T.C.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

HASTANEMİZ DEĞİŞİK KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ'DE* ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE ÖZELLİKLE TİGESİKLİN, KOLİSTİN VE İMİPENEM DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILIP KARŞILAŞTIRILARAK ANALİZ EDİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Haci Şükrü BİCEK

DANIŞMAN

Prof.Dr. SAMİ TAŞÇI

ŞANLIURFA

2016

T.C.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

HASTANEMİZ DEĞİŞİK KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ'DE* ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE ÖZELLİKLE TİGESİKLİN, KOLİSTİN VE İMİPENEM DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILIP KARŞILAŞTIRILARAK ANALİZ EDİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Haci Şükrü BİCEK

DANIŞMAN

Prof.Dr. SAMİ TAŞÇI

ŞANLIURFA

2016

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Haci Şükrü BİCEK'ın hazırladığı ''Hastanemiz Değişik Klinik Örneklerinden İzole Edilen ***Escherichia coli*** 'de Antibiyotik Duyarlılığı ve Özelikle Tigesiklin, Kolistin ve İmipenem Duyarlılığının Araştırılıp Karşılaştırılarak Analiz Edilmesi'' konulu çalışma 24.05.2016 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sami TAŞÇI (DANIŞMAN)

Harran Üniversitesi

BAŞKAN

Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

Harran Üniversitesi

Üye

Yrd. Doç. Dr. Nebiye DONİ

Harran Üniversitesi

Üye

24/05/2016

ONAY

Prof. Dr. Nurten AKSOY

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Mesleki hayatımda ve yüksek lisans öğrenciliği öğretimim boyunca yetişmemde büyük emeklerive faydası olan bilgi ve tercübelerinde yararlandığım, manevi desteğini esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof.Dr. Sami TAŞÇI'ya

Tezimin hazırlanmasında deneyimlerini aktarıp yardımlarını esirgemeyen hocam

Prof.Dr. Mehmet BAYRAKTAR 'a

Yüksek lisans öğrenciliği eğitim süresince bilgilerinden yararlandığım Prof.Dr. Fadile YILDIZ ZEYREK'e ve Prof.Dr. Mustafa ULUKANLIGİL'e

İş hayatımda ve yüksek lisans eğitimimde geniş töleranslarıyla beni hoşgören, desteğini esirgemeyen laborant, biyolog, asistan ve hizmetli tüm arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Haci Şükrü BİCEK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR……I

ŞEKİL DİZİNİ...……V

TABLO DİZİNİ……..……VI

GRAFİK DİZİNİ……..VII

SİMGELER ve KISALTMALAR… ……...….VIII

ÖZET……..……...IX

ABSTRACT……...……..…..XI

1. GİRİŞ ……..……...1

2.GENEL BİLGİLER…….....…..2

2.1. *Escherichia coli*……...…….....2

2.1.1. Tarihçesi…….....2

2.1.2. Genel Mikrobiyolojik Özellikler……...…...2

2.1.3.Virülans ve Faktörleri…….…….....3

2.1.4. *Escherichia coli* Enfeksiyonların Klinik Önemi ……....4

2.1.5.Morfoloji ve Boyanma Özellikleri ……..….....6

2.2.1. Üreme Özelikleri ve Önemi…….……6

2.2.2. Biyokimyası ve Özelikleri…….……...7

2.2.3.Direnç …….……..…..7

2.2.4. Antijen Yapıları ve Tiplendirilmeleri ……..…….…….....8

2.2.5.Virulans ve Patojenite Faktörleri…….…….….....9

2.2.6. Epidemiyoloji……...….10

2.2.6.1.Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC) ……..….10

2.2.6.2. Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC) ……..11

2.2.6.3.Enteropatojenik *E.coli* (EPEC) ,,,,,……..…..…..…..11

2.2.6.4.Enterohemorajik *E.coli* (EHEC) ……..……..…..…..11

2.2.6.5.Enteroagregatif *E.coli* (EAggEC)……...…12

2.3.1.ANTİBİYOTİKLER…….….12

2.3.2.Beta-laktam antibiyotikler……..…13

2.3.3. Penisilinler ……....14

2.3.4. Sefalosporinler …….…….15

2.3.5. Monobaktamlar ……16

2.3.6. Karbapenemler ……..16

2.3.7. Ertapenem ……..……16

2.4.1. Kolistin ……17

2.4.2.Tigeskilin…….……17

2.4.3.İmipenem…….……18

2.5.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)**……...…….……**18

2.6.1. Bakterilerde Antibiyotik Direnci……....19

2.6.1.1. Doğal Diernç…….……...….19

2.6.1.2. Kazanılmış Direnç……...…….…….…....19

2.6.1.3. Kromozomal Direnç…….……..….19

2.6.1.4. Plazmidlere Bağlı Direnç ……..……20

2.6.1.5. Transpozonlara Bağlı Direnç...……...…….20

2.7.1. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ…….……...…20

2.71.1.Seyreltme Yöntemi.…….……..…20

2.7.1.2.Disk Difüzyon Yöntemi**…….…….....…..**21

2.7.1.3.Etest Difüzyon Yöntemi**…….……...…….**21

2.7.1.4.Enzim üretiminin saptanması Yöntemi.…….……..…...21

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....22

3.1.1.Suşların Tanımlanması ve çalışması:……..22

3.1.2. Araç Gereçler:……23

3.2.KULANILAN BESİYERLERİ …….....23

3.2.1. Kanlı Agar (HIMEDIA)……..……..23

3.2.2. Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) (OXOID)……...24

3.2.3.Mueller- Hinton II Agar (HIMEDIA)…….....25

3.2.4.Triple Sugar Iron Agar (OXOID)……..…....25

3.2.5.Simmons Citrate Agar (OXOID…….....26

3.2.6. Üre Agar Christensen (MERCK)…….....26

3.2.7.Sim Medium İndol Besiyeri (HIMEDIA**)……..…….....**26

3.3.1.Sitrat Deneyi ……..27

3.3.2.TSI Agarda Ekim ……..…27

3.3.3.İndol ile Deney…….…..28

3.4.1.Disk Difüzyon Tarama Testi (DDTT)…….…...28

4.BULGULAR……...…29

4.1.Hastaneye Başvuru Şikayet Nedeni**……..…….…...…**31

4.2. Gelen Numune Türü: ……..……..…33

Antibiyogram Sonuç Tablosu…….…….**.....**35

5.TARTIŞMA……..……...…...36

6. SONUÇ…….……...…40

7.KAYNAKLAR…….…….…...41

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Vitek2 Cihazı 22

Şekil 2. Kanlı Agar Besiyeri ve Üreyen E.coli 24

Şekil 3.EMB Agar Besyeri ve Üreyen *E.coli* 24

Şekil 4. Muller Hinton Agar Besiyeri ve *E.coli* Antibiyogram 25

Şekil 5. Triple Sugar Iron Agar Besiyeri 25

Şekil 6. Simmons Citrate Agar Besiyeri 26

Şekil 7.Üre Agar Besiyeri 26

Şekil 8. Sim Medium İndol Besiyeri 27

Şekil 9.*E.coli*'de İndol deneyi 28

Şekil 10. Disk Difüzyon ile Antibiyogram 28

TABLO DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Antibiyotiklerin Ana Sınıfları ve İsimleri 13

Tablo 2.Sefalosporinlerin Sınıflandırılması 15

Tablo 3. *E.coli* İzolatının Gönderildiği Birimler Göre Dağılımı 29

Tablo 4. Erkek ve Kadın Sayı Oran Tablosu 30

Tablo 5. Hastaların Hastaneye Başvuru Şikayeti % 32

Tablo 6. Antibiyogram Sonuç Tablosu 34

GRAFİK DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 1. Enterobacteriaceae Ailesinin Enfeksiyonu 5

Grafik 2. Numınelerin Klinik Dağılımı 30

Grafik 3. Kadın ve ErkekSayı Oran Çizelgesi 31

Grafik 4. Hastaların Hastaneye Başvuru Şikayeti 32

Grafik 5. Gelen Numune Türü 33

SİMGELER ve KISALTMALAR

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar

EaggEC: Enteroagregatif *Escherichiacoli*

EHEC: Enterohemorajik*Escherichiacoli*

EIEC: Enteroinvaziv*Escherichia*coli

EPEC: Enteropatojenik*Escherichia coli*

ETEC: Enterotoksijenik *Escherichiacoli*

MR: Mannose Resistant

MS: Mannose Sensitive

İYE: İdrar yolu İnfeksiyonları

EMB Agar: Eosin Methylene Blue Agar

MHB: Mueller Hinton Broth

PBP: Penisilin bağlayan protein

TSI: Triple Sugar Iron Agar

İMP: İmipenem

CL: Kolitsin

TİG: Tigeskilin

GEN: Gentamisin

CİP: Siprofloksasin

STX: Trimetroprim/sülfametaksazol

ÖZET

HASTANEMİZ DEĞİŞİK KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ* 'DE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE ÖZELLİKLE TİGESİKLİN, KOLİSTİN VE İMİPENEM DUYARLIĞININ ARAŞTIRILIP KARŞILAŞTIRILARAK ANALİZ EDİLMESİ

Haci Şükrü BİCEK

Tıbbı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Escherichia coli çağımızda hastane ve toplumsal kaynaklı infeksiyonların en önemli nedenleri arasında yerini korumaktadır. Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında en çok karşılaşılan ve hemen her organ ve dokuda enfeksiyon oluşturabilen patojen *E.coli*'lerin enfeksiyonları mukozalı yüzeylerde sınırlı kalabildikleri gibi tüm vücuda da yayılabilir. Bu nedenlebu çalışmada bakteriyemi infeksiyonlarının önemli etkenlerinden biri olan, *Escherichia coli'de* imipenem, tigeskilin ve kolistin'in konsantrasyonlarına karşı in vitro direnç gelişimi arastırılmıştır.

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik mikrobiyoloji laboratuarına 01.07.2015 ile 31.12.2015 tarihleriarasında gelen değişik suşlardaki örnekler kullanılmıştır. İncelenen *100 E.coli* örneğinin 71'i kadın, 29'u erkek bireyden oluşmaktadır. *E.coli* hastaların çoğunluğunu, üriner sistemle alakalı şikayetlerle, hastaneye başvurmuştur. Şikayet nedenine göre en az sırada kronik hepatit hastaları yer almıştır.

Çalışmalarımızda Vitek2(bioMerieux, Fransa) tam otomatik bakteri tanımlama cihazıyla yapılmıştır. Çalışmadaki numuneler disk difüzyon yöntemiyle ikinci kez çalışılmış aynı sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamız sonundaki verilerin genel toplamı; Kolistinn'e % 97'si duyarlı % 3'ü dirençli bulunmuş, İmipenem'e % 92'si duyarlı % 5'i orta duyarlı % 3'ü dirençli bulunmuş, Tigeskilin % 100'ü duyarlı bulunmuştur.(%16) Gentamisin, (%39) siprofloksasin, (%56) Trimetroprim/sülfametaksazol (STX) dirençli bulunmuştur. Tüm *E.coli* izolatlarında GSBL oranlarındaki veriler sırasıyla, genel toplamda % 44'dün GSBL pozitif % 56'nın GSBL'si negatif bulunmuştur. GSBL pozitif oranlarımız çok yüksek çıkmıştır. Oranımızdaki GSBL'dek artşı hastane ve bölgesel farklılıkğa bağlanabilir.

İmipenem pozitif olan üç hastada da GSBL negatif bulunmuştur, buda bize AmpC (C gurubu beta laktamaz) direncini göstermektedir.

Ülkemizde yapılan tüm çalışmaların sonuçlarını bölgemiz ve kendi çalışmamızın sonuçlarıyla kıyaslarsak ülkemizdeki direnç oranlarının yurt dışına oranla daha fazladır. Antibiyotiklerin gereksiz ve yaygın kullanımının ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin tedavide ilk ve tek seçenek olarak kullanılmasının, bu durumun nedeni olabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler*:* *Escherichia coli*, antibiyogram, imipenem, tigeskilin, kolitsin

ABSTRACT

IN OUR HOSPITAL ISOLATION OF *ESCHERİCHİA COLI* FROM VARIOUS CLINICAL SAMPLES AND STUDY OF ITS ANTIMICROBIAL PROFILE ESPECIALLY TO TIGECYCLINE, COLISTIN AND IMIPENEM

Haci Şükrü BİCEK

Department of Medical Microbiology, Master Thesis

Escherichia coli is one of the important causes of bacterial infection in both hospital and community acquired infections. It has been the most frequently isolate pathogen in clinical microbiological laboratories. In this study, antimicrobial susceptibility wereinvestigated especially to imipenem, tigecycline and colistin

The study was performed at Teaching and Research Hospital of Harran University during the period 31.12.2015 to 07.01.2016. One hundred strains were studied. Of these, 71 were from males and 29 from female patients.Urine constituted the most frequent sample. According to clinicl complaints, chronic hepatitis was the least one. The study was permorfed using conventional Disk diffusion and fully automated Vitek 2 methods.

The overall sensitivity was found to be 97% colistin, 92% imipenem and 100% tigcycline. The susceptibility rates to other antimicrobials were as fellows: (16%) gentamicin (39%) ciprofloxacin, (56%) trimethroprim/sulfamethoxazole. The number of isolates uniformly susceptible to all was 16. The number of strains resistant to three or more was 64. They were multiple drug resistant strains. Two strains were extensive resistant ones. They may be AmpC β-lactamase-producing isolates. The rate of ESBL positive *E.coli* was 44%. The variation in these rates may be linked to hospital and regional factors. Unnecessary and widespread use of antibiotics in our region may be the cause for increasing resistance in our isolates. We believe that this situation may force physicians to use new advanced-generation antibiotics.

Keywords: *Escherichia coli*, antibiotic sensitivity, imipenem, tigecycline, colistin.

1. GİRİŞ

Tarih boyunca değişik infeksiyon ajanlarının salgınlara yol açtığı ve bu ajanların bugün de yeni epidemiyolojik tiplerle ve ilaçlara dirençli mikroorganizmalar olarak karşımıza çıktığı görülmektedir. İnfeksiyon ajanlarının saptanması ve tanımlanmasında mikroskopi ve kültür gibi klasik tanı yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler önemini korumakla birlikte birçok infeksiyon etkeninin tanımlanmasında yetersiz kalmaktadır. Günümüzde, moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak mikrobiyolojide de moleküler tanı yöntemlerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (1).

Antibiyotiklerin tedavide insan hayatına girmesinden kısa bir müdet sonra bakterilerde direnç geliştirmeye başlamışlardır. Yenilenip geliştirilen her yeni antibiyotikle beraber bakteriler de direnç mekanizmalarını yenilemişlerdir. Bundan dolay bilinmelidir ki antibiyotiklerle bilinçsizce tedavi dirençli bakterilerin hızla yayyılmasına yol açan başlıca faktörlerdendir (2). Bakterilerdeki plazmid kaynaklı antibiyotik direnç kromozomal dirençten çok daha sık ve önemli olduğu tesbit edilmiştir. Plazmid ve transpozonlardaki genler kromozomlardaki genlere oranla daha fazla hareketledir. Bu yapılarından dolayı bu genler tür içi, türler arası ve cinsler arasına taşınabilmektedir(3).

Escherichia coli, doğada yaygın olarak var olan, genellikle sıcakkanlı hayvanlar olarak nitelendirilen memelilerin ve kuşların bağırsak florasında doğal olarak bulunan bir bakteridir. Bu bakteri, bağırsaktaki birçok fonksiyonuna yanında, özellikle B ve K vitamini sentezlemektedir. Dışkıda bulunmasından dolayı, içme ve kullanma suyunda *E. Coli* tespiti kaynağın dışkı ile kirlendiğinin bir göstergesidir. 1982 yılından sonra yapılan çalışmalarda *E.coli*'nin patojenik/toksijenik suşları tesbit edilip, oral/fekalyolla alındığında zehirlenmelere, böbrek ve beyinde hasar yol açtığı, hatta ölüme neden olabileceği tesbit edilmiştir (4).

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştıma ve Uygulama Hastanesinin Mikrobiyoloji laboratuarında, hastanemizin klinik ve servislerinde farklı yerlerden alınan numuneler izole edilmiştir.

