPD-PCR ile suşların, büyüklükleri 170-1500 bp arasında değişen çeşitli bantlar içerdiği bulunmuştur. RAPD-PCR deneylerine göre iki *K.pneumoniae* ve iki *K.oxytoca* suşunun birbiriyle aynı profile sahip olduğu bulunmuştur. Konjugasyon deneylerinde 15 suşun 10'u (% 67) dirençlerini alıcı *E.coli* suşuna aktarmıştır. Plazmid profil analizi, tüm suşların birden fazla plazmide sahip olduğunu göstermiştir. Suşlardaki plazmidlerin 48 kb'dan büyük olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, kısa bir sürede poliklinik hastalarından çok sayıda GSBL pozitif suşun izole edilmesi, RAPD-PCR ve plazmid analizi sonuçlarına göre suşların büyük bir kısmının taşıdığı enzimler bakımından benzerlik göstermesi, izole edilen suşların ilişkili olduklarını düşündürmekle birlikte, suşların izole edildiği hastalar arasında bir ilişkiye rastlanmamıştır. Ancak hastalarda mesane disfonksiyonu tanısının çokluğu, mesane disfonksiyonunun GSBL oluşturan bakterilerle kolonizasyon için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar sözcükler:** *Escherichia coli*, GSBL, *Klebsiella* spp., PCR, plazmid

### SUMMARY

#### Extended-spectrum Beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Strains Isolated from Urine Samples of Pediatric Outpatients in a Two-months Period

In this study extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (n=11) and *Klebsiella* (n=4) strains isolated from urine samples of child outpatients in a two-months period in Istanbul Medical Faculty Pediatric Nephrology Department were examined. All strains showed extended-spectrum beta-lactamase phenotype with E-test ESBL and were susceptible to carbapenems. According to polymerase chain reaction (PCR) results, nine of the *E.coli* strains (82 %) were found to produce TEM-type, two strains (18 %) CTX-M-type beta-lactamases. *K.pneumoniae* strains (n=2) were found to produce both TEM-type and SHV-type beta-lactamases. Only one of the *K.oxytoca* strains (n=2) was found to produce TEM-type beta-lactamase. It was thought that the second *K.oxytoca* strain had beta-lactamase other than TEM, SHV; CTX-M beta-lactamases. The profiles generated with RAPD-PCR using ERIC-2 primer contained several bands, ranging in size from 170 to 1500 bp. According to RAPD-PCR assays, it was found that two *K.pneumoniae* and two *K.oxytoca* strains had same profile. In conjugation experiments, 10 of 15 strains (67 %) transferred their resistance to recipient *E.coli* strain. Plasmid profile analysis showed that all strains had more than one plasmid. It was found that the sizes of plasmids were bigger than 48 kb. Although the isolation of many ESBL producing strains in a short period and the similarity of the strains' enzymes according to the RAPD-PCR and plasmid analysis results suggested that there may be a relationship between the strains, a definite relation between the patients was not found. However the clinical diagnosis of many of the patients was dysfunction of bladder. So the dysfunction of bladder could be thought as a risk factor for colonization with ESBL-producing bacteria.

**Keywords:** ESBL, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., PCR, plasmid

**Yazışma adresi:** Lütfiye Öksüz, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa-İSTANBUL  
Tel: (0212) 414 20 00/31973  
e-posta: loksuz34@yahoo.com

Alındığı tarih: 17.10.2007, revizyon kabulü: 14.01.2008

\*21. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No:39 (04-08 Haziran 2006, Antalya)

## GİRİŞ

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), son 15-20 yılda büyük önem kazanmıştır. Yeni oksimino beta-laktamların (seftazidim, sefotaksim, seftriakson) kullanıma girmesi, yeni beta-laktamazların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu beta-laktamazlar hastane suşları arasında yayılarak tedaviye dirençli hastane infeksiyonlarına neden olmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların ortaya çıkmasında ve yayılmasında, hastanelerde geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanımı etkili olmuştur<sup>(5)</sup>. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamaz genlerinde meydana gelen nokta mutasyonları sonucunda, enzimin aktif bölgesinde bulunan bir ilâ yedi aminoasitin değişikliğe uğraması sonucu ortaya çıkmıştır<sup>(4,10,11)</sup>. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, penisilin ve sefalosporinlere olduğu gibi, oksimino beta-laktamlara da direnç oluşturan plazmid aracılı enzimlerdir<sup>(3,13)</sup>. Bush sınıflamasında 2be grubunda yer alırlar<sup>(6)</sup>. Tüm dünyada yaygın olarak bulunan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, penisilinlerin çoğunu ve sefamisinler hariç tüm sefalosporinleri hidrolize edebildiği halde beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Plazmidler tarafından kodlanırlar<sup>(17)</sup>.

