

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
Mikrobiyoloji ve Klinik  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**ÜROPATOJEN ESCHERICHIA COLI SUŞLARINDA  
VİRULANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

**Shahla SHOKOUHIZADEH (ÇAM)**

T 49050

İstanbul-1996

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

## **İÇİNDEKİLER**

---

---

---

*Sayfa No*

<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>19</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>23</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>33</b>
<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>44</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>46</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>48</b>

Uzmanlık eğitimim süresince çalışmamın gerçekleşmesinde yardımını esirgemeyen, sürekli yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özdem ANĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doğrudan tez çalışmam ile ilgili olarak, yeri geldikçe benim için iyi dilek ve isteklerini, dostça desteklerini ve sevgilerini, davranışları ile ortaya koyarak, hissettirerek farkında bile olmadan bana en büyük yardımlarda bulunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Şengül DERBENTLİ'ye içtenlikle teşekkür ederim.

Kıymetli bilgi ve katkılarından yararlandığım, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kurtuluş TÖRECİ, Sayın Prof. Dr. Rahmiye BERKİTEN, Sayın Prof. Dr. Ergene BÜGET, Sayın Prof. Dr. Selim BADUR, Sayın Prof. Dr. Emel BOZKAYA, Sayın Prof. Dr. Mine KÜÇÜKER, Sayın Prof. Dr. Bülent GÜRLER, Sayın Prof. Dr. Nezahat GÜRLER'e teşekkür ederim.

Ayrıca Sayın Doç.Dr. Gülden YILMAZ'a, Sayın Doç.Dr. Arif KAYGUSUZ'a, Sayın Doç.Dr. Betigül ÖNGEN'e Sayın Doç.Dr. Salih TÜRKÖĞLU'na ve Sayın Doç.Dr. Ali AĞAÇFIDAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresi içerisinde her zaman yanımda bulunan ve moral katkıları olan değerli hocalarım Sayın Y.Doç. Dr. Zehra GÜVENER, Sayın Doç.Dr. Çiğdem BAL'a yürekten teşekkürlerimi sunuyorum.

İlgi ve yakınlıkları ile bana destek olan Anabilim Dalı arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmam için gerekli imkan ve finansmanı, dayanışma, sevgi, anlayış ve sabır içerisinde sağlayan Eşim Dr. Mustafa ÇAM'a;

Özlemlerini yüreklerinde biriktiren ve sevgiye dönüştürmeyi başaran çocuklarım Peyman ve Peyam'a;

Çocuklarıma benim yokluğumu aratmayan, eğitimlerini benim paralelimde veren ve bakan ayrıca bana ve eşime her zaman desteklerini esirgemeyen Annem ve Babam'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tanıştığımdan beri beni yalnız bırakmayan ve her konuda yardım eden arkadaşlarım Sayın Vet. Hek. Hengameh ZANDİ, Sayın Yük. Hem. Meryem SAĞLAR'a gönülden teşekkür ederim.

## GİRİŞ

İdrar yolu infeksiyonlarının (İYİ) % 80'den fazlasında etken üropatojen *Escherichia coli* (UPEC) suşlarıdır. Klebsiella ve Proteus cinsleri ise *E.coli*'den sonra ikinci sırada yer almaktadır. İdrar yolu infeksiyonları genellikle 10 yaşından küçük kız çocuklarında ve 20-40 yaş grubundaki kadınlarda görülür. Erkeklerde ise idrar yolu infeksiyonları insidansı daha düşüktür. Bir teoriye göre bunun nedeni, erkeklerde kolonun üretradan uzak olması ve üretranın uzunluğunun daha fazla olmasıdır. Diğer bir teoriye göre, kadınlarda üretranın girişi ile vaginal kanal çok yakın olduğundan, bakteriler bu bölgede rahatlıkla kolonize olmaktadır (61,68).