İzole edilen suşlarda saptanan infeksiyon etkeni *Escherichia coli*bakterilerinin imipenem, tigeskilin özelikle kolistin'de direnç ve duyarlılık varlığı yönünden araştırılmıştır. Amacımız bu direnç ve duyarlılık sıklığı mekanizmaları konusunda bilgi edinip, mücadele ve tedavi seçenekleri konusunda yeni öneriler oluşturabilimektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1.Tarihçesi

Escherichia coli, ilk defa 1855 yılında Alman pediatrist Theodor Escherich isminde bir araştırmacı tarafından ishalli infantların dışkısından izole edilmiş *ve Bacterium coli* commune olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraları 1919'da Castellani ve Chamer tarafından izole eden kişinin adı verilerek *Escherichia coli* olarak isimlendirilmiş (5). 1945 yılında bir çocuk bakımevindeki ishal salgınından barsak patojeni olan enteropatojenik *E. coli* (EPEC) suşu bulunmuş **(**6). 1969 yılında Orta Doğu'daki İngiliz askerlerinin ishal örneklerinde enterotoksijenik *E.coli* (ETEC) suşları ve aynı yıllarda enteroinvaziv *E.coli* (EIEC) suşları bulunmuştur. Shiga toksin oluşturan enterohemarojik *E.coli* (EHEC) suşları ilk kez 1977 yılında Konowalchuk ve ark tarafından farklı bir patojenik tür olarak göstrrilmiştirn (7). Enteroagregativ *E.coli* (EAggEC)'nin ilk kez 1987'de ishale sebep olduğu anlaşılmış ve doku kültüründe kümeler oluşturmaları ile tanımlanmışlardır (8).

2.1.2. Genel Mikrobiyolojik Özellikler

Escherichia coli, Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan, *Escherichia* cinsi içinde en önemli tür ve insan için önemi olan bir fırsatçı patojendir(9). İnsan ve hayvanların barsaklarında yaygın olarak bulunan ve barsaktaki en baskın fakültatif anaerobbir türdür **(**10).

Escherichia coli, ortalama 3-6 µm boylarında, 1-1,5 µm enlerinde Gram negatif bir basil peritriş kirpiklerinden dolayı hareketlidir. Hareketsiz suşları da vardır. Bazı suşlarında kapsül veya mikrokapsül olmaktadır. Spor oluşturmazlar ve fakültatif anaeropturlar (8).

Üremeleri için zengin besiyerlerine ihtiyaç duymazlar. Aerobik şartlarda 37°C'de genel kullanım besiyerlerinde 16-24 saatte, türe özgü genellikle 2,5-3,5 mm çapında parlak, gri beyaz renkte S tipi koloniler oluşturarak ürer. Kanlı agarda hafif nemli görünümlü 2,5-3,5 mm çapında gri koloniler oluştururlar. Bazı tiplerikanlı agarda beta hemolitiktirler.

Kapsüllü suşlar ise mukoid koloniler oluşturabilirler. *E. coli* MacConkey agarda laktozu fermente ettiğinden pembe-kırmızı renkte koloni, eozin metilen blue (EMB) agarda da laktoz pozitif mavi-siyah yeşilimsi parlaklık oluşturan koloniler oluştururlar (11).

Escherichia coli glikozdan asit ve gaz yapar. Laktoz ve sakkarozu fermente eder. H2S, üreaz oluşturmaz. İndol oluşturur. Metil kırmızısı, lizin dekarboksilaz reaksiyonları pozitiftir. Voges-Proskauer, fenilalanin deaminaz ve DNaz aktiviteleri negatiftir. Tek karbon kaynağı olarak sitratta üreme yapmaz. Ayrıca oksidaz negatif olup katalaz pozitiftir. *Escherichia coli*'nin ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapıda O, protein yapıda H (kirpik) ve polisakkarit yapısında K (kapsül) antijenleri bulunmaktadır. Serotiplendirmede genellikle O ve H antijenleri kullanılır. *E. coli'nin* meydana getirdiği çeşitli hastalık tabloları ile özel antijen tipleri arasında ilişkileri vardırlar (11,12).

2.1.3. Virülans ve Faktörleri

Escherichia coli, farklı dokuları enfekte edebilmek için yapısal faktörler veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi pek çok virülans faktörü taşımaktadır.

Değişik dokulara tutunma için *E. coli'nin* çeşitli adezyon molekülleri vardır. Tip II (mannoz resistant) fimbrialardan olan kolonizasyon faktör antijenleri, P fimbria ve X faktör üropatojen E.coli kökenlerinde ki önemli virülans faktörlerindendirler(13).Sistite sebep olan çoğu *E.coli* suşları Tip I (mannoz sensitif) fimbriaya sahiptirler. Kolonizasyon faktör antijenleri (CFA I ve CFA II) ve Tip I (Mannoz sensitif) fimbrialar ile *E. coli* gastrointestinal sistem hücrelerine yapışarak, intestinal sistem hareketi esnasında emlimine edilmekten kurtulurlar(14). S fimbria ise sepsis ve menenjitli yeni doğanlardaki *E.coli* suşları ile ilişkilidir. N-asetil nöraminik asit polimerinden olan K1 kapsülü yeni doğan menenjiti, bakteriyemiler ve üriner infeksiyonlarda rol oynarlar O somatik antijenleri de *E. coli'nin* çeşitli dokulardaki reseptörlere bağlanmasına da katkıları sağlayabilirler **(**13).
Gastroenterit etkeni olan kökenlerde Shiga toksinleri (Stx-1, Stx-2), ısıya da duyarlı (LT-1 ve LT-2) veya ısıya da dirençli (Sta, Stb) enterotoksinler gibi virülans faktörler bulunmaktadır
Endotoksin, hücre duvarının lipopolisakkaritinin lipid A kısmıdırlar ve toksik aktiviteyede sahiptirler. Bakteriyemili hastalarda ölümlere de yol açmaktadır (13).

Escherichia coli suşların salgıladığı penetrasyonu da sağlayan faktörleri, hemolizinler, demir bağlamakta rol oynayan enterobaktini ve aerobaktini tip sideroforlar virülansta etkilidirler. Hemolizin aktivasyonu ile eritrositlerden bol miktarda hemoglobin açığa çıktığı için bakteriyemi yapan *E. coli* suşlarında sideroforlara ihtiyaç yoktur. Sitotoksik nekrotizan faktör (CNF 1, CNF 2) denen toksinler virülansta etkilidir (15).

2.1.4. Escherichia coli Enfeksiyonların Klinik Önemi

Escherichia*coli* günümüz hastane ve toplum etkenlienfeksiyonlarının en önemli etkenleri arasında yerini almaktadır. Mikrobiyoloji laboratuvarında en fazla izole edilen ve hemen tüm doku ve organda hastalık yapabilen patojen *E.coli'lerin*enfeksiyonlarının mukozal yüzeylerde sınırlı kalabildikleri gibi tüm vücuda dahi yayılabilirler. İmmun sistem bozuklukları, sindirim sistemi savunma mekanizmasındaki bozukluklar gibi halerde nonpatojen *E. coli'ler* de enfeksiyon etkeni olabilir (16).

Enteropatojenik suşlarla meydana gelen ishaller, üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu enfeksiyonları (İYE), neonatal menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonları, yara yeri ve akciğer enfeksiyonları *E. coli'lerin* meydana getirdiği başlıca hastalıklardır **(**13,16).

Ekstraintestinal sistem enfeksiyonları içinde *E.coli'lerin* en sık rastlandığı enfeksiyon İYE'dir (38). Toplum kökenli İYE'nin %65-82'inden, hastane kaynaklı İYE'nin ise % 50'sinden *E. coli* sorumludur (49-50). Üropatojenik suşlar virülans faktörleri ile önce üriner sistem mukoza hücrelerine yapışarak kolonize olmaktadır, daha sonra invazyon göstererek asemptomatik bakteriüri, akut semptomatik İYE, tekrarlayan İYE gibi hastalık tabloları oluşturmaktadırlar (8). Toplum kökenli İYE genellikle infeksiyon şeklinde başlar ve önce üretrit sonra sistit gelişetirebilirler. İnfeksiyonun yukarıya ilerlemesiyle böbrekte pyelonefrit ve ciddi doku hasarı yapabilirler. Ayrıca pyelonefrit ve sonrası ürosepsis riski yüksektir (17) .

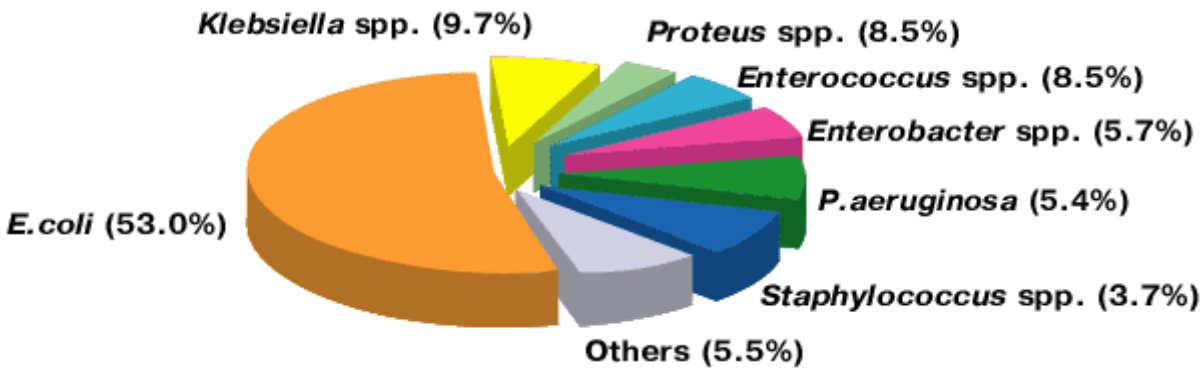
Hastane kaynaklı infeksiyonların çoğunlukla kateterizasyon ve üriner sisteme yapılan diğer girişimlerden sonra gelişir ve ürosepsise nedeni olabilirler. Ürosepsiste mortalite riski yüksektir (18**).**

Sepsis, komplikasyonlar ve sonrası ölümlere neden olabilen sistemik bir enfeksiyondur. Sepsiste Gram pozitifin kaynağı stafilokok türleri ve Gram negatif kaynağındaise başta *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* en çok rastlanabilen bakterilerdendir (19**).**

Yapılan bir araştırmada Gram negatif bakterilerin septisemilerinde etken olarak en fazla *E.coli* (%13-18,7), takiben *Pseudomonas aeruginosa* (%8-11,5) *ve K. pneumoniae* (%6-8,5) tespit edilmiştir. *E.coli*, Laupland'ın derlemesinde halen toplum tabanlı çalışmalarda da sepsisin en sık nedeni olmaktadır (20).

Escherichia coli septisemisi tüm yaşlar da problemdir. Üriner sistem başta olmak üzere sindirim sistemi perforasyonu, apandisit, cerrahi girişimler sonrası ve diğer fırsatçı

patojenlerde olduğu gibi ilk enfeksiyon bölgesinden kana karışarak bakteriyemi oluşturabilirler (8).



Grafik 1. Enterobacteriaceae ailesinin enfeksiyon oluşturma sıklıkları

Hastanelerde sıklıkla hastane kaynaklı patojen olarak bulunan *E.coli* hastane kaynaklı pnömoniye neden olan başlıca mikroorganizmalar arasında bildirilmektedirler(13). Fakat kronik akciğer şikayeti olanlar, yaşlılar, diyabetikler gibi vücut direnci düşük *E.coli, Klebsiella spp, Enterobacter spp, Proteus spp, Serratia Citrobacter spp*. Diğer yolar da ağız sekresyonlarının aspirasyonuyla da görülebilir. Sıklıkla alt lobları tutan bronkopnömoni şeklinde görülürler. Hastalarda ampiyem ve bakteriyemi şeklinde de gelişebilir (8).

Escherichia coli özellikle hastane ortamında cerrahi yara infeksiyonları, çeşitli organlarda apse, septik artrit, osteomyelit, endokardit, tromboflebit, prostatit, endoftalmit, sinüzite kadar pek çok klinik tabloya yol açabilir (13).

Yenidoğan *E.coli* menenjiti dünyada mortalite ve morbiditenin en önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. *E.coli*, sık görülmemesine rağmen yenidoğan akut bakteriyel menenjitlerinde, Streptococcus agalactia'dan sonra en sık karşılaşılabilen etkendir. K1 antijenin önemli bir özeliği *E.coli* menenjiti oluşmasıdır. Bu antijenini özeliği, bakteriyi fagositoza karşı ve hemde serumun bakterisidal etkisine de dirençli duruma dönüştürür. Etken olan suşların %80 kadarında kapsüler K1 antijeni bulunur. Enteropatojenik *E.coli*, hafif ishaldenen ağır mayi kaybı ile seyreden kolera gibi özelikleriyle, hemorajik kolite neden olabilirler (21).

2.1.5. Morfolojisi ve Boyanma Özellikleri

E.coli, ortalama olarak 2–6 µm boyunda ortalama 1,0–1,5 µm eninde olan çomak şeklinde sporsuz, kapsülsüz bir bakteridir **(**22**).** Logaritmik üreme fazında genellikle 2–4 µm boyunda ise de eski kültürlerde ve bazen de idrarda daha uzun filamanlar şeklinde görülebilmektedir. Granül içermez ve homojen boyanırlar. M antijeni barındıran bir mikrokapsülleryada polisakkarityapısında bir K antijenleri bulunduran slime tabakaları olabilirler; bunlar mikroskopta görülmeyen ancak bu antijenlere karşı hazırlanmış bağışık serumlarla yapılan serolojik deneylerde ortaya çıkabilen yapılardırlar (23).

E.coli peritrik kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla birlikte hareketleri yavaş ve hatta hareketsiz suşlara da sık rastlanmaktadırlar.*E.coli* genenlikle fimbria oluşturmaktadır ve gerek morfolojileri, gerek antijenik özellikleri ile farklı tipleri bulunan fimbrialar protein yapısındadır . Çoğunda hemaglütinasyon yapan ve bu hemaglütinasyonun mannoz tarafından önlendiği (Mannoza duyarlı MS) Tip I fimbriaları bulunmaktadır. Az bir kısmında ise hemaglütinasyonu mannoza dirençli tipte Tip II (Mannoza dirençli MR) fimbria vardır (24).

2.2.1. Üreme Özellikleri ve Önemi

E.coli büyyon, peptonlüsu ve jeloz gibi genel besiyerinde kolayca ürerler, fakultatif koşullarda logaritmik üreme fazında bakteri 25 dakikada ikiye bölünebilir (jenerasyon süresi) Optimum pH 7–7,3 dir fakat 18 – 44,5 °C aralığında, pH 5–8 çizgisinde daha yavaş olarak ürerler (25). Özellikle 44°C' de üreyebilmesi ayını olan bir kısım bakterilerden (Enterobacter veSerratia)ayrıcı.bir-özelliğidir (22).

Sıvı besiyerlerinde genellikle homojen bulanıklık meydana getirir, fimbrialı suşlarda yüzeyde ince bir zar, eski kültürlerde ve R şeklindeki suşlarda ise dipte çöküntü oluşturabilirler. Katı besiyerinde S şeklindeki örnekler 24 saat sonra düzgün kenar, ortası kabarık, 2,5–3,5 mm çapında, pigmenti olmayan koloniler oluştururlar. R şeklindeki bakteriler ise üzeri tanecikli, kenarları düzgün olmayan koloniler oluştururlar ve bu suşlar fizyolojik tuzlu suda aglütinin olmadan da spontan aglütinasyon verirler (23).

Bir kısım *E.coli* suşları çoğalma defektlidirler ve besiyerinde de yavaş ürerler. Bu suşlar CO2' li ortamda çukulata jelozunda, jeloz veya kanlı jelozdakinden daha iyi ürerler. *E.coli* MacConkey ve Eosin-metilen mavisi (EMB) gibi zenginleştirici seçici besiyerlerinde güzel

ürer. MacConkey besiyerindelaktozu fermente olduğundan al reninde koloniler ve safrayı kulandığından etrafında zon oluunabilen koloniler oluştururken, EMB besiyerinde laktozu fermente olduğundan metalik yeşil röfle oluşan yeşilimsi/siyah koloni oluşturur. Cistein Laktoz Elektrolit Deficient (CLED) agarı ve Xylose Lysine Deoxicholate (XLD) agarı besiyerlerinde sarımtırak koloni meydana getirerek çoğalırlar. Bazı cinsleri özellikle üriner sistem enfeksiyonlarından izole edileni, kanlı jelozda hemoliz oluşturabilirler (22,23).

2.2.2. Biyokimyası ve Özellikleri

E.coli' lerin glikozdan asit ve hava yapması, laktoz, D/mannitol, D/sorbitol, L/arabinoz, L/ramnoz, maltoz, D/ksiloz, trehaloz ve D/mannozu fermente etmesive adonitol, inositol, selobioz, eritrol, D/arabinolü fermente etmemesi, nitratı nitrite çevirmesi önemli biyokimyasal özelliklerindendir (26).

E.coli'ler triptofandan indol oluştururlar. Metil kırmızısı testi olumludur, Voges proskauer testi olumsuzdur. Simmonlu sitrat besiyerinde üremezler**(**22). Bu dört karakter yani İndol (I), Metil Kırmızısı (M), Voges Proskauer (V), ve Citrat C, birlikte incelenir ve ilk harflerinin birleşmesinden oluşan IMVIC testleri adını alırlar. Özellikle barsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda *E.coli* için IMVIC testleri + + - - olarak saptanırlar (23).