Bu çalışmada, 3.10.2005-5.12.2005 arasındaki iki aylık sürede İstanbul Tıp Fakültesi, Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı'nda ayaktan takip edilen çocuk hastaların idrar örneklerinden çok sayıda GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarının izole edilmesi nedeniyle bu suşların ortak olarak taşıdıkları GSBL genlerine bakılmış ve küçük çapta bir salgın olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır, suşların disk difüzyon ve E-test ESBL yöntemleriyle GSBL oluşturduğu doğrulanmış, PCR yöntemiyle beta-laktamaz genleri saptanmış, RAPD-PCR ile suşlar arasında benzerlik olup olmadığına bakılmış ve plazmid analizi ile suşların taşıdıkları plazmidlerin büyüklük ve sayıları karşılaştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Suşlar, klasik mikrobiyolojik yöntemlerle

identifiye edilmiş, API ID 32GN (Bio-Merieux, Fransa) identifikasyon kiti kullanılarak sonuçlar doğrulanmıştır. İdentifiye edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık deneyleri, disk difüzyon yöntemiyle CLSI önerileri doğrultusunda yapılmıştır<sup>(7)</sup>.

Çift disk sinerji deneyi için suşlar, standart disk difüzyon yöntemi kurallarına uyularak Mueller Hinton agar besiyerine yayılmış ve merkeze amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg) ve çevresine merkezler arası uzaklıkları 20 mm olacak şekilde seftazidim (30 µg) ve sefotaksim (30 µg) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 16-18 saat inkübasyondan sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Amoksisilin-klavulanik asit diski çevresindeki seftazidim ve sefotaksim disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonunun, amoksisilin-klavulanik asit diskiye doğru en az 5 mm genişlemesi GSBL varlığı olarak kabul edilmiştir<sup>(7)</sup>.

"E-test ESBL" testi için, bir ucunda seftazidim, diğer ucunda seftazidim-klavulanik asit içeren stripler (AB Biodisk, Solna, İsveç) standart disk difüzyon testinde olduğu şekilde Mueller Hinton agar besiyerine yerleştirilmiştir. 35°C'de 16-18 saat inkübasyondan sonra seftazidim MİK'unun, seftazidim-klavulanik asit MİK'una oranı  $\geq 8$  (3 dilüsyon ve daha yukarı) ise GSBL oluşturduğu kabul edilmiştir.

GSBL oluşturan suşlarda en sık rastlanan beta-laktamazlar olan *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub> genlerinin varlığını araştırmak amacıyla suşlardan fenol kloroform izoamil alkol yöntemiyle<sup>(2)</sup> DNA ekstrakte edilmiş, elde edilen bakteri DNA'sına (5 µl), PCR karışımı (45 µl) ilave edilerek PCR cihazına (Perkin Elmer Cetus, DNA Thermal Cycler 480) yüklenmiştir. Cihaz kullanılan primere göre programlanmıştır (Tablo 1). Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler ve reaksiyon şartları aşağıda belirtilmiştir:

**TEM-F:** 5'-GAA GAC GAA AGG GCC TCG TG-3'  
**TEM-R:** 5'-GGT CTG ACA GTT ACC AAT GC-3' (1)

**SHV-F:** 5'-CGC CGG GTT ATT CTT ATT TGT CGC-3'  
**SHV-R:** 5'-TCT TTC CGA TGC CGC CGC CAG TCA-3' (19)

**CTX-MA:** 5'-CGC TTT GCG ATG TGC AG-3'  
**CTX-MB:** 5'-ACC GCG ATA TCG TTG GT-3' (1)

**ERIC-2:** AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC (8)

**Tablo 1:** Beta-laktamaz genleri ve RAPD-PCR için PCR uygulama şartları.

	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>	RAPD-PCR
Reaksiyon koşulları	94°C 30 sn 52°C 1 dak 72°C 1.5 dak 72°C 10 dak	94°C 45 sn 65°C 1 dak 72°C 3 dak 72°C 10 dak	94°C 1 dak 54°C 1 dak 72°C 2 dak 72°C 10 dak	94°C 1 dak 94°C 1 dak 40°C 1 dak 72°C 2 dak 72°C 10 dak
Siklus sayısı	30	30	30	40
10x PCR buffer	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
25 mM MgCl <sub>2</sub>	5 µl	2.5 µl	2.5 µl	5 µl
10 mM dNTP	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl
Her bir primer	0.5 µl	1 µl	1 µl	1 µl
Taq polimeraz	0.5 µl	1 µl	1 µl	1 µl
Distile su	32.5 µl	33.5 µl	33.5 µl	32 µl
DNA ekstraktı	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
Toplam hacim	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl

Elde edilen ürün % 2 agaroz jelde 1xTAE tamponu içinde yükleme tamponu ile dilüe edilerek güç kaynağı yardımıyla (LKB Bromma 2197 Power Supply) 100 V'da 1 saat yürütülmüştür. Transilüminatörle bantlar gözlemlendikten sonra fotoğrafları çekilmiştir.

Suşların, sefotaksime direnç özelliklerini alıcı *E.coli* K12 J62-2 (Rif<sup>R</sup>, Laktoz-)’ye aktarımını aktarmadıkları, sıvı faz konjugasyon<sup>(16)</sup> deneyleri ile incelenmiştir. Konjugasyon ile elde edilen transkonjugatlardan Kado-Liu yöntemiyle<sup>(14,15)</sup> plazmid ekstrakte edilmiş ve % 0.8 agaroz jelde 100 V'da 3-4 saat yürütülerek plazmid sayıları ve büyüklükleri karşılaştırılmıştır. Kontrol suş olarak *E.coli* V517 kullanılmıştır.

## BULGULAR

İki aylık süre boyunca Pediatrik Nefroloji biriminde takip edilen hastalardan çoğunun tekrarlayan idrar yolu infeksiyonu şikayeti ile başvurduğu, birçoğunun tanısının mesane disfonksiyonu olduğu, bazılarının profilaktik olarak antibiyotik kullandığı, bazılarının da idrar kültürü öncesinde bazı tıbbi işlemlere (voiding vb) tabi tutulduğu belirlenmiştir. Bu hastalardan izole edilen GSBL oluşturan 15 suşun 11'inin *E.coli*, ikisinin *K.pneumoniae* ve ikisinin *K.oxytoca* olduğu saptanmıştır. Disk difüzyonla antibiyotik duyarlılık deneyi sonuçlarına göre imipenem ve meropeneme dirençli suşa rastlanmamıştır. Suşların tümü, seftriakson, sefotaksim, aztreonam ve tikarsilin-klavulanik aside

dirençli bulunmuştur. Antibiyotiklere dirençli suş sayıları tablo 2’de belirtilmiştir.

E-test ESBL ile 13 suş için sefotaksim MİK’ları >32 µg/ml, iki suş için ise 2 µg/ml olarak bulunmuştur. Suşların sekizi için seftazidimin MİK’ları >32 µg/ml, birer suş için 24 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml ve kalan dört suş için ise ≤ 2 µg/ml olarak bulunmuştur. Tüm suşlar E-test ile GSBL fenotipi göstermiştir.

PCR deneylerine göre *E.coli* suşlarının dokuzunda (% 82) *bla*<sub>TEM</sub>, ikisinde (% 18) *bla*<sub>CTX-M</sub> geni bulunmuştur. *K.pneumoniae* suşlarının (n=2) hem TEM, hem de SHV-tipi beta-laktamaz ürettiği, *K.oxytoca* suşlarından (n=2) ise sadece birinin TEM-tipi beta-laktamaz ürettiği saptanmış, diğer suşun (no 342) TEM, SHV, CTX-M’den başka bir beta-laktamaz taşıdığı düşünülmüştür. RAPD-PCR deneyine göre suşların 170-1500 bp arasında çeşitli bantlar gösterdiği bulunmuştur. İki *K.pneumoniae* suşunun ve iki *K.oxytoca* suşunun birbirine benzer profil gösterdiği saptanmıştır. Ancak *K.oxytoca* suşla-

**Tablo 2:** GSBL oluşturan 15 suşda disk difüzyonla antibiyotiklere direnç (n).

Antibiyotik	Direnç	Antibiyotik	Direnç
Ampisilin-sulbaktam	13	Meropenem	0
Amoksisilin-klavulanik asit	14	Aztreonam	15
Tikarsilin-klavulanik asit	15	Gentamisin	5
Piperasilin-tazobaktam	11	Tobramisin	8
Sefotaksim	15	Netilmisin	2
Seftazidim	12	Amikasin	2
Seftriakson	15	Kotrimoksazol	11
Sefepim	9	Siprofloksasin	7
İmipenem	0	Ofloksasin	7

rından yalnız biri TEM-tipi beta-laktamaz taşımaktadır. Beta-laktamaz tipi belirlenemeyen suşun antibiyotik duyarlılık deneyi farklıdır, konjugasyon deneyinde direnç aktarılamamıştır. Bu farklılıklar suşların RAPD-PCR açısından benzer olduğu gerçeğini değiştirmemektedir. *E.coli* suşları arasında ise RAPD-PCR deneyi sonuçlarına göre, 313 ve 316 nolu suşların, 318-321-327 nolu suşların, 328 ve 331 nolu suşların birbirine benzer profili gösterdiği belirlenmiştir. Bunlardan 313, 316, 321 ve 328 nolu suşların direnç aktarımının olması, beta-laktamaz genlerinin plazmidlerce taşındığının göstergesi olarak yorumlanmıştır. Çalışılan suşlara ait sonuçlar ve hasta bilgileri tablo 3'te gösterilmiştir.

Konjugasyon deneyleri sonucunda 15 suştan 10'unun (% 67) direnç özelliklerini alıcı suşa aktardıkları bulunmuştur. Direnç profilini aktarabilen bu 10 suşun yedisinin *E.coli*, ikisinin *K.pneumoniae* ve birinin *K.oxytoca* olduğu saptanmıştır. Transkonjugatlar, identifikasyon, laktoz fermentasyonu ve direnç fenotipi yönünden incelenmiş, tüm suşların laktoz negatif *E.coli* olduğu bulunmuş ve direnç profilinin verici suşlara benzer olduğu saptanmıştır.

Konjugasyonla elde edilen transkonjugatlara yapılan plazmid profil analizi deneyleri sonucunda bu suşların birden fazla plazmid taşıdığı bulunmuştur. On transkonjugatın birinde dört, yedisinde üç, ikisinde iki plazmid saptan-

mıştır. Dört plazmid taşıyan suş *K.pneumoniae*, üç plazmid taşıyan suşların altısı *E.coli*, biri *K.pneumoniae*, iki plazmid taşıyan iki suşun biri *K.oxytoca*, biri *E.coli* idi. Plazmid analizine göre üç suş (319, 333 ve 341) birbirinin tamamen aynı profili göstermiştir. Suşların taşıdıkları plazmidlerin büyüklükleri (kullanılan markırın 48 kb'a kadar olması nedeniyle) 48 kb'dan büyük (tahmini olarak 100 kb veya daha büyük) olarak bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan bakteriler, antibiyoterapiyi etkileyen en önemli faktörler arasında yer almaktadır. Her geçen gün yeni bir beta-laktamaz ortaya çıkmakta ve bu durum tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır. İlave olarak özellikle yoğun bakım üniteleri olmak üzere hastanelerin çeşitli birimlerinde ortaya çıkan epidemiler, klinisyenlere zora sokmaktadır.

GSBL üreten mikroorganizmaların oluşturdığı enfeksiyonlar dünya çapında hızla büyüyen bir sorun olmakla birlikte, Pediatrik Nefroloji ünitesinde ayakta takip edilen hastalarda kısa bir zaman dilimi içerisinde izole edilen GSBL pozitif suşlarla ilgili bir yayına rastlanmamıştır. Ancak pediatriye yatan hastaların üriner

Tablo 3: Suşların özellikleri ve hasta bilgileri.