E.coli bakterilerinin bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar, genellikle H2S için ayıraçlı besiyerlerini siyahlandıracak kadar H2S yapmazlarsa da, sisteinli besiyerlerinde az miktarlarda H2S yaptıkları gözlemlemiştir. Hemen hemen tümünde KCN testi olumsuzdur.

2.2.3. Direnç

E.coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C sıcaklıkta 30'dakika, oda sıcaklığında uyumlu koşularda kalmak şartı ile uzun süre canlılığını koruyabilir. Soğuğa dirençli, dezenfektanla karşılaşsa dirençsizdir. Malaşit yeşilili, Brillant yeşilili ve fuksinler gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodyum tetratiyonat, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum dezoksikolat, selenit tuzlarına karşı direnci Salmonella ve Shigella gibi bakterilere göre daha azdır. Bu sebeple bu maddelerin belirli konsantrasyonlarda besiyerlerine ilave edilmesiyle *E.coli* basillerinin inhibisyonunun sağlanması sonucu, birlikte bulundukları Salmonella ve Shigella' lar için ayırtıcı ve çoğaltıcı özellik kazandırılırlar (22).

Bakterilerin direnç geçişlerikromozomal veya plazmid araçlıdırlar. Kromozomalı direnç ya antibiyotiğin hedefinde veya antibiyotiğin yakalanmasını kontrol eden membran taşıma sistemini kodlayan genlerde mutasyon olur. Direnç plazmidler (r faktörler) kromozom çevresi, dairesel, çifte iplikli DNA moleküller olup antibiyotik bozabilen ve membranı taşima sistemini değiştirenve enzim çeşitliliğine ait genleri taşır (27).

E.coli kökenlerinin ekserinde bakteriden bakteriye kolayca geçen dirençli plazmitleri taşımalarından dolayı bugün dışkıdan izole edilen *E.coli* bakterilerinin özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerinin önemli bir kısmı ampisilin, sefalotin, streptomisin, tetrasiklinler, sulfonamid, bir kısmı da kloramfenikol, kanamisin ve trimetoprim'e ve başka kemoterapötiklere karşı direnç kazanmışlardır. *E.coli'* ler benzilpenisilinlere karşı da doğal dirençlidirler **(**22**).**

2.2.4. Antijenik Yapıları ve Tiplendirme

E.coli karışık bir antijenik yapıya sahiptirler. Kauffmann tarafından 1944 yılında antijen niteliklerine göre sınıflara ayrılmıştır. Bu sınıfa göre hücre duvarında ki lipopolisakkaritlerdeki O spesifik polisakkarit zincirine istinaden serolojik olarak serogruplara, H ve K antijenlerine istinaden de serotiplere ayrılmıştır. Şimdiye kadar 170'in üzerinde O antijeni, 50'nin üzerinde H antijenleri ve 100' ün üzerinde K antijenileri bulunmuştur. 1000'in üzerinde antijenik tipi vardır. Bulunan tüm *E.coli* serotipinin sadece %8-10'unun tüm *E.coli* etkenli üriner sistem enfeksiyonlarının üçte ikisinden oluşur (23). En çok rastlanan üriner sistem enfeksiyonun etkeni serotipleri 0,1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 18 a, 18 b, 22, 25, 50, ve 75' tir (22,27).

O antijeni: Somatik, sıcaklığa dayanan lipopolisakkariler yapısındaki antijendir. Kaynatma ve alkole dirençli, foormole dayanıksızdırlar. *E.coli* antijeni ile Salmonella, Shiigella, Citroobacter, Yersiniaa ve Providenicia cinslerin bakterileri O antijenleri aralarında birçok karışıklığa meydan veren sayılmayacak dercede çapraz reaksiyonu vardırlar. *E.coli'* ler O antijenik yapılarına göre gruplara H veya K antijenleri ile de serovar'lara ayrılırlar**.**

H antijeni: 100 °C' de ısıtılmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle yapıları bozulurlar, formole dirençli ve protein yapısındadırlar. Ne birbirleri ile ne de başka bakterinin H antijeni ile çaprazımsı reaksiyon verirler **(**22).

K antijeni: Kapsul antijenleridir. Eskiden A, L ve B antijenleri olarak gruplandırılırken, bugün A antijeni grup I kapsüler polisakkarit olarak isimlendirilmektedirler.

Bu antijen kaynatılmaya ve pH 6' ya dayanıklıdır, az sayıda serogruptaki suşlar tarafından oluşturulur (19). Bu antijenleri oluşturan *E.coli* bakterileri O antiserumları ile aglütine olmazlar (22,23). L ve B antijenleri ise grup II kapsüler polisakkaritler olarak isimlendirilir, çok sayıda serogruptaki suşlar tarafından oluşturulurlar. Sıcaklığa ve pH 6'ya daha duyarlıdır.

Fimbria antijeni: fazla sayıda fimbria oluşturanturabilen bakterilerde O aglütinasyonlarını engelleyebilen, normal oda ısısında oluşturmayıp, 37 °C' de oluşturulabilen, eritrosit ve değişik hücreler de bakterilerin aderensini sağlaayan protein yapıda antijendirler (23).

2.2.5.Virulansı ve Patojenite Faktörleri

Üropatogen *E.coli* suşların bilinebilen virülans faktörler arasında kapsul oluşturabilme, üroepiitelyal hücrelerde tutunma özeliği, idrarda çoğalma hızı, seruma direncinin, Pfimbria varlığının, siderefor yapması, sitotoksik nekrotiizan faktör_1 ve hemoliz oluşması, belırli O veya K serogrubunda olması, kolisin V üretimii, antimikrobiyallerin dirençi gibi biyolojik nitelikler sıralanabilir (27**).**

Kapsül: Hücre çevresinde ek koruyucu özelikli tabakadır, vücudumuzun koruyucu mekanizmasının bakterileri tanımak ve yok etmesini önler. Menenjitli yeni doğanlardan izole edilen *E.coli* suşlarının % 80' i K1 kapsülü taşımaktadır. Bu kapsül, invitro ortamlarda insan nötrofillerinin ve normal insan serumunun öldürücü etkisine karşı mikroorganizmayı dirençli kılar **(**25,28).

Tip I (MS) fimbria: Çoğu *E.coli* suşlarında olduğundan ortak pili de denir. Birçok ökaryotik hücreye yapışmayı sağladığı halde, patojenik fonksiyonu yokturlar ve hiçbir hastalıkla ilişkili değildir. Fakat tip I fimbria, *E.coli* suşlarının, kolon mukozasına yapışmasını sağlar. Ayrıca ağız boşluğuna, vagina mukozasına tutunmaya da yardımcı olur (25).

Tip II (MR) fimbria: Tip I' den daha karmaşıktır ve değişik yapıda kolonizasyon faktörleri ve adezinler bu ad altında isimlendirilir. Bunlar S fimbria, P fimbria, X faktör ve çeşitli kolonizasyon faktörleridirler (26).

Konak hücrelere yapışmayı sağlayan fimbrialar antijenik ve fonksiyonel olmak üzere iki farklı özellik gösterir. Tutunma özelliğine göre infeksiyon yaptığı anatomik bölge farklıdır. P fimbrialı (P kan grubu antijenlerine bağlanabilmesi ile bu isim verilmiştir) bakteriler üriner sistem infeksiyonlarına, S fimbrialı (bakteriyemi yapan suşlarda görülür, beyin

ventriküllerine, koroid pleksusa ve damar epitelinde bulunan resepörlere tutunmayı sağlar) olanlar yenidoğan sepsisi ve menenjitine sebep olurlar (25, 26).

X faktör denen heterolog adezinler, P kan grubu antijenleri ve mannoz içeren bölgeler dışındaki alanlara tutunan ve *E.coli'* nin üropatojenitesinde önemli olan faktörlerdir (26**).**

Ekzotoksiner: Enterotoksijenik *E.coli* tiplerinin neden olduğu ishali oluşturan ST ekzotoksini epitelyum hücrelerin su emilimini önler. LT ekzotoksini hücrenin su veyaelektrolit salgılamalarına sebep olurlar. Enterohemorajik *E.coli* tip bakterilerin ST veya LT ekzotoksinleri yokturlar. Bunlarda şiga toksinini salgılar,bu toksinde bağırsakta epitel hücrelerin ölümüne neden olur, bundan dolayı bağırsak su emme gücü kaybına uğrayarak, sonuçta kanlı ishal görülür **(**28).

Diğer Faktörler: *E.coli* suşlarının salgıladığı, Shigella'lar gibi epitele penetrasyonu sağlayan faktörler; hemolizinler, demir sağlamakta rol oynayan hidrosamat tipi siderofor aerobaktin, Sitotoksik nekroz yapıcı faktör (CNF) denen maddeler virulansta etkilidirler (25**).**

2.2.6. Epidemiyolojisi

E.coli memelilerin ve kuşların barsak flora bakterisidir. *E. coli* normal bağirsak florası içinde olup burda diğer flora mikrobakterileriyle ile denge içinde olduğu müdetçe hastalık oluşturmaz. Barsak hastalıklarına neden olduğu gibi barsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşerek genelikle üriner sistem, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve menenjlere ulaşan *E.coli*bakterileri önemli hastalıklara sebep olurlar (23,25). *E.coli* barsakta yaptığı hastalıklara göre 5' e ayrılır.

2.2.6.1.Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC) Şekli

Yapmış oldukları kolonizasyon faktörleri, yüzeyel antijenleri ve uzun pilusları aracılığı ile barsak epiteline kolonize olan bu bakterilerin iki türlü ekzotoksin yaptıkları bilinir. Bu ekzotoksinlerden birinin ısıya duyarlı (LT), diğerinin ısıya dirençli (ST) enterotoksinler oldukları, ısıya dirençli olan enterotoksinin bir plazmit ile düzenlendiği ortaya çıkmıştır (22, 23, 29,30). LT, V, cholerae toksini aynı nitelikte ve altı alt üniteden oluşmuşturlar. Adenilat siklaz' ı aktıve olarak hücre içinde siklik adenozin monofosfat (cAMP) birikim fonksiyonu gösterirler. 100 °C'de 30 dakika dayanan ST, guanilat siklazıyı aktive etirerek hücre de cGMP' nin birikmesinne, neticede sulu bir ishale sebep olmaktadır.

Akut bakteriyel ishalin dünya genelinde en sık saptanan sebebidir. Diğer barsak patojeni *E.coli* suşları gibi, fekal_oral yolla veya kontamineli sular ve besinlerle bulaşırlar (26, 23, 30). Sağlıklı kişilerde 106 -108 germ hastalığı başlatabilmektedir (23). Gelişmekte olan ülkelerde

en çok 2 yaşın altındaki çocuklarda ciddi seyirli ishale neden olan, mikroorganizmanın sıkça bulunduğu geri kalmış ülkelerde erişkinlerde kolera benzeri seyre sebep olmaktadır. Bu ülkelerde toplumun önemli bir kısmı kısmen de olsa bu bakteriye karşı bağışıktır, ancakgelişmiş ülkelerden ziyaret amacıyla bu ülkelere gelenler infeksiyonlara duyarlı olduğundan, ETEC' ye bağlı ishaller turist ishali olarak isimlendirilirler (23, 30, 29**).**

2.2.6.2. Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC) Şekli

Direkt kolon mukozasına invazyon yapar, epitel hücreleri içinde çoğalır, epitel hücrelerini yok eder. Shigella'ların yaptığı dizanteri gibi enterit oluşturur. Ateş, karın ağrısı, kanlı-mukuslu tipik dizanteri veya sulu diyare yapar (23,26). Bu suşlar ile infeksiyon daha çok kontamine besinlerle bulaşır ve bütün dünyada fakat seyrek olarak görülür (23). EIEC suşları laktoz negatif ya da laktozu geç fermente eden hareketsiz suşlardırlar (24).

2.2.6.3. Enteropatojenik *E.coli* (EPEC) Şekli

İlk kez 1955'de bulunmuştur. Bebeklerde ve 2 yaş altındaki çocuklarda sıklıkla görülür. Hastanelerde, bebek servislerinde ve kreşlerde salgınlara yol açar. Erişkinlerde az görülür.

Bu kökenlere bağlı ishal ETEC' den daha karmaşıktır. EPEC barsakta etkili herhangi bir toksin üretmez; enterositlere yapışma-bozma (attachingeffacing) adı verilen özel bir mekanizma ile sıkı bir şekilde tutunarak ishale sebep olur (23,30). İnce barsak mukoza hücrelerine plazmit kontrolündeki pililer yardımıyla yapışarak o bölgedeki hücrelere(mikrovililere) zarar verir. EIEC ve EAggEC' den daha invazivdir ve inflamatuar reaksiyona sebep olur (31, 26).

2.2.6.4.Enterohemorajik *E.coli (*EHEC) Şekli

Bu köken kanlı diyareye veya hemolitik üremik sendrom gibi ciddi bir komplikasyona yol açması sebebiyle gittikçe artan öneme sahiptir (28,30). İnvazyon olanağı yok. Plazmitlerin kontrolünde tek virulans faktörü ile bakteriyofaj gözetiminde olan ve şhigella toksinin aynı yapıda sitotoksin sentezi yapar [Shigella toksini üreten *E.coli* (STEC)] (24,26).Toksin O157:*H7 E.coli* suşları tarafından salgılanır ve maymun böbrek hücre kültürü olan Vero hücre kültürüne sitotoksik etki gösterdiğinden, verotoksin de (VT) denir. Verotoksinin iki farklı serotoksin tipi vardır. [Verotoksin I (shigella-like toxin I), Verotoksin II (shigella-like toxin II)]. Bir bakteri her ikisini veya yalnız birini sentezleyebilir. Kanlı ishalde izole edilen EHEC

suşlarının yaklaşık %80'i serotip O157:H7'dir. Genellikle beş yaşından küçük çocuklarda ve sıcak aylarda sıktırlar **(**26).

2.2.6.5.Enteroagregatif *E.coli* (EAggEC) Şekli

Hep–2 hücrelerine aderans özelliği olduğundan enteroaderan *E.coli* olarak adlandırılırlar. İvazyon nitelikleri yoktur**.** Bu *E.coli* kökenleri, invazyona ve inflamasyona yol açmaksızın sadece intestinal mukozaya aderans özellikleri ile ishale sebep olurlar (26,29).

2.3.1.ANTİBİYOTİKLER

Antibiyotikler insan hayatına girmesinden yaşamıza kadar uzun bir zaman geçmiş olmasına rağmen bu ilaçlarla alakalı gelişmiş olanaklar yanında aynı ölçüde kullanılmaları esnasında ve sonrasında meydana çıkan önemli problemler de gündeme girmiştir. Bu problemin başlıcası ise antibiyotik kulanımına karşı ortaya çıkan bakteriyel direnç yerini almaktadır. Antibiyotikler çeşitli özelikleriyle sınıflara ayıra biliriz (32).

Antibiyotikleri, bakteriler üstündeki etki şidetine, etkin mekanzmasına,kimyasal yapısına ve farmakolojik niteliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflara ayırabiliriz. Organizma sıvılarında oluşturduğu konsantrasyonlarda, bakteriler üstündeki etkilerine göre bakteriyostatik yada bakterisid olarak ikiye ayrılırlar (33,34).

Tablo 1. Antibiyotiklerin Ana Sınıfları ve İsimleri

Hücre Duvar Sentezini İnhibe Edenler	**β –laktamlar** Penisilinler Sefalosporinler Krbapenemler	**Glikopeptidler**			
Protein Sentezini İnhibe Edenler	**Aminoglikozidler** Streptomisin Neomisin Kanamisin Gentamisin	**Tetrasiklinler** Klortetrasiklin Oksitetrasiklin	**Makrolidler** Eritromisin Azitromisin Klaritromisin	**Streptograminler** Virginamisin Quinupristin- Dalfopristin Pristinamisin	**Kloramfenikol**
Nükleik Asit Sentezini İnhibe Edenler	**Kinolonlar** Siprofloksasin Norfloksasin	**Sülfonamidler** Sülfamethoksazol -Trimetoprim	**Rifamisin**		

2.3.2.Beta-laktam antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları nedeniyle günlük hayata en çok kullandığımız antibiyotik grubundandır. Bakterinin peptidoglikan tabakasını sentezini bozup etkisini gösterir. Bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikan (murein) tabakasi mikroorganizmanın bütünlüğünü veyapısını sağlarlar. Bu tabaka da çapraz bağlanmış kısa peptid zinciri ile sağlamlaşmıştır (35). Antibiyotiklerin klinik hayata girmesinin hemen mukabilinden bakterilerde de direnç meydana gelmiştir. Yenilenen ve gelişen her antibiyotikle beraber bakterilerin de yenilenen direnç mekanizmaları görülmüştür.