Suş no	Bakteri	TEM	SHV	CTX-M	Direnç aktarımı	Plazmid sayısı	Kullanılan antibiyotik	Cerrahi girişim	Tanı
313	<i>E.coli</i>	+	-	-	+	3	SXT*	-	İYE+MD
316	<i>E.coli</i>	+	-	-	+	3	-	-	İYE+MD
317	<i>K.oxytoca</i>	+	-	-	+	2	-	Voiding	İYE
318	<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	İYE+MD
319	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	4	-	-	İYE+MD
321	<i>E.coli</i>	-	-	-	+	2	SXT	Voiding	İYE+MD
327	<i>E.coli</i>	+	-	-	+	3	-	Sonda	İYE+VUR+EN
328	<i>E.coli</i>	+	-	-	+	3	CFM**	-	İYE+MD
331	<i>E.coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	İYE+EN
333	<i>E.coli</i>	+	-	-	+	3	-	-	Proteinüri
336	<i>E.coli</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
338	<i>E.coli</i>	+	-	-	-	-	SXT	-	At nalı böbrek
341	<i>E.coli</i>	+	-	+	+	3	-	-	İYE+VUR
342	<i>K.oxytoca</i>	-	-	-	-	-	SXT	-	İYE
343	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	3	-	-	-
Toplam		12	2	2	10				

\*Kotrimoksazol , \*\*Sefiksim, İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, MD: Mesane disfonksiyonu, VUR: Vesiko-üretal reflü, EN: Enurezis nokturna.

sistem infeksiyonlarından izole edilen GSBL oluşturan bakteriler ile ilgili pek çok çalışma vardır. Örneğin, Delinska-Galiknska ve ark.<sup>(9)</sup>, 1996 ve 2004 yıllarında, Pediatrik Gastroenteroloji ve Onkoloji bölümlerinde yatan çocuk hastaların üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen Gram negatif çomaklarda GSBL prevalansını incelemişlerdir. Araştırmacılar, 1996 yılında 70, 2004 yılında ise 113 suş izole etmişlerdir. 1996 yılında izole edilen bakterilerde GSBL üretimine rastlanmazken, 2004 yılında izole edilen Gram negatif çomakların % 11.5'inde GSBL üretimi saptanmıştır. En sık GSBL üreten bakterinin *K.pneumoniae* (% 25) olduğu ve bunu *K.oxytoca* (% 20) ile *E.coli*'nin (% 13.2) izlediği bildirilmiştir. Çalışmamızda ise izole edilen GSBL oluşturan 15 suşun 11'i *E.coli*, diğerleri ise *Klebsiella* cinsi olarak tanımlanmıştır.

Halina ve ark.<sup>(12)</sup>, bir çocuk hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesinden bakterilerde GSBL prevalansını incelemişler, 403 hastadan alınan 1164 klinik örnekten 585 Gram negatif çomak izole etmişler ve 229'unun (% 39) çift disk sinerji testi ile GSBL ürettiğini bildirmişlerdir. Bu bakteriler arasında en yaygın rastlananın *K.pneumoniae* (% 77) olduğunu, bunu *K.oxytoca* (% 50), *Serratia marcescens* (% 43), *E.coli* (% 30), *Enterobacter* spp (% 18) ve *P.mirabilis* (% 12)'in izlediğini belirtmişlerdir.

Tankhiwale ve ark.<sup>(18)</sup>, idrar örneklerinden izole edilen bakterilerde GSBL üretimini değerlendirdikleri çalışmada, 217 suştan 87'sinin sefotaksime dirençli Gram negatif çomak olduğunu ve bunların % 48.3'ünün GSBL ürettiğini bildirmişlerdir. GSBL üreten bakterilerin *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *Acinetobacter* spp. olduğu saptanmıştır. Çoğul ilaç direnci, GSBL üreten suşlarda, GSBL üretmeyen suşlara göre anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) yüksek bulunmuştur (sırasıyla % 90.5 ve % 68.9). Bu çalışmada da benzer şekilde *E.coli* suşları daha yüksek oranda izole edilmiştir.

Bundan başka, bir üniversite hastanesinde GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının prevalansını ve antimikrobiyal direncini araştıran bir çalışmada, GSBL oluşturan suşların yüzdesinin pediatrik ünitelerde, yetişkin ünitelerinde olduğundan daha fazla olduğu bildirilmiştir<sup>(20)</sup>.