Şu bir gerçektir ki bilinçsizce antibiyotik kullanılması dirençli bakterilerin hızla oluşmasına yardımcı olunmaktadır (36). Günümüzde özellikle hastane enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antibakteriyel ajanlar beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Ancak bu durum bu gruba karşı gelişen direnci de arttırmaktadır. Bakteri hücre duvarının yapısında bulunan peptidoglikan tabakası mikroorganizmaya şekil verir ve bütünlüğünü sağlar.

Betalaktam antibiyotikler yapılarında bir beta-laktam halkası olunan ve hücre duvarı sentezinide engelleyen bakterisidal ajanlardır. Peptidoglikan zincirindeki pentapepditlerin terminalinde yer alan D-alanil D-alanine yapısal benzerlikleri nedeniyle transpeptidasyon işlemini yürüten enzimlere (Penisilin bağlayan protein (PBP) (transpeptidaz ve karboksipeptidaz)) bağlanarak bakteri hücre duvarında transpeptidasyonu engeller, böylece peptidoglikan sentezini inhibe ederler. Beta-laktam antibiyotiklerin PBP ile reaksiyona girmelerinin nedeni kimyasal yapılarının D-alanil Dalanin molekülüne çok benzemesidir. D-alanil D-alanin molekülünün yerini alarak transpeptidasyonu engellemeleri sonucunda peptidoglikan sentezi tahrip olan bakteri osmotik direnç kaybına uğrayarak ölür (37,38).

Beta-laktam antibiotikler başlıca 5 sınıtan oluşurlar:

1. Penislinler:
2. Sefalosporinler:
3. Monobaktamlar:
4.Karbapenemler:
5. Beta -laktamaz inhibitörler (klavulonat, sulbaktam , tazobaktam)

2.3.3. Penisilinler:

Pensilinlerin baş yapısını bir beta-laktam halka, bir tiazolidin halka ve birde yan zincir içerir (6-aminopenisilanik). İçlerinde bulunan beta-laktam halka sebebiyle beta-laktam antibiyotikler adıyla isimlendirilir. Bakteri de hücre duvarı sentezinide seçici olarak yok eder. Penisilinler en fazla etkisi aktif olarak bölünmede olan bakteriler üstünde gösterir. Çoğalmayan bakterilerin üzerinde etksi çok azdır veya da hiç yokturlar.

Bakterisid etkilidir. Temel yapıya farklı yan zincirlerin eklenmesi sonucu antibakteriyal etki alanları ve farmakolojik özellikleri farklı birçok penisilin türevi elde edilir. Penisilinler beş başlıkta incelenir (39).

1. Doğal penisilinler (penisilin G, penisilin V)
2. Aminopenisilinler (ampisilin, amoksisilin, bakampisilin)
3. Karboksipenisilinler (tikarsilin, karbenisilin)
4. Üreidopenisilinler (azlosilin, piperasilin, mezlosilin)
5. Penisilinaza drençli penisilinler (metisilin, oksasilin, nafsilin)

2.3.4. Sefalosporinler:

Sefalosporin, Cephalosporicum acremonium adlı bir mantarda elde edilen daima geliştirilip antimikrobiyal tedavinin en çok kullanılan antibiyotik sınıfındandır(40, 41). Beta-laktam halkasının yanında penisilinde olan beş üyeli tiazolidin halka yerine sefalosporinlerde altı üyeli bir dihidrotiazini halka içeren bileşiklerdir. Bu halkada fazladan olan karbon atomu nedeniyle üçüncü pozisyona yeni yan dalların eklenmesi yoluyla değişik türevler elde oluşmuştur. Sefalosporinler de bakteri hücre duvarının peptidoglikan sentezini bozarak bakterisidal etki gösterirler. Bunda da, bazı bakterilerin üretiği beta-laktamaz enzimlerinin inaktive edici etkisine karşı fazla dayanıklıdır.

Sefalosporinler bırinci , ikinci, üçuncü ve dördüncu kuşak şeklinde sınıflandırılır (39,42). (Tablo 2) Ayrıca son yıllarda özellikle metisiline dirençli S.aureus (MRSA) etkinliği nedeniyle bazı sefalosporinler beşinci kuşak olartak isimlendirilmiştir. Seftobiprol ve seftarolin bu gruptaki başlıca antibiyotiklerdir (43).

Tablo 2. Sefalosporinlerin Sınıflandırılması

SEFALOSPORİNLER			
1. kuşak	2. kuşak	3. kuşak	4. kuşak
Sefalotin	Sefuroksim	Sefotaksim	Sefepim
Sefazolin	Sefoksitin	Seftizoksim	Sefpirom
Sefaloridin	Sefamandol	Sefoperazon	
Sefaleksin	Sefonisid	Seftriakson	
Sefapirin	Sefonarid	Moksolaktam	
Sefradin	Sefaklor	Seftazidim	
Sefadroksil	Sefotiam	Sefsulodin	
Sefasetril	Sefmetazol	Sefmenoksim	
Seftezol	Sefotetan	Sefpiramid	

2.3.5. Monobaktamlar

Aztreonam klinik kullanımdaki tek monobaktamdır. Diğer beta-laktam antibiyotiklerden farklı olarak içerisinde beta -laktam halkaya ekli başka bir halkası olmaz. Sadece gram-negatif bakterilere karşı etkinliği vardır. PBP3'e bağlanarak hücre duvarı sentezini tahrip eder. Ancak gram-pozitif ve anaerobik bakterilere karşı etkisi yoktur. Dar spektrumundan dolayı polimikrobiyal enfeksiyonlardatek başına kullanılmamalıdır (44,45).

2.3.6. Karbapenemler

Beta-laktam grubu antibiyotikler içerisinde en yaygın etki spektrumlu grubu olan karbapenemler de PBP'lere bağlanarak hücre duvarı sentezini engellerler. Klinik olarak önemli birçok Gram-negatif ve Gram-pozitif, aerobtur veya anaerobtur bakteriye karşı etkilidir. Klinik kulanımında ki iki üyleri imipenem, meropenemdirler. Karbapenemler sentetik beta-laktam antibiyotiklerdir. Diğer beta -laktam antibiyotik gibi bir beta-laktam halka içermekte ancak altıncı pozisyonda trans bağlantılı bir hidroksietil yan zinciri varlığı ile diğer beta-laktamlardan ayrılırlar. Bu yapısal farkları sebebiyle metallo-beta-laktamazlar dışındaki beta-laktamazenzimlerine son derece dayanıklıdırlar. Ancak *Stenotrophomonas maltophilia*, metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) ve *Enterococcus faecium'u* imipeneme direçlidir (44,45).

2.3.7. Ertapenem

Ertapenem, 1-β-metil karbapenem yapısındadır. Kimyasal içeriğindeki farıklılığından kaynaklanan plazma proteinlerine fazla sayıda bağlanabilirler ve yarı ömrüleri ortalama 4,5 saat kadardır (48). Klinik kullanımı için Amerika Birleşik Devletleri 2001'de, Avrupa 2002'de ve Türkiye 2008 yılında onaya girmiştir. Ertapenem, Türkiye'de yetişkin hastalarda duyarlı bakterilerin sebep olduğu orta ve yüksek enfeksiyon tedavisi, ve ayriyeten etken bakteri tesbit edilenekadar komplike intra-abdominal enfeksiyon, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, osteomiyelit dışı diyabetik ayak enfeksiyonları, komplike idrar yolu enfeksiyonları, akut pelvik enfeksiyonlar ve toplum kaynaklı pnömonilerin ampirik tedavisinde endikasyon almıştırlar (48).

Ertapenemin gram -negatif ve gram -pozitif mikroorganizmalar ile anaerop da dahil geniş bir etki spektrumu vardır. Fakat anyonik özelliği, lipofilik ve molekülün ağırlığının yüksekliğinden dolayı bakterlerin OprD porininden giremez. Bu özeliği sayesinde *Pseudomonas'lar*a ve *Acinetobacter* gibi nonfermantatif bakterilerinüzerinde etkinliği yok

veya azdır. Bakterilerin hedefindeki molekülde değişikliklerin ertapenem direncinde önemli rolü vardır. Penisilin bağlayan proteinler değişiklikleri sonunda ortaya çıkan metisilin dirençli stafilokokların türlerine karşı etkinliğ yoktur (48,49).

GSBL üreten ve plazmid aracılığı ile Amp-C sefalosporinaz *yapan E.coli ve K.pneumoniae* suşlarına karşı ertapenemin farmakodinamik özelliklerini imipenem, seftriakson ve sefepim ile karşılaştıran bir çalışmada, bu bakteriler için ertapenemin MIK düzeyi diğer antibiyotiklerden çok düşük bulunmuştur. Üstelik sefalosporinlere karşı in-vitro duyarlığa rağmen, in-vivo antibakteriyal etkinliğin yeterli olmadığı gözlenmiş, ESBL ve Amp-C beta-laktamazı ürete bilen *E.coli ve K.pneumoniae* suşları ile oluşan infeksiyonların tedavisinde ertapenemin çok iyi bir seçenek olabileceği kanıtına varılmıştır (50).

2.4.1. Kolistin

Kolistinin, siklik yapısı olan katyonik polipeptid antibiyotiklerden olan polimiksinler içerisindeki bir üyedir. Polimiksinlerin 1947 keşfinden sonra 1962'den beri gram-negatif bakterilerde enfeksiyonların tedavisinde parenteral yola kullanılma girdi. 1980' yılında ciddi nefrotoksisiteleri sebebiyle parenteral yola kulanımı sonlandırıldı, yanlızca topikal ve oral yola kullanımı sürdü. Aynı yılarda yeni keşf olunan, toksik etkileri az olan yeni grup antibiyotikler polimiksinlerin alternatifi olmuştur (58,59).

Polimiksinlerde tedavi sınırı, uzun zaman yanlızca kistik fibrozisli hastalarda varolan, çoklu ilaç direnci olan *Pseudomonas aeruginosa'lı* akciğer infeksiyonuyla sınırlandırılmıştır (58). Son zamanlarda görülen çoklu ilaç direnci olan gram-negatif bakteriler (özellikle *Pseudomonas spp. Ve Acinetobacter spp.)* ile meydana gelen enfeksiyonların sıklığında artış ve tedavilerinde yaşanan problemler polimiksinleri tekrar kulanıma koymuştur (60).

2.4.2.Tigeskilin

Tigesiklin; geniş spektrumlu yeni bir antibakteriyel ilaç sınıfı olan glisiklinlerin ilk üyesi olup tetrasiklin direncini aşmak için özel olarak geliştirilmiştir. Yapısal olarak minosiklinin semisentetik bir analoğudur (61). Fakat ribozomlara minosikline oranla beş kat daha güçlü bağlanır. Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu iki farklı genetik mekanizmaya karşı dirençli olması en önemli özelliğidir.

Tigeskilin; bakterilerde protein sentezin rbozom düzeyinde inhibe ederek 30 S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve aminoayl tRNA'nın hedefine girişini engeleyerek etksini gösterir (62). Bu durumda proteinin sentezlenmesi engelenir ve bakterinin üremesi durur (63). Tigeskilin aerop gram-pozitif, gram negatif anaerop hem de atipik bakteriler üzerinde etkisi vardır. Metsiline dirençli S.aureus (MRSA) pensiline dirençli Streptoocus *pneumoniae* vankomisin dirençli *Enterokoklar* geniş spektrumlu beta laktamaz üretebilen *E.coli* ve kebisella *pneumoniae* gibi çoğuklu direnç gösteren bakteriler tigeskiliniin etkin alanı içindedir (64).

2.4.3.İmipenem

İmipenem ve meropenem, karbapenem gurubuna dahil beta-laktam antibiyotiller olup tüm antibiyotikler içerisinde en geniş spektruma sahiptirler. Streptokoklara, metsiline duyarlı stafiilokoklara, anaeroblar ve Psudomonas dahil gram negatif nozokomiyal patojenlere etkindirler. Buna karşılık metisiline dirençli stafilokoklar vankomisine dirençli enterokoklar vegrup JK difteroidler karbapenemlere dirençlidir (65).

2.5.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)

Gram-negatif enterik basillerin büyük çoğunluğunda plazmid kontrolünde olan 'geniş' spektrumlu beta-laktamazlar bulunmaktadır(51). Günlük kullanıma 1980'li yıllarda giren "genişlemiş spektrumlu" sefalosporinlerin özellikle nozokimyasal kökenli Gram-negatif infeksiyonlarda yaygın biçimde kullanımı bu antibiyotiklere karşı bakterilerin etkili enzimler üretmelerine yol açmıştır. Geniş Spektrümlu β-laktamazlar (GSBL), bakterilerin β-laktam grubundaki çeşitli antibiyotikler üzerinde çoklu dirençten sorumlu enzimlerdir.

Direnç oluşan antibiyotikler içinde sefotaksim, seftazidim ve aztreonam başta gelmektedir. Çoğu GSBL, enterik Gram-negatif bakterilerin klasik plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'den köken alır. Bunların arasında en yaygın olanı TEM-1 enzimidir. TEM-2 ve SHV-1 daha seyrektir (52). Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ile dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL'ler oluşur. GSBL oluşturan kökenler ile infeksiyonlar, yüksek mortalite, uzun hospitalizasyon ve maliyetli tedavi masraflarına yol açmaktadır (53).

2.6.1. Bakterilerde Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler, mikroorganizmalardan elde edilen, küçük dozlarda diğer mikroorganizmaları öldürebilen ve insan organizmasına zararlı etkisi görülmeyen doğal veya sentezlenmiş madde-lerdir (54). Genellikle ürettikleri antibiyotiklere karşı dirençli olan bu mikroorganiz - malar farklı antibiyotiklerden etkilenirler. Alexander Fleming tarafından 1929 yılında ilk antibiyotik olan penisilinin keşfi ile antibiyotik günlük hayatımıza girmiş ve enfeksiyon hastalıklarındaki başarısı ile de kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmıştır. Yaygınlaşan antibiyotik kullanımının fıtri sonucu olarak direnç gelişimide hızla artmıştır (55).

Günümüzde antibiyotiklere karşı direncin bu kadar hızlı gelişmesinin özeliklerinin en başında yaygın ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı gelmektedir. Ayrıca dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyonlara bağlı ölüm oranlarındaki artışlarda sorunun önemini ortaya koymaktadırlar (56). Bakterilerin antibiyotik kulanımına gösterdiği dirençidoğal ve kazanılmış direnç olarak iki kısımda ayrılır.

2.6.1.1. Doğal Direnç

Bakterinin taşıdığı genetik nitelileri nedeniyle sahip olduğu dirençtir. Bu özellik sayesinde bakteri bazı antibiyotik türlerine karşı doğal olarak dirençlidir. Türünden dolayı ilaçların hedef olan yapıları taşımamaları ya da ilaçların yapısında ki bir özeliğinden hedefe ulaşmasını engeleyyen doğal engelleri bu tür dirençen sayarız. Örneğin; ilacın dış membrandan geçememesi nedeniyle Gram negatif bakteriler vankomisine doğal olarak dirençlidirler (57).

2.6.1.2. Kazanılmış Direnç

Sonradan meydana gelen direnç tipidir. Bakterinin genetik özelliklerindeki değişimler sonucun da, önceden duyarlı olduğu antimikrobiyal ajandan sonradan etkilenmemesidir. Günümüzde antimikrobiyal ajanlara karşı direnci sağlayan ana mekanizmadır (54).

2.6.1.3.Kromozomal Direnç

Bakteri kromozomu kendisinden (spontan) gelen mutasyon sonucu meydana gelir. Spontan mutasyon fiziksel veya kimyasal nedenlerle olabilir ve sonucnda bakterilerde yapısal farklılıklar gelişir. Bu durumda bakterinin ilaca permeabilitesi azalır yada bakteri içindeki ilacın hedefinlerinde değişiklik gelişebilir (57). Klinikte bu tip direnç nadir görülür.

2.6.1.4. Plazmidlere BağlıDirenç

Plazmidler, kromozomdan bağımsız şekilde çoğalabilen ekstra kromozomal gen elementidirler. Kliniklerde gözlemlenen dirençlerin baş sebebi plazmid kaynaklı dirençtir. Direnç plazmidleri (R-plazmidi) bir yada fazla oranda ilaca yönelik direnç genleri bulundururlar. Plazmidlerin genleri özelikleilaçları parçalayan enzimlerin oluşmasından sorumludur (56).

2.6.1.5.Transpozonlara Bağlı Direnç

Transpozonlar, mikroorganizma kromozomunun farklı yerlerinde oluşabilenyada kromozomlardan plazmide, plazmitten plazmide, plazmidlerden kromozomal DNA'ya, kromozoma veya bakteriyofajlara geçebilen DNA dizileridir (56). Özellikle çoklu ilaç direncinin ortaya çıkışında ve yayılışında transpozonların büyük rolü vardır.

2.7.1. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Antibiyotiklere karşı duyarlıık birden fazla yolla ile çalışılabilmektedie. Laboratuvarlarda rutin olarak uygulanantestlerde genellikle ilaçların bakteriyostatik aktiviteleri değerlendirilir. Bu çalışma ile yöntemleri dörde ayırabiliriz.

1. Sıvı ya da katı besiyerlerinde dilüsyon yöntemi.
2. Disk ile difüzyon yöntemi
3. Gradiynt ile difüzyon (E test) yöntemi
4. Antimikrobik yapıları inaktıve eden enzimlerin tesbiti yöntemi (66,54).

2.71.1. Seyreltme Yöntemi

Seyreltme yönteminde belirli orandaki toplu bakterileri (inokulum), iki katlı dilüsyonlar ile farklılaşan yoğunlukta antimikrobik yapılarla karşılaştırılır. İnkübasyon süresi sonucunda göz ile görünen üremeyi durduran en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu belirlenir. Bu olaya Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) veya (mg/L) şeklinde ifade edilir. MİK değerinin duyarlık mı yada direnci mi temsil ettiğini belirlemek için, gözlemlenen konsantrasyonu duyarlılık sınırı ile isimlendirilen bir değer ile karşılaştırılır. MİK, bu sınırdan düşük ise bakteri sözü edilen ajana "duyarlı" olarak saptanır. Bunun haricinde "dirençli" ve "orta" kategorileri de değerlendirilir.

Duyarlık sınırları, sağaltım esnasında varılan serum ile doku düzeyleri, duyarlılık nitelikleri kesin olarak bilinen bakterilerinin MİK değerleri gözönüne alınarak belirlenmektedir. Her

bakteri ajanı için bakteri türüne göre de değişebilen farklı bir sınır değer belirtilir. Genelde sağaltımın başarısı için MİK değerin serum düzeyinde (Cmax) kıyaslamayla 4-16 defa düşük olması gerekmektedir. Seyreltme yöntemi temelinde testler kantitatif sonuç verdiği için yeğlenmektedir. Sıvı besiyerlerinde seyreltme yöntemi, tüpte uygulanılıyorsa makrotüp dilüsyonlar, mikrodilüsyon plakta uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak isimlendirilir (57, 66, 67).

2.7.1.2.Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yolla sabit bir oranda antibiyotikler emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanmış standarta süspansiyonun sürüldüğü agarlı petrilerin yüzeyine dizilir. Böylece, disklerde ki antibiyotik agar içerisine karışıpbakteriyi etkilediği bölgede üreme olmaz. Böylece, disklerin etrafında bakterinin üremediği çembersell bir etkili alan oluşturur. Bu dairenin çapı ölçülerek "duyarlı", "orta" ve "dirençli" olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenmiş olur. Bu kategorilerin sınır değerleri, her antimikrobik yapı için MİK 'le korele edilip ve erişilebilen serum düzeyleri göz önüne alınaraksaptanır (57,68).

2.7.1.3 Etest Difüzyon Yöntemi

E test Difüzyon yönteminedayalı ancak diskler yerine beli ve daimi bir konsantrasyon değişikliği olacak şekilde antibiyotik içeren plastik striplerin kullanılabildiğibir yöntemdir. İnkübasyon süresinin sonucunda, elips şeklinde inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK olarak belirtilir. Bu yöntemle özellikle *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae* benzer zor üreyebilen bakteri cinslerinin MİK değerleri saptanmasında sık olarak kullanılmaktadir (57,69).

2.7.1.4.Enzim üretiminin saptanması Yöntemi

Enzim üretimin saptanması;*Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, N. gonorrhoeae* benzeri cinslerde nitrosefinle b-laktamaz aktivitesinin belirlenmesi veya*H. influenzae* izolatlarında kloramfenikolu asetil transferazi enzimi aktivitesinin biyokimyasalyolarla belirlenmesi, antibiyotik direncin klasik yolara karşı daha çok hızlı saptanmasını oluşturabilmektir(57).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalısmamızda Harran Üniversitesi Arastırma ve Uygulama Hastanesinin Klinik Mikrobiyoloji Laboratuarına 01.07.2015 ile 31.12.2015 tarihlerinde gelen değişik suşlardaki örnekleri kullanıldı. Kültürde üreyen *E.coli* suşları ayrıştırılıp suşlar %10 gliserollü Brucella Broth içinde -70 °C'de saklandı.

3.1.1.Suşların Tanımlanması ve çalışması:

Elde edilen *E.coli'*ler ile disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıkları saptandı. Bakterilerin izolasyonu ve belirlenmesinde klasik yöntemler yanısıra Vitek2(bio Merieux, Fransa) tam otomatik bakterileri tanımlayan sistem kullanıldı.

Vitek2 sistemde; amaca yönelik uygun vitek2 inokubasyon kartları bunlar, gram negatifler, gram pozitifler, bakteri sayımılayan hemdeanaeroblar veya antibiyogramlar içinde özeliği olan kartlar seçilir. Kartların içindeki çukurlarda liyofilize ayıraçlı besiyeri veya antibiyotikli besiyeri vardırlar. Cihaz tarafından, standart bulanıklıkla bakteri süspansiyonundan kartlara ekimi yaptırır; üretir, sonuçları okunur, değerlendirilip kaydedilme esasına dayanır.



Şekil 1. Vitek2 Cıhazı



(0.5 McFarland) Bulanıklık

3.1.2.Araç Gereçler:

- Etüv
- Buzdolabı
- Vorteks
- Pergeli çap, cetvel ve ya şablon
- Mc Farland bulanıklık standard (0.5 McFarland)
- Agar plakları, 100mm ve 150mm
- Eküvyonlu çubuk
- Antibiyotik diskler
- Antibiyotik disk dağıtıcı (dispensır)
- Tanımlanmış kültürün kolonileri
- Testler için gereken besiyerleri

3.2.KULANILAN BESİYERLERİ

3.2.1.Kanlı Agar (HIMEDIA)

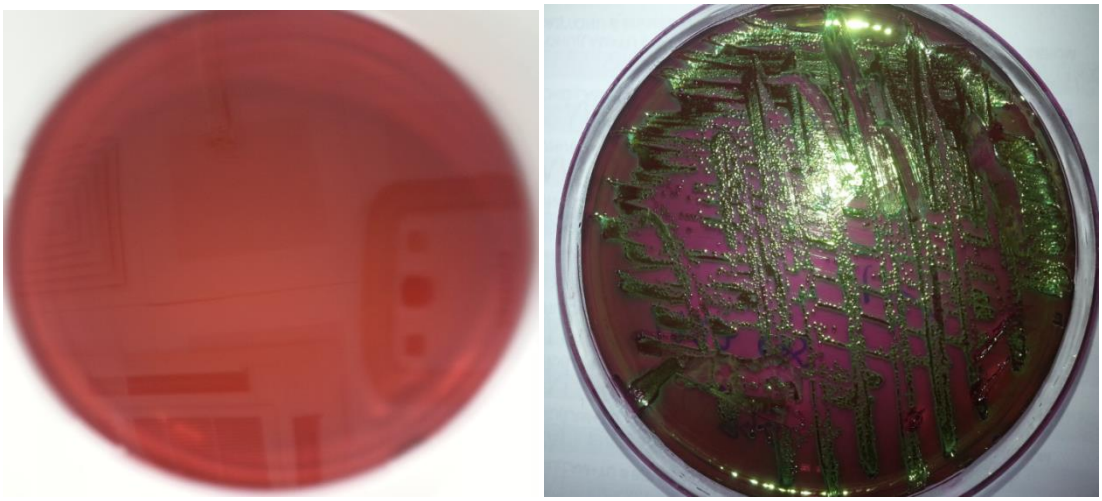
Hazır besiyeri karışımından alınan 40 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildikten ve pH 7,4 ayarlandıktan sonra, 121°C'de 15 dakikada sterilize edildi. Ortalama 45°C'ye kadar ısısı düşürüldükten sonra 70 mlkan eklenerek steril petrilere 30-35 ml dökülüp,soğutulduktan sonra 37°C etüvde bekletilerek sterilite kontrolleri yapıldı.



Şekil 2. Kanlı agar besiyeri ve üreyen *E.coli*

3.2.2. Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) (OXOID)

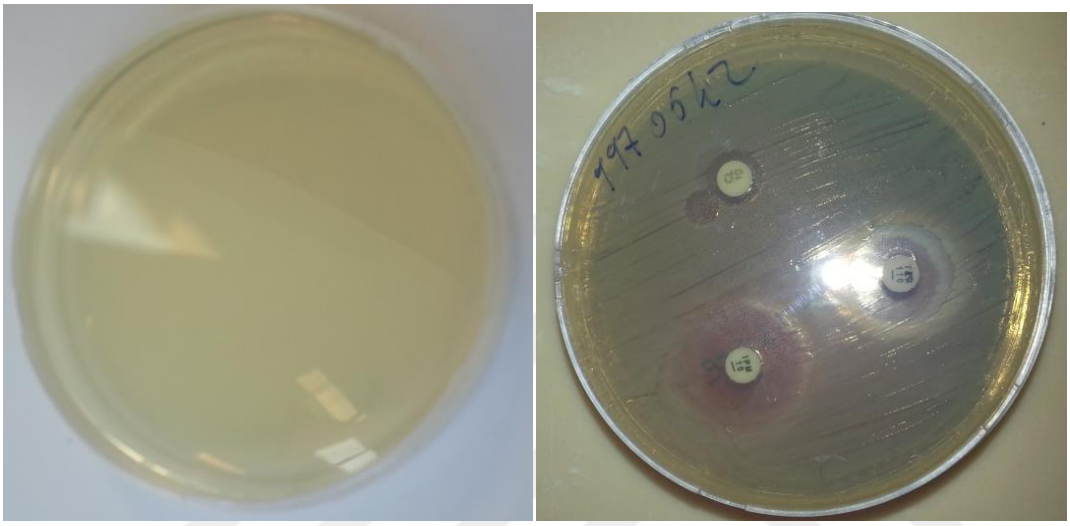
Hazır besiyeri karışımından alınan 37.5 gr tartılıp 1000 ml distile suda ısıtılarak eritildi ve pH 7.4'e ayarlandıktan sonra 121 ºC' de otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 30-45 ºC' ye soğutulduktan sonra 90 mm çapındaki petrilere 30–35 ml döküldü. Petrilerdeki besiyerleri dondurulduktan sonra 37 ºC sıcaklıkta etüvde bekletilerek strilite kontrolleri yapıldı.



Şekil 3.EMB Agar besyeri ve üreyen *E.coli*

3.2.3.Mueller- Hinton II Agar (HIMEDIA)

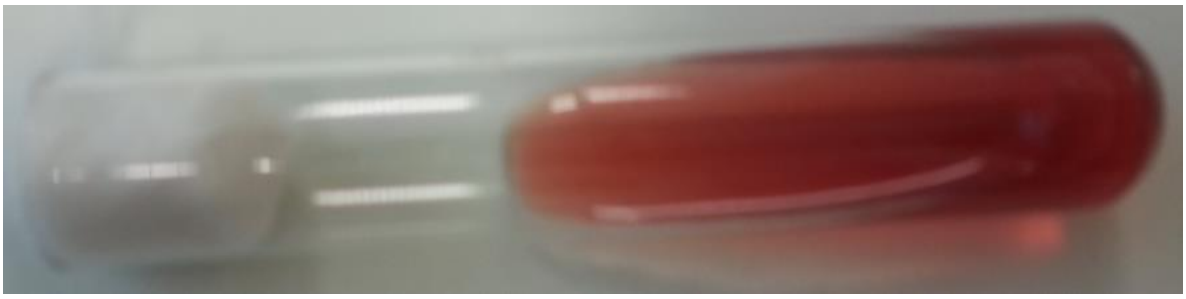
Hazır besiyeri karışımından alınan 38 gr tartılıp 1000 ml distile suda ısıtılarak erimesi sağlandı ve pH 7.4'e ayarlandıktan sonra 121 ºC' de otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 35–45 ºC' ye soğutulduktan sonra 90 mm çapındaki petrilere 30–35 ml döküldü. Petrilerdeki besiyerleri dondurulduktan sonra 37 ºC sıcaklıkta etüvde bekletilerek strilite kontrolleri yapıldı.



Şekil 4. Muller Hinton agar besiyeri *ve E.coli* antibiyogram

3.2.4.Triple Sugar Iron Agar (OXOID)

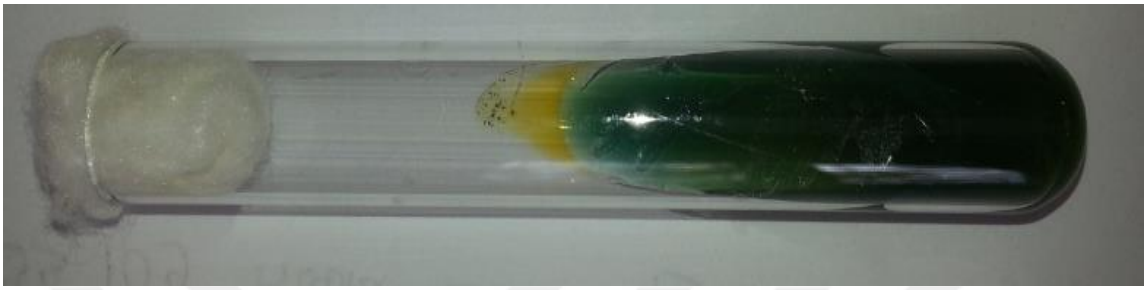
Hazır besiyeri karısımından alınan 65 g tartılıp 1000 ml distile suda ısıtılarak erimesi sağlandı ve pH 7,4'e ayarlandıktan sonra tüplere 3,5–4,5 ml şekilde taksim edilerek121 ºC' de otoklavda 15 dk steril edildi. Otoklavdan çıktıktan sonra yarı yatık donduruldu.



Şekil 5. Triple sugar iron agar besiyeri

3.2.5.Simmons Citrate Agar (OXOID)

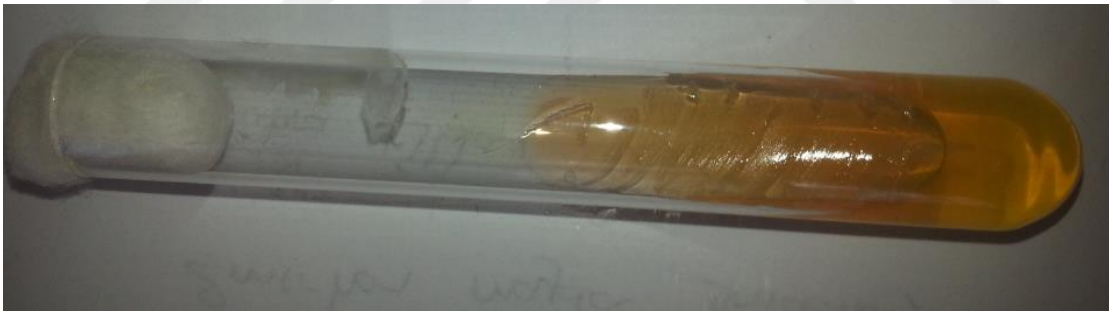
Hazır besiyeri karışımından alınan 23 g tartılıp 1000 ml distile suda ısıtılarak erimesi sağlandı ve pH7,4'a ayarlandıktan sonra tüplere 3,5–4,5 ml şekilde taksim edilerek 121 ºC' de otoklavda 15 dk. steril edildi. Otoklavdan çıktıktan sonra yarı yatık dondurulduk.



Şekil 6. Simmons citrate agar besiyeri

3.2.6.Üre Agar Chrıstensen (MERCK)

Hazır besiyeri karışımından alınan 21 gr. tartıp 1000 ml distle suda eritildikten sonra, 121 °C'de 15 dk.kadar sterilize edildi. Üzerine üre karışımı eklendikten sonra yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril cam tüplere 3.5-4,5 ml dağıtıldı. Yarı yatık dondurulduk.



Şekil 7.Üre agar besiyeri

3.2.7.SIM Medium indol Besiyeri (HIMEDIA)

Hazır besiyeri 36.23 gr tartımları alınan maddeler 1000 ml distile suda ısıtılarak eritildi. pH' 7.3' ye ayarlandıktan sonra tüplere 2-3'er ml dagıtılarak 121 ºC' de otoklavda steril edildi.