Çalışmamızda kısa bir zaman dilimi içinde aynı birimin polikliniğine müracaat eden çocuk hastaların idrar örneklerinden izole edilen GSBL pozitif suşların aynı kaynaklı olup olmadığı kuşku yarattığından, bu suşların taşıdığı beta-laktamaz genleri, plazmid profilleri ve suş benzerlikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, RAPD-PCR ve plazmid analizi sonuçlarına göre, suşların büyük bir kısmının taşıdığı enzimler bakımından benzerlik göstermesi, izole edilen suşların benzer olduklarını düşündürmekle birlikte, suşların izole edildiği hastalar arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmamıştır. Örneğin, izole edilen suşlarla ilgili laboratuvar çalışmaları devam ederken sorumlu hemşireler ile yapılan görüşmede, hastalardan idrar örneği alımı sırasında kullanılan sondaların ve tüm solüsyonların tek kullanımlık olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda sadece yatan hastalarda değil, poliklinikte izlenen hastalarda da GSBL oluşturan bakterilerle kolonizasyonun olduğu, bu durumun kullanılan antibiyotiklerle ve uygulanan tıbbi girişimlerle ilgili olabileceği bilinmektedir. Bu çalışmada idrar örneklerinden GSBL oluşturan *E.coli* ve *Klebsiella* suşları izole edilen hastalarda mesane disfonksiyonu bulunması, bazılarının profilaktik olarak antibiyotik kullanmış olması, bazılarının da voiding işlemine tabi tutulmuş olmasının hastalarda kolonizasyon riskini arttıran faktörler olduğu düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Acıkgöz ZC, Gulay Z, Bicmen M: CTX-M-3 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in a *Shigella sonnei* clinical isolate: First report from Turkey, Scand J Infect Dis 2003;35(8):503-5.
2. Moore DD: Preparation and analysis of DNA, "Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K(eds): Current Protocols in Molecular Biology" kitabında, Appendix 2, A.2.5, Supp 35, John Wiley & Sons, Inc., New York (1996).
3. Bal Ç: Beta-laktamazlar: Güncel durum, Flora 2003;8(2):111-23.
4. Bois SKD, Marriott MS, Amyes SG: TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function, J Antimicrob Chemother 1995;35(1):7-22.

5. Bradford PA: Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat, *Clin Microbiol Rev* 2001;14(4):933-51.
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA: A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(6):1211-33.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard M7-A6 and Informational Supplement M100-S15, CLSI, Wayne, Pa (2005).
8. Davin-Regli A, Monnet D, Saux P et al: Molecular epidemiology of *Enterobacter aerogenes* acquisition: one-year prospective study in two intensive care units, *J Clin Microbiol* 1996;34(6):1474-80.
9. Delinska-Galiknska A, Kurlenda J, Kaziciska E et al: Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase strains in urinary tract infections in children in 1996 and 2004, *Prezgl Epidemiol* 2006;60(1):59-64.
10. Gülay Z: ESBL'lerin tanı yöntemleri, "Köksal İ (ed): Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar" adlı kitapçuktan, s.13-26, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2004).
11. Gür D: ESBL'lerin genel özellikleri ve ESBL tipleri, "Köksal İ (ed): Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen infeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar" adlı kitapçuktan, s.5-13, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2004).
12. Halina RK, Marck G, Danuta RZ et al: Incidence of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae in a pediatric hospital, *Pol J Microbiol* 2004;53(1):27-34.
13. Jacoby G, Han P: Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in clinical isolates of *K.pneumoniae* and *E.coli*, *J Clin Microbiol* 1996;34(4):908-11.
14. Johnson AP, Woodford N: Plasmid analysis, "Johnson AP, Woodford N (eds): *Molecular Bacteriology*" kitabında Chapter 4, p.51-62, Humana Press, New Jersey (1998).
15. Kado CI, Liu ST: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, *J Bacteriol* 1981;45(3):1365-73.
16. Markovska R, Schneider I, Keuleyan E, Bauernfeind A: Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) CTX-M-15-producing *E.coli* and *K.pneumoniae* in Sofia, Bulgaria, *Clin Microbiol Infect* 2004;10(8):752-5.
17. Struelens MJ: The problem of resistance, "Finch RG, Greenwood D, Norby SR, Whitley RJ (eds): *Antibiotic and Chemotherapy*, 8th edition" kitabında, Chapter 3, p.25-47, Churchill Livingstone, Edinburg (2003).
18. Tankhiwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassani U: Evaluation of extended-spectrum beta-lactamase in urinary isolates, *Ind J Med Res* 2004;120(6):553-6.
19. Taslı H, Bahar H: Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey, *Jpn J Infect Dis* 2005;58(3):162-7.
20. Tonkic M, Goic-Barisic I, Punda-Polic V: Prevalence and antimicrobial resistance of extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a university hospital in Split, Croatia, *Int Microbiol* 2005;8(2):119-24.