Şekil 8. Sim Medium indol besiyeri

3.3.1.Sitrat Deneyi

Sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanma yetenegindeki bakterilerin ayırımında yararlanılır. Sitrat besiyerine saf kültürden ekim yapılarak 35 ºC' de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda besiyerinin rengini maviye dönüstüren bakteriler sitrat pozitif kabul edilirken, renk degisimi gözlenmeyen tüplerdeki bakteriler sitrat olumsuz kabul edildi.

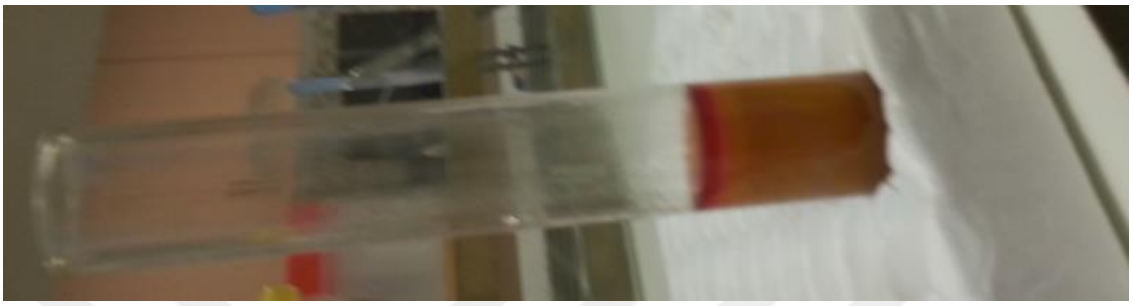
3.3.2.TSI Agarda Ekim

Gram olumsuz bakterilerin glikoz, laktoz ve sükroz üzerindeki etkisini ve H2S oluşturup oluşturmadıklarını araştırma ilkesine dayanır.

TSI agara saf kültürden ekim yapılarak 35 ºC' de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Glikozu fermenteleyen bakterilerin olusturdukları asit ve fenol kırmızısı ayıracını etkileyip sarı renk yaptırır. Bakterilerin, dipteki zayıf oksijenlenmiş yerde glikozu fermentasyonla parçalayıp respiratif yola parçaladıkları besiyeri yüzeyine göre dipte daha fazla asit oluştururl. Bu alkali ürünleri besiyeri yüzeyinde glikozdan meydana gelen asitleri nötralize ederler. Bu sebeple; glikozu fermente eden laktoz ve sukrozu parçalamayan bakteriler dipte sarı yatıkta kırmızı rengi oluşturur. Laktoz ya da sukaroz yada her ikisi de fermente eden bakterileri bol miktarda asit oluşturduklarından oluşan alkali ürünler ne yatıkta ne de dipte ki bölgede asid nötralize etmeye yetmez. Bu sebeple laktozu, sukarozu veya her ikisini fermente edebilen bakteriler hem yatıkta hem de dipte sarı renk olustururlar.Sarı renk oluşumu gözlenen tüplerdeki bakteriler laktoz, sükroz ve glikoz pozitif kabul edildi.

3.3.3.İndol ile Deney

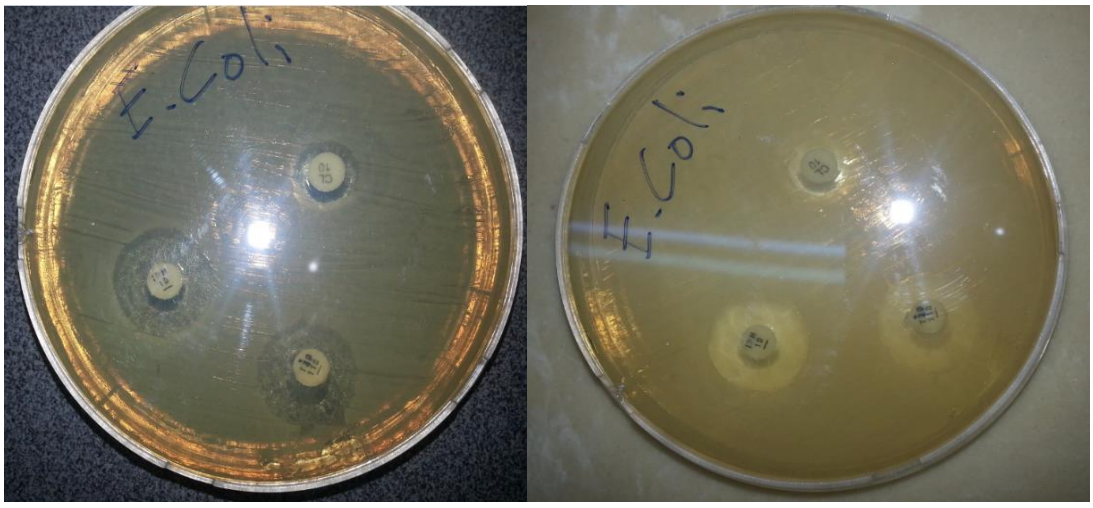
İncelenecek olan bakteri daha önceden hazırlanmış olan indol besiyerine ekilerek 18-24 saat 35 ºC' de inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda Kovacs ayıracı tüp kenarından akıtılarak besiyeri üzerinde, birkaç sn içerisinde tabakalandırılmış parlak kırmızı bir halka oluşturan bakteriler indol pozitif kabul edildi.



Şekil 9.*E.coli* 'de İndol deneyi

3.4.1.Disk Difüzyon Tarama Testi (DDTT)

(EMB)agarlı besiyerlerindeki 24 saatlik kolonisinden 3-5 koloni alınarakMueller Hinton Broth (MHB) besiyerlerine Bakteri süspansiyonları 0.5 McFarlanda bulanıklığı ayarlandı ve eküvyonlu çubuk ile (MHB) besiyeri üstüne her tarafa eşit olacak şekilde yayıldı. Besiyeri yüzeyinin kurumasını takiben (CL) kolitsin diski(İMP) İmipenem diski ve (TiG) Tigeskilin ekilerek 37ºC'de 8-9 saat inkübe edildi. Daha sonra sonuçları gözlemlenerek disklerin etrafının açılma durumuna göre duyarlı ,orta duyarlı ve dirençli şeklinde değerlindirildi. Sonuçlar vıtek 2 cihaz sonuçlarıyla karşılaştırılıp analiz edildi.



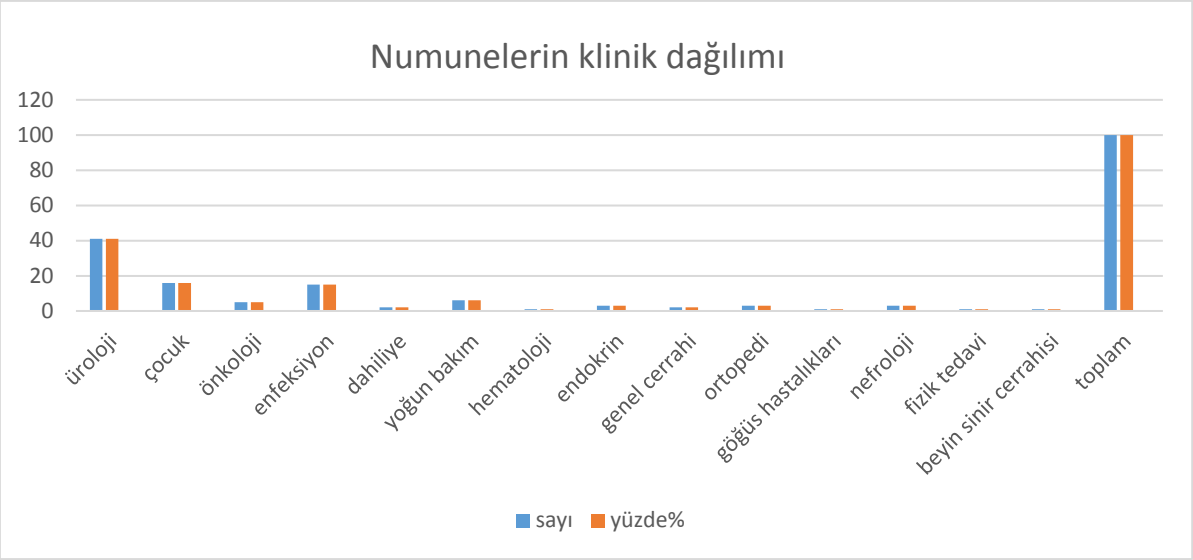
Şekil 10. Disk Difüzyon ile Antibiyogram

4. BULGULAR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji Biriminde 01.07.2015 - 31.12. 2015 tarihleri arasında 100 değişik suşlardaki örneklerinden izole edilen 100 E.coli izolaytın gönderildiği birimlere göre dağılımı

Tablo 3. *E.coli* İzolatının Gönderildiği Birimler Göre Dağılımı

Bölüm	**Sayı**	**Yüzde (%)**
ÜROLOJİ	41	41
ÇOCUK	16	16
ÖNKOLOJİ	5	5
ENFEKSİYON	15	15
DAHİLİYE	2	2
YOĞUN B.B	6	6
HEMATOLOJİ	1	1
ENDOKRİN	3	3
GENEL CERAHİ	2	2
ORTOPEDİ	3	3
GÖĞÜS HAS.	1	1
NEFROLOJİ	3	3
FİZİK TEDAVİ	1	1
BEYİN SİNİR	1	1
TOPLAM	**100**	**100**

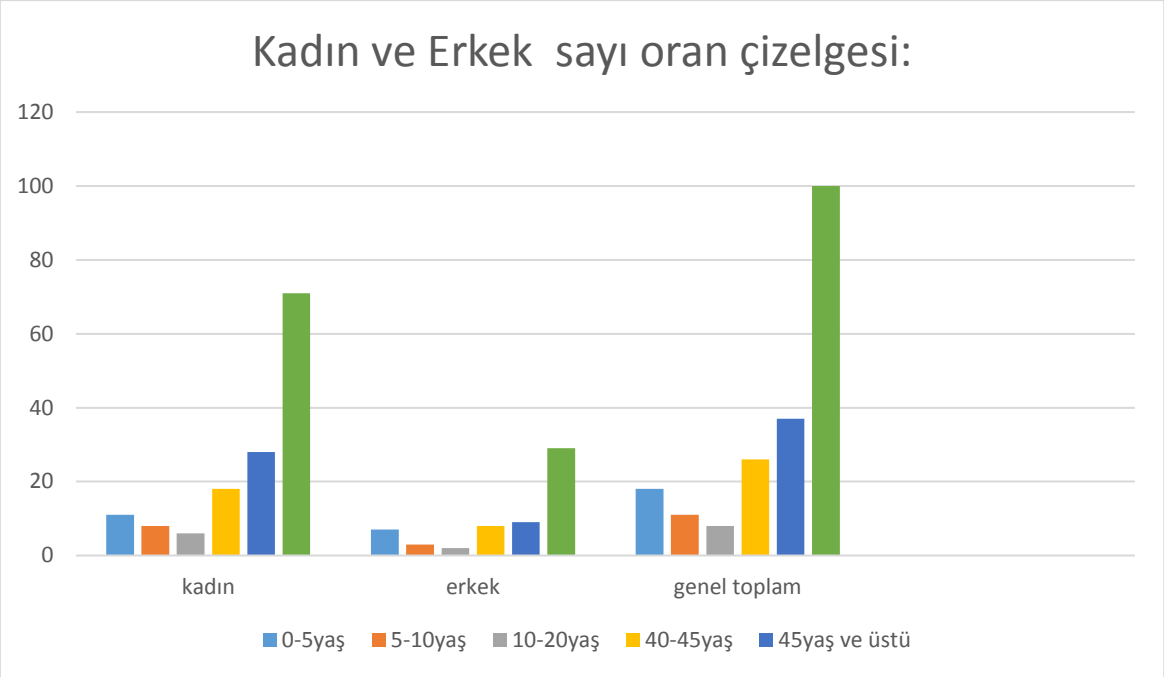


Grafik 2. Numunelerin kliniklere göre dağılımı

71 kadın, 29 erkekten alınan toplam 100 *E.coli* örneği incelenmiştir. Bireylerin 18 kişisi 0-5 yaş arasında,11kişisi 5-10 yaş arasında 8 kişi 10-20 arasında 26 kişisi 20-45 yaş arasında 37 kişisi 45 yaş ve üstüdür. Tablo 4'te ve Gragik 3'te görülmektedir.

Tablo 4. Yaş guruplarına göre kadın,erkek dağılımı

Cinsiyet	0-5 yaş	0-5 yaş	5-10 yaş	5-10 yaş	10-20 yaş	10-20 yaş	40-45 yaş	40-45 yaş	45 yaş ve üstü	45 yaş ve üstü	Toplam	Toplam
	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı
Kadın	11	11	8	8	6	6	18	18	28	28	71	71
Erkek	7	7	3	3	2	2	8	8	9	9	29	29
Genel Toplam	18	18	11	11	8	8	26	26	37	37	100	100



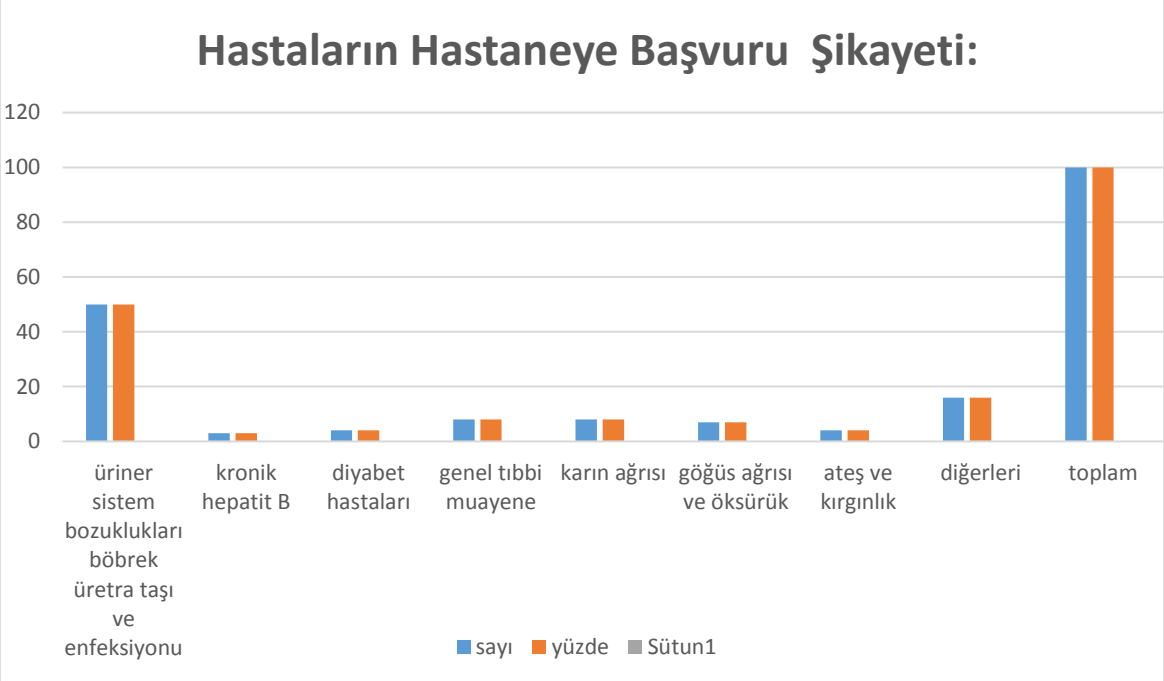
Grafik 3. Yaş guruplarına göre kadın, erkek dağılımı

4.1.Hastaneye başvuru şikayet nedeni

E.coli hastaların çoğunluğu üriner sistemle alakalı şikayet nedeniyle hastaneye başvurmuştur. Şikayet sırasına göre en az sırada kronik hepatit hastaları yer alıyor.

Tablo 5. Hastaların hastaneye başvuru şikayetilerine göre dağılımı %

Hastaların Hastaneye Başvuru Şikayeti:	**Sayı**	**Yüzde %**
Üriner Sistemle alakalı hastalık şkayeti	50	50
Kronik Hepatit B hastalığı	3	3
Diyabet hastalğl	4	4
Genel muyane	8	8
Karın ağrısı	8	8
Göğüs ağrısı ve öksürük	7	7
Ateş ve kırgınlık	4	4
Diğerleri	16	16
Toplam	100	100

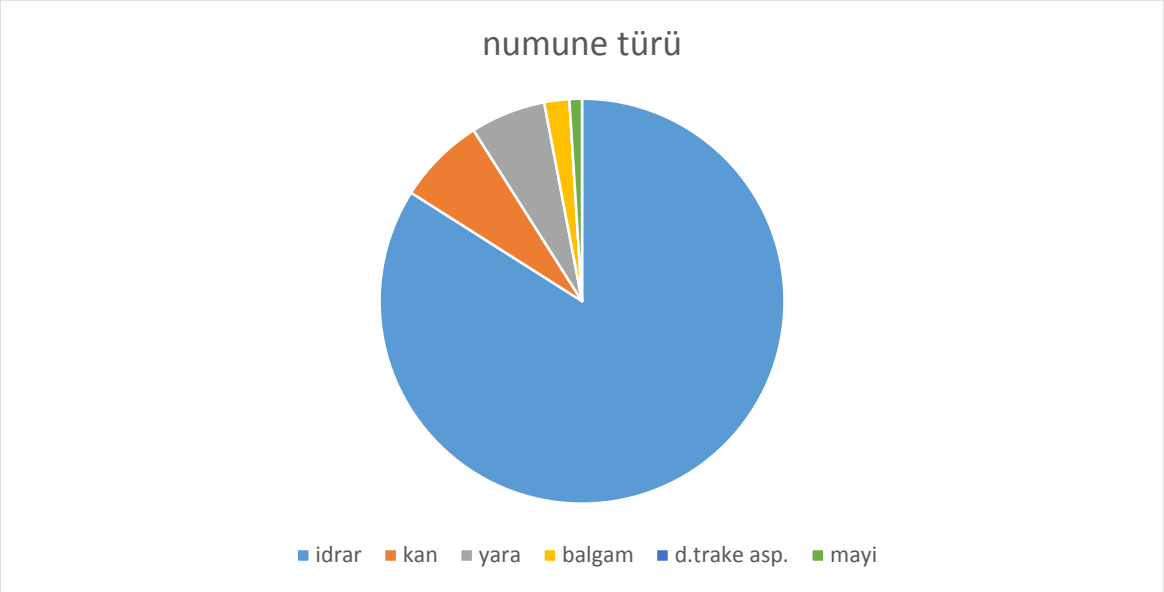


Grafik 4. . Hastaların Hastaneye Başvuru Şikayeti

4.2. Gelen Numune Türü:

İdrar = 84 Balgam = 1 Mayi = 1

Yara = 5 Kan = 7 Derin Trakeal Aspirasyon = 2



Grafik 5. Örneklerin numune türü göre dağılımı

Toplam numunelerinin erkek sayısındaki 29'un hepsi Tigeskilin'e duyarlı bulunmuş. Kolistin'e 28'i duyarlı 1'i dirençli bulunmuş. İmipenem'e 28'i duyarlı 1'i dirençli bulunmuştur. Kadınların toplamındaki 71'i Tigeskilin'eduyarlı bulunmuş,Kolitsine 69'u duyarlı 2'si dirençli, olup İmipeneme 64'ü duyarlı 5'i orta duyarlı 2'si dirençli değerler bulunmuştur. Vıtek2 tam otomatik bakteri tanımlama cihazıyla yapılan çalışmadaki numuneler Disk Difüzyon Yöntemiyle ikinci kez çalışılmış aynı sonuçlar elde edilmiştir.

Genel toplamdaki numunelerin Kolistinn'e % 97'si duyarlı % 3'ü dirençli bulunmuştur. İmipenem'e % 92'si duyarlı % 5'i orta duyarlı % 3'ü dirençli bulunmuştur. Tigeskilin'e % 100'ü duyarlı bulunmuştur. Bizden önceki yapılan aynı çalışmalarda da tigeskilin,imipenemve kolitsin antibiyotik duyarlılıklarında yakın değerler bulunmuştur. İmipenem pozitif olan üç hastada da GSBL negatif bulunmuştur, buda bize AmpC (C gurubu beta laktamaz) direncini göstermektedir.

Tüm *E.coli* izolatların da GSBL oranları sırasıyla Kadınların 29’ pozitif 42’si negatif Erkeklerin 15’i pozitif 14’ü negatif saptanmıştır. Genel toplamda % 44’dü GSBL pozitif % 56’sı GSBL negatif bulunmuştur.

Çalışmamızda numunelerin16’sı (%16) tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Tüm antibiyotikler direnç %0’dır. Sadece iki antibiyotk’e duyarlılık bir hastada %1 oranında kolitsin(CS) ve tigesiklin (TGC) de görülmüştür. Tek antibiyotiklere direnç %13 bulunmuş olup bunlar; kolitsin (CT) 1, siprofloksasin (CİP) 2, trimetoprim/sülfametaksazol (STX) 6,nitrofurantoin(FT) 2, amoksilin/klavunikasit (AMC) 2 hastada görülmüştür. İki antibiyotk’e direnç %6 oranında sefuroksim (CXM) ve sefurotosim asetil (CXMA) 2, trimetroprim/sülfametksazol (STX) ve siprofloksasin (CİP) 1, siprrofloksasin (CİP) ve tobraramisin (TM)1, trimetroprim/sülfametaksazol (STX) ve gentamisin (GM)1, amoksilin klavunik asit (AMC) ve trimetroprim/sülfametaksazol (STX) 1 bulunmuştur. Geri kalan %64 orandaki hastalar üç ve üstündeki antibiyotiklere direnç ve duyarlı bulunmuşlardır.

Tablo 6. Antibiyogram sonuçları

H.sayısı	Tigeskilin	Colistin	İmipenem	H.sayısı	Tigeskilın	Colistin	İmipenem
1	S	S	S	51	S	S	S
2	S	S	S	52	S	S	S
3	S	S	S	53	S	S	S
4	S	S	S	54	S	S	S
5	S	S	I	55	S	S	S
6	S	S	S	56	S	S	S
7	S	S	S	57	S	S	S
8	S	S	S	58	S	S	S
9	S	S	S	59	S	S	S
10	S	S	S	60	S	S	S
11	S	S	S	61	S	R	S
12	S	R	S	62	S	S	S
13	S	S	S	63	S	S	S
14	S	S	S	64	S	S	S
15	S	S	S	65	S	S	S
16	S	S	S	66	S	S	S

17	S	S	R	67	S	S	S
18	S	S	I	68	S	S	S
19	S	S	S	69	S	S	S
20	S	S	S	70	S	S	S
21	S	S	S	71	S	S	S
22	S	S	S	72	S	S	S
23	S	S	S	73	S	S	S
24	S	S	S	74	S	S	S
25	S	S	I	75	S	S	R
26	S	S	S	76	S	S	S
27	S	S	S	77	S	S	S
28	S	S	S	78	S	S	S
29	S	S	S	79	S	S	S
30	S	S	S	80	S	S	S
31	S	S	S	81	S	S	S
32	S	S	S	82	S	S	S
33	S	S	S	83	S	S	S
34	S	S	S	84	S	S	S
35	S	S	S	85	S	S	S
36	S	S	S	86	S	S	I
37	S	S	S	87	S	S	S
38	S	S	S	88	S	S	S
39	S	S	S	89	S	S	I
40	S	S	S	90	S	S	S
41	S	S	S	91	S	S	S
42	S	S	S	92	S	S	S
43	S	S	S	93	S	S	S
44	S	S	S	94	S	S	S
45	S	S	S	95	S	S	R
46	S	S	S	96	S	S	S
47	S	S	S	97	S	S	S
48	S	S	S	98	S	S	S
49	S	S	S	99	S	S	S
50	S	S	S	100	S	R	S

5. TARTIŞMA

Antibiyotiklerin sık veyanlışçakullanımı, antibiyotik dozlarının iyi ayarlanmaması, ve farklı infeksiyonların tedavilerinde sık kullanılması gibi sebeplere bağlı olarak antibiyotiklere karşı meydana gelen direnç gelişimesi tedavide zorluklara neden olmaktadır. Biz de çalısmamızda hastane enfeksiyonlarının en yaygın etkeni olan *E.coli'* de yine özellikle son yıllarda yaygın olarak kullanıma giren kolistin, tigeskili ve imipenem konsantrasyonlarına karşı direnç gelisimini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda gelen numunelerin % 71 kadın, % 29 erkek bireylerden oluşmaktadır. Bu oran *E.coli* enfeksiyonuna kadınların erkeklere oranla yaklaşık iki buçuk katı, kadar riskli kılmaktadır. Bu da idrar yolarındaki biyolojik yapılarından dolayıdır. Çünkü kadınların idrar yoları erkeklerin idrar yolarından kısadır. Bu biyolojik yapı sonucunda kadınlarda barsak florası olan *E.colinin* dışkılama sırasında idrar yoluna geçerek patojen duruma geçmesini daha kolay kılmaktadır. Çalışmamızdaki numunelerinin % 84 idrar olması bunu desteklemektedir. İmipenem gram negatif baktriler üzerinde en çok tercih edilen etkili ilaçlardandır.Fakat son zamanlarda imipeneme karşı direnç önemli şekilde gözlemlenmiş özelikle GSBL pozitif hastalarda direnç görülmüştür.

Türkiye'de yapılan bazı araştırmalarda imipenem ve meropenem direnci %33-72 oranında belirtilmiştir (71,73). Farklı çalışmalarda Özdem ve ark. (74). 2007 'de imipenem direnç oranı %32 olarak belirtirken bu sayı 2010 yılında %74'lere yükselmiştir.

Cesur ve ark. (72*). E.coli* suşları üzerinde en etkili olan antibiyotiklerden imipenem, meropenem ile siprofloksasinin, Klebsiella suşlarıüzerindeki etkili olanların tekrar imipenem ve meropenem ile üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler olduğunu tespit etmiştirler. Farklı bir çalışmada ise *E.coli* suşlarının %99' unun imipeneme ve %95' inin ise amikasine, ayrıca Klebsiella suşlarının ise %89' unun imipenem ve ampisine duyarlı olduğu belirtilerek bu mikroorganizmalar üzerine en etkili antibiyotikler olduğu bildirilmiştir.

Grandesso ve ark (75). Üriner enfeksiyonlarda izole edilmiş 430 GSBL pozitif *E. coli* kökeninin tümünü imipeneme duyarlı tesbit edip, piperasilin-tazobaktama %63,2 oranda duyarlık belirtmişlerdir (76).

Köse ve ark. idrar başta olmak üzere çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 96 GSBL pozitif *E.coli* kökeninin E-test yöntem yoluyla tümünü imipenem ve meropeneme duyarlı

bulumuş; piperasilin-tazobaktam, sefaperazon-sulbaktama karşı sırasıyla; %84.4 ve %81,25 oranlarda duyarlılık gözlemlemişlerdir.

GSBL pozitif üriner *E.coli*izolatları ile yapılmış iki farklı çalışmalarda Aşık ve ark (77) 80 izolatan birisini imipeneme dirençli bulurken, Mengeloğlu ve ark (78) 34 izolatın hepsinide imipeneme duyarlılık bulmuşlardır.

Çalışmamızda; imipenem'e %92 duyarlılık,%5 orta duyarlı, %3 direnç saptanmıştır. Bu sayı dünya değerleriyle uyumlu olmakla birlikte Türkiye verilerine göre daha yüksektir. Genel toplamda % 44'dü GSBL pozitif % 56'sı GSBL negatif bulunmuştur.GSBL pozitif oranlarımız çok çıkmıştır.Oranımızda ki artş farkını araştırmaya dahil olunan suş değerlerinin diğer çalışmalara kıyasla daha düşük olması, antibiyotik kullanım politikası, hastane ve ya bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Dünyada en yaygın hastalık etkenlerinden olması ve tedavisinde sık olarak antibiyotik kullanılması, kolay direnç kazanmış *E.coli* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde yeni ajan arayışlarının devamına neden olmuştur. (79,80). Tigesiklin, son yıllarda kullanıma girmiş, etkisi, ve direnç kazanımının diğer ajanlara göre daha az geliştiği bir antimikrobiyaldir (79,81).

Çalışmamızda tigesikline duyalılık oranı %100 olarak bulunmuştur. Bu oranı Karlı ve ark. (82). Vardar Ünlü ve ark. (83). Kaya ve ark. (84). Korten ve ark. (85). ve Altındiş ve ark. (86). %100 bulmuşlardır.

Çalışmamızda elde etiğimiz bulgularda, hastanemizde tigesiklinin GSBL üreyen *E.coli* enfeksiyonlarında halen uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir. Fakat zaman geçtikçe *E.coli* izolatlarının söz konusu ilaçlara karşı kazanacakları olası direnç durumunda günümüzde ki suşlara ait verilerin karşılartırma amaçlı olarak kullanılabilecektir.

Tigesiklini çoklu dirençli kökenlere karşı, kolistinle birlikte,seçilecek ilaç kılınmaktadır. Fakat dokudaki yüksek derişimi,tigesikline deri, karın içi ve yumuşak doku infeksiyonlarda üstünlük sağlarken, düşük serum derişimleri kan akımı infeksiyonlara ilişkin kullanımını güçleştirmektedir (87). Yarı yapay bir glisilsiklin olan tigesiklin, bakterilerin protein yapmasını engelleyip üremesini durduran bir antibiyotiktir.Tigesiklin klinisyenlerin yeni tedavi alternatiflerinden biridir.

Kolistin (polimiksin E) ve (polimiksin B), 1947'den beri bilinenpoli-miksinler ilesindendir. Hemen tüm antibiyotklere dirençli *P. aeruginosa, A. baumannii, K. pneumoniae ve S. maltophilia* gibi Gram-negatif infeksiyonların, günümüzde kolistini bir son seçenek ilaç olarak tekrar kullanılır hale getirmiştir (87).

Polimiksinlerin kullanıma alanı, uzun bir zaman sadece kistikli fibrozisli hastalardaki, çoklu ilaç direnci olan *P. aeruginosa* ile oluşan akciğer enfeksiyonuyla sınırlandırılmıştır (58). Son zamanlarda gözlenen çoklu ilaç direnci bulunan gram-negatif bakterileriyle (*Pseudomonas spp.ve Acinetobacter spp*.) oluşan enfeksiyonlarda sık artış ve tedavilerde yaşanan sorunlar polimiksinleri yeniden gündeme getirmişlerdir (60).

İnsanlardan uzak tutulduğu için bakterilerin direnç geliştiremediği kolistin, tarım ve hayvancılıkta o kadar yoğun kullanıldı ki bakteriler kendisine karşı bağışıklık geliştirmeye başladı.

Kolistinin etkisini sürdürmemesinin nedenlerinden biri aslında çok başarılı bir ilaç olmaması. Bakterileri öldürüyor ama organlara zararlı. Bakteriler bu yüzden tıp tarafından rafa kaldırılan ilaca karşı fazla bir direnç geliştirememişti. Oysa dikkatli davranan tıp dünyası ilacı insanlardan uzak tutarken, tonlarcası başta Çin'de olmak üzere, Avrupa'da ve başka ülkelerde tarım alanında kullanılıyordu. Ve bu da, bakterinin kendisini korumak için direnç geliştirmesini teşvik eden seçici baskıyı artırmıştı.

Çinli bilim insanları MCR-1 adı verilen yeni gen mutasyonunun Colistin'in bakterileri öldürmesini engellediğini tespit etti (90). Kurtoğlu ve ark. yapmış oldukları çalışmada kolistin direnci %5 olarak bildirilimiştir (71).

*P.aeruginosa*izolatları arasında karbapeneme direnç önemli bir problemdir. Bazı çalışmalarda %15-20'ye kadar çıkmaktadır. Bu izolatların bazıları gerçek çoklu ilaca dirençlidir ve sadece kolistin gibi ajanlara duyarlı olduğu bildirilmiştir (88).

Çalışmamız da kolistin direncini %3 oranda üç suşta tespit edilmiş olup, dirençli suşlar idrar ve kan örneklerinden elde edilmiştir. Kolistin'e ait direnç oranlarımız Türkiye verileriyle uyumlu olarak tesbit edilmiştir. *E.coli* bakterisiyle kolistin çalışmasına pek rastlanılmamakta kolistin antibiyotiği daha çok *P.aeruginosa, A. baumannii* ilgili çalışmalarda yoğunluktadır.

Laboratuvar şartlarının kısıtlı olmasından dolayı kolistin üzerine geniş çaplı çalışmalar yapılamadı. Kolistinin MCR-1 geni üzerinde geniş çaplı araştırma yapılabilir. Hastanelerin

özelikle yoğun bakım,yenidoğan,nefroloji veya üroloji gibi *E.coli* bakımından riskili olabilecek servislerde klinisyenlerin kolistin üzerinde detaylı çalışmaları gerekmektedir.

6. SONUÇ

İmipenem, tigeskilin ve son çare kolistinin uzun süre daha kulanmamız için antibiyotiklerin antibiyogram duyarlıklklarını göz önünde bulundurarak kulanmamız gerekmektedir. Sonuç olarak, bakterilerde antibiyotik direnci her gün giderek artmaktadır. Bakterilerde ki direnç gelişimi ve antibiyotiklerin çoklu direnç bakterileri seçilimi antibiyotik kullanımıyla ilişkilidir. Bu sebeple, akılcı ve kısıtlı antibiyotik kullanmaya özen gösterilmeli, antibiyotik seçerken, o birim ya da hastanedeki 'bakteri çevresi'nin direnç özelliklerine dikkat edilmelidir.

Antibiyotiklerin sık ve yanlış kullanımı, antibiyotik dozlarının iyi ayarlanmaması, farklıenfeksiyonların tedavisinde sık kullanımı gibi sebeplere bağlı olarak kulanılan antibiyotiklerde yüksek oranlarda direnç meydana gelmektedir (70). Antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların neden oldugu infeksiyonlarda, hastalık daha şiddetli seyretmekte, hastanede kalış süresi daha uzun olmaktadır. Ayrıca daha etkili ve pahalı ilaçların gerekmesi nedeniyle tedavi maliyeti de yükselmektedir (89).

Ülkemizdeki yapılan tüm çalışmaların sonuçlarını ve kendi çalışmamızın sonuçuyla karşılaştırsak ülkemizdeki direnç oranlarını yurt dışına kıyasla daha yüksektir. Antibiyotiklerin gereksiz ve sık kullanımının ve ileri jenerasyon antibiyotiklerin tedavilerde tek seçenek olarak kullanılmasının bu durumun nedeni olabileceği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Kubar A, Yapar M. Mikrobiyolojide moleküler tanı yöntemleri Mikrobiyolojide Kulanılan Yöntamlar Ders ve Uygulama Kursu. Ankara. 2000; 49-61.
2. Özgüneş İ.Akılcı Antibiyotik Kullanımında Hastane Pratiğinde Sorunlar. ANKEM Derg 2005;19: 185-189.
3. Saunders JR. Genetics and evolution of antibiotic resistance.Br Med Bull. 1984; 40(1):54-60.
4. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype.N Engl J Med. 1983; 308: 681-685.
5. Unat Ek Escherichia coli. Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi içinde. Ek Unat Dergah Tıp Yayınları, .Baskı,İstanbul, 1986;1,2: 546.
6. Chen HD, Frankel G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. FEMS Microbiol Rev. 2005;29.(1):83-98.
7. Konowalchuk J, Dickie N, Stavric S, Speirs JI. Properties of an *Escherichia coli* cytotoxin. Infect Immun. 1978;20 (2):575-577.
8. Arslan U, Cosar M, Tuncer I, Findik D. Escherichia vulneris peritonitis in a patient on CAPD. Perit Dial Int. 2008 ;28(6): 681-682.
9. Field D, Garrity GM, Sansone SA, Sterk P, Gray T, et al. Genomic Standards Consortium. Meeting report: the fifth Genomic Standards Consortium (GSC) workshop. 2008;12(2):109-113.
10. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: Enterobacteriaceae. In Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology. Elevent Edition, 2000: 365-377.
11. Erdem B: Enterobacteriaceae. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji içinde.Ş Ustaçelebi Ed. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, 1999:471-515.
12. Farmer JJ, Boatwrıght KD, Michael Janda J: Enterobacteriaceae: Giriş ve Tanımlama (çev. O Aktepe). Klinik Mikrobiyoloji (Manual of Clinical Microbiology) içinde. A Başustaoğlu, A Kubar, ŞT Yıldıran, M Tanyüksel (Editörler). Dokuzuncu Baskı, Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2009: 649-669.
13. McNally A, Alhashash F, Collins M, Alqasim A, Paszckiewicz K, Weston V, Diggle M. Genomic analysis of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* urosepsis. Clin Microbiol Infect 2013;19(8):E328-334.
14. Paradisi F, Corti G, Mangani V:Urosepsis in the critical care unit. Crit Care Clin,1 (2);1998:165-180.
15. Thran BH, Hussein HS, Hall MR Khaiboullina SF. Shiga toxin–producing *Esherichia coli* in beef heifers grazing an irigated pasture. J Food Prot 2001;64(10):1613-1616.

16. Laupland KB: Incidence of bloodstream infection: a review of poullation based studies. Clin Microbiol Infect 2013; 19 (6):492-500.

17. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL: Pathogenic Esherichia coli Nat Rew Microbiol 2004; 12 (2)(S):123-140.

18. Joris MA, Pierard D, De Zuter L. Occurrence and virulence paterns of *E. coli* O26,O103,O111 and O145 in slaughter cattle. Vet Microbiol 2011;151(3-4):418-421.

19. Paradisi F.corti G, Mangani V: Urosepsis in the critical care unıt Crit care clin 1998 (14):165-180.

20. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Enteric Gram-Negative Rods (Enterobacteriaceae). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. The McGraw-Hill Companies. edition, 2004; (p): 248- 255.

21. Eedem, B. Escherichia coli Prof.Dr. Şemsettin Ustaçelebi Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi,1. Baskı. 1999: 480-485.

22. Berkiten, R. Escherichia. Tıbbi Mikrobiyoloji 2nd Ed: E. Bozkaya. Nobel Tıp Kitabevi. 2005: 65-69.

23. Kepekçi, P. İdrar Kültürlerinde İzole Edilen Escherichia coli ve Klebsiella Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Klinig 2005: 7-9.

24. Wıkıpedıa Escherichia coli Erişim:(http//tr.wikipedia.org/ wiki *Escherichia coli*): 2006.

25. Topeli A, Ünal S. Üriner Sistem infeksiyonları. İnfeksiyon Hastalıkları.İç Hastalıkları Kitabı. Ed: G. İliçin, K. Biberoglu, G. Süleymanlar, S.Ünal. Güneş Kitabevi, 2. Baskı. 2003:3015-3020.

26. Söyletir, G. Topçu, A.W. Escherichia coli İnfeksiyonları. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji cilt 2. Ed: A.W. Topçu G, Söyletir MD Oganay Nobel Tıp Kitabevi. 2002: 754-758.

27. Todar, K. Pathogenic E. Coli Erişim (htt://textbookofbacteriology. net/e.coli.html) :2002.

28. Akalın, H.E. Antibiyotiklere Direnç Gelişimesi ve Antibiyotik Kulanımı (H.E.Akalın Editör). Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Atimicrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi Limited Şirketi, Ankara 1994:38-39.

29. Chambers, F.H. Goodman LS, Gilman, A. Goodman and Gilman's Pharmacologial Agents. 2001:1143-1169.

30. Tabak, F. Klinikte Antibiyotik Kulanımı. Tabak F, Öztürk R, Aktuğul Y (editörler) Antibiyotik Kulanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozimyu. 2002: 101-109.

31. Demir N. Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörleinin araştırlması. Uzmanlık Tezi İstanbul 2006:23-25.

32. Özgüneş İ. Akılcı Antibiyotik Kulanımında Hastane Preaiğinde Sorunlar. ANKEM. Dergi.2005;19: 185-189.

33. Çolak D.Antimikrobiyal İlaçlar ve etki mekanizmaları.İçinde Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara : Güneş Kitabevi. 1999: 81-85.

34. Gür, D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç In: Topçu, AW. Söyletir, G. Doğanay, M. (editörler).İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2002:182-193.

35. Gülay Z. Hücre duvarı sentezini etkileyen antibiyotikler. ANKEM Dergi 2003; 17:192-204.

36. Kizirgil A, Yakupoğuları Y,Şenol FF, Toraman AZ. Kan kültürü örneklerinde genişleşmiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basilerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması,İnfeksiyon Derg 2005;19:111-114

37. Saba R, Usluler G. Ertapenem.Flora 2008; 13(ek):03-19.

38. Öncül O. Tabak F, Öztürk R, Aktuğlu Y. Antibiyotikler: Akılcı Antibiyotik Kulanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumu. 2002:23-28.

39. Şensoy G. Yeni sefalosporinler. J Pediatr Infect Dis 2011; 5 (Suppl 1): 95-98.

40. Çalangu S. Yeni Bir Karbepenem: Ertapenem. ANKEM Derg 2003; 17:260-262.

41. Akalın, H.E, Antibiyotiklere Direnç Gelişmesi ve Antibiyotik Kulanımı (H.E Akalın Editör). Klinik Uygulamalarda Antiyobiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi Limited Şirketi, Ankara,1994;38-39.

42. Levinson W, Javet E. Microbiyology & Immunology. Seventh edition;2002: 118-121.

43. Jacobey GA, Medeiros AA. Minireview: more Extended –Spectrum Beta Lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991;9:1967-1704.

44. Saunders JR. Genetics and evolution of antibiotic resistance. British Medical Bulletin 1984;(1)40:54-60.

45. Lee SC, Lee CW, Shih HJ, Huang SH, Chiou MJ, See LC. Risk factors of mortality and comparative in-vitro efficacy of anidulafungin, caspofungin, and micafungin for candidemia. J Microbiol Immunol Infect. 2014;47(3):245-53.

46. Öztürk R. Günümüzde Direnç Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Geliştirme ve Durumu Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumda Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumu. İstanbul, Türkiye,Kasım 2002:83-100.

47. Naas, T, Poirel L,Karim A, Nordmann P. Molecular characterization of In 50 aclassl integronencoding the gene for the extendedspectrum beta-lactamase VEB-1 in pseudomanas aeruginosa. FEMS Microbiol Leett, 1999;176(2):411-419.

48. Gür, D. Beta-laktamazlar. Flora ,1997;.2(1):3-5.

49. Nordmann P. Trends in Beta-Lactam resistance among Enterobacteriace .Clin Infect Dis 1998;27 (suppl.1): 100-106.

50. Gür, D. ESBL 'lerin genel özelikleri ve ESBL tipleri. ın: Ünal S, Vahaboğlu Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(editörler). Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar; Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004: 5-13.

51. Bradford PA. Extended psectrum beta-lactamases in the 21 st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Rev 2001; 14: 933-951.

52. Stürenburg, E. Mack, D. Extended spectrum beta-lactamases: Implications fort he clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. J Infect 2003;47: 279-295.

53. Hawser, S.P. Bouchillon, S.K. Lascols C.et al. Susceptibility of European Eschirichia coli clinical isolates form intra-abdominal infections, extendedspectrum B-occurrence resistance distribution,and molecular characterizaton of ertapenem resistant isolates (SMART 2008-2009). Clin Microbiol Infect 2012:18:2.

54. Gülay, Z. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. 1.Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. şti. Ankara 1999: 91-108.

55. Kong, KF. Schneper, L. Mathee, K. Beta-lactam Antibiotics: From Antibiosis to Resistance and Bacteriology. APMIS,2010;118(1):1-36.

56. Öztürk, R. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Geliştirme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Enfeksiyonlar Sempozyumu. İstanbul, Türkiye, 2002: 83-100.

57. Yüce A. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik dergisi,2001; 14(2):41-46.

58. Falagas, ME, Kasiakou, SK. Colistin : the revival of polymyxins fort he management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005;40:1333-1341.

59. Giamarellou, H. Multidrug-resistant gram negative bacteria: how to treat and for how long. Int J Antimicrob Agents 2010; 4: 36-50

60. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: there-emerging antibiotic for multidrug–resistant gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis 2006:589-601

61. Bradford, PA. Tigecycline, A. First in class glycylcycline. Clin Microbiol Newsletter 2004;26(21): 163-168.

62. Noskin, GA. Tigecycline. A new glycylcycline for treatment of serous infections. Clin Infect Dis 2005;41:303-314.

63. Baauer, G. Berens, Projan, SJ. Hllen W Comparison of tetracycline and tigecyline bindingto ribosomes mappey by dmethyluslphate and drug-direct FE2+clevage of 16S rRNA. J Antimicrob Chemother 2004;53:592-599

64. Falagas, Me. Kopterides, P. Old. Antibiotis for infecctions in critically ill patients. Curr Opin Crit Care 2007;13:592-597.

65. Hellinger, WC. Brewer, NS. Carbapenems and monobactams: Imipenem, meropenem, and aztreonam. Mayo Clin Proc Jor 1999;74:42-66.

66. Jorgensen, JH. Laboratory ıssues in the detection and reporting of antibacterial resistance. Infect Dis Clin North Am 1997;11:785-802.

67. Gülay Z. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Tememl ve Klinik Mikrobiyoloji Ankara Güneş Kitabevi. 1999: 91-108.

68. Crraig WA. Pharmocokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. Clin Infect Dis 1998: 26- 31

69. Baker CN, Stocker SA, Culver DM et al. Comparison of E-test to agar dilution, broth microdilution and agar difusion susceptibity testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol 1991;29: 533-538.

70. Akay, H. Duranay, M.S. Akay, A. Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen Mikroorganizmaların Dagılımı ve *Escherichia coli* suşlarında Antibiyotik Duyarlılıgı. İst. Tıp. Fak Derg 2006;69: 1-4

71. Kurtoğlu, MG. Opuş, A. Kaya, M. Keşli, R. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç (2008-2010). ANKEM Derg 2011;25: 35-41.

72. Cesur, S. Albayrak, F. Özdemir, D. Kolcu, Z. Tekeli, E. Hastanede yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen gram negatif çomakların antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 33: 174-176.

73. Cetin, ES. Kaya, S. Tetik, T. Cicioğlu Arıdoğan B. Klinik Orneklerden İzole Edilen Acinetobacter baumannii suşlarının orneklere gore dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2006;20: 202-205

74. Özdem, B. Gurcelik, FC. Celikbilek, N. Balıkcı, H. Acıkgoz, ZC. Ceşitli klinik örneklerden 2007-2010 yıllarında izole edilen Acinetobacter turlerinin antibiyotik direnç profilleri. Mikrobiyol Bul 2011; 45: 526-534.

75. Grandesso, S. Sapino, B. Mazzucato, S. Alessandrini, R. Solinas, M. Gion, M. Study on invitr susceptibility of ESBL-positive *Escherichia coli* isolated from urine specimens. Infez Med: 2010;18(3): 162-168. .

76. Köse, Ş. Ece, G. Türken, M. Gözaydın A. Tatar, B.Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında İzole Edilen Bakterilerin Tigesiklin ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığının İncelenmesi. Fırat TıpDergisi: 2012; 17(1): 10-13.

77. Aşık, G. Çiftçi, İH. Aktepe, OC. Çetinkaya, Z. Altındiş, M. In Vitro Activity of Fosfomycin Against Extended Spectrum-Lactamase (ESBL) Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains. Turk J Immunol: 2008;13: 1-4.

78. Mengeloğlu, FZ. Demircan, F. Oduncu, MK. İdrar Kültürlerinden Soyutlanan Escherichia coli izolatlarınınDuyarlılıklarının Değerlendirilmesi. ANKEM Derg: 2011; 25(2): 99-102.

79. Pullukçu, H. Ulusoy, S. Tigesiklin. Flora. 2008; 13(Ek 3): 3-16

80. Çalık, N. Akova, M. Tigesiklin. ANKEM Derg. 2007; 21 (ek-2): 29-33.

81. Stein, GE. Craig, WA. Tigecycline: A Critical Analysis. Clin Infect Dis. 2006; 43(4): 518 -524

82. Karlı, Ş. Ceran, N. Genç, İ. İnan, A. Öztürk, D. Taşdemir, C. Uzun, B. Aksaray, S. Göktaş, P. Toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen GSBL pozitif Escherichia coli suşlarında tigesiklin duyarlılığının araştırılması. ANKEM Derg. 2015; 24(4): 209-214.

83. Vardar-Ünlü, G. Ünlü, M. Yağmuroğlu, A. Yıldırım D. Efficacy of Tigecycline to *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Specimens. ANKEM Derg. 2009;23(1): 22-25

84. Kaya, I. Göker, G. Bal Kayacan, Ç. Gürler, N. Yoğun bakım isolatı Gram negatif bakteri – lerde tigesiklin duyarlılığı. ANKEM Derg. 2007; 21(3): 142-145.

85. Korten, V. Söyletir, G. Leblebicioğlu, H. Usluer, G. Dündar, D. In vitro activity of tigecycline against pathogens from Turkey-TEST Program 2006. Int J Antimicrob Agent 2007;29(Suppl 2): 517.

86. Altındiş, M. Şafak, B, Demirdal, T, Çetinkaya, Z, Aktepe, OC. Kan kültürlerinden izole edi- len etkenlerde tigesiklin duyarlı-lığı. ANKEM Derg 2007; 21(3):171-174.

87. Giamarellou, H. Poulakou, G. Multidrug-resistant Gram-negative infections: What are the treatment options? Drugs 2009; 69:1879-1901.

88. Toleman, MA. Rolston, K. Jones, KN. et al. blaVIM.7, an evolutionarily distinct metallo-lactamase gene in a Pseudomonas aeruginosa isolate from the United States. Antimicrobiol AntimicrobiolAgents and Chemother 2004; 48: 329-332.

89. Durupınar, B. Antibiyotiklere Dirençte Yeni Egilimler. Klimik Dergisi. Cilt 14, 2001 Sayı;2: 47-56.

90. Liu, YY; Wang, Y; Walsh, TR; Yi, LX; Zhang, R; Spencer, 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. 2015; PMID 26603172.