*E.coli* suşlarına üropatjen özellik kazandıran başlıca faktörler; epitel hücrelerine yapışmaları (adhezyon), aerobaktin sentezlenmesi ve hemolizin oluşturmalarıdır (12,16,26,55,70).

İdrar yolunun en önemli konak savunma mekanizması idrar çıkarılmasıdır. İdrar akımı bakteri kolonizasyonunu önlemekte ve bakterilerin mesanede çoğalmadan dışarıya atılmasının sağlamaktadır. Bu nedenle bakteri aderansı idrar yolu infeksiyonlarında önemli bir faktördür.

*E.coli*'nin adhezinleri çeşitli canlıların eritrositlerini mannoza duyarlı (mannose sensitive=MS) veya mannoza dirençli (mannose resistant=MR) olarak aglutine eder. Bu bakterinin tip 1 fimbriyaları MS hemaglutinasyon verir. MR adhezinleri ise iki grupta toplanabilir: 1-P kan grubu antijenlerine bağlanan adhezinler, yani P fimbriyalar, 2-X adhezinler (X fimbriyalar) olarak adlandırılan afimbriyal adhezinlerdir. Bunlar S, M, G, Dr...gibi gruplara ayrılmıştır.

Tip 1 fimbriya (F1 pilusu) taşıyan UPEC suşları başta kobay olmak üzere fare, at gibi bazı hayvan eritrositlerini, Candida hücrelerini aglutine etme özelliğine sahip olup, bu olay mannoz varlığında inhibe olur. Bu nedenle bu tip fimbriyaya MS fimbriya adı da verilmektedir. Tip 1 fimbriya ayrıca *E.coli*'nin insan üretral, ürogenital mukoza epitel hücrelerine ve idrarda normalde bulunan glikoprotein yapısındaki

Tamm-Horsfall proteinine (THP) tutun-masını da sağlamaktadır. Tip 1 fimbriyanın MS hemaglutinasyon vermesi, D-mannoz içeren glikoproteinlerin oligosakkarid kısımlarının bu fimbriya için reseptör oluşturabileceğini düşündürmüştür (26,30,70). Farklı antijenik yapıda olan P fimbriyalar tanımlanmıştır. Ancak hepsinde ortak antijen olarak  $\alpha$ -D-Gal- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Gal (globobioz) mevcuttur.

P fimbriya (F7-F13 Pitusu) insan eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahip olan ve D-mannoz varlığında bu özelliği değişmeyen yani MR hemaglutinasyon oluşturan bir fimbriyadır. P fimbriya olarak adlandırılmasının nedeni, özgül olarak eritrositlerde ve üroepitelyal hücrelerdeki P kan grubu antijenlerine bağlanmasıdır (55). Bu tip fimbriya bazı *E.coli* suşlarında ve ancak belirli çevresel üreme koşullarında bulunur. P fimbriyalar üromukoide yapışmazlar, ancak üroepitelyal hücrelere yüksek kapasite ile bağlanma yeteneğindedirler. Piyelonefritli hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarının, diğer idrar yolu infeksiyonu etkenlerinden daha sık olarak P fimbriya taşıdığı saptanmaktadır. Hem MS, hem de MR fimbriyalar aynı bakteri suşu üzerinde bulunabilirler (26,27).

*E.coli*'nin diğer önemli virulans faktörü aerobaktin oluşumudur. *E.coli* aerop enerji metabolizmasına sahiptir ve üreme için serbest demire gereksinim duyar. Ancak, doymamış demir bağlayan proteinleri içeren vücut sıvılarındaki demir miktarı azdır. Demir sınırlayıcı koşullarda başarılı biçimde çoğalma yeteneğindeki patojenler, ya proteine bağlı demiri asimile edebilmeli veya kandan kazanabilmelidir. *E.coli* suşları iki ayrı demir bağlayıcı siderofor meydana getirebilir; bunlar aerobaktin ve enteroselindir. Bu sideroforlar demire yüksek derecede uygunluk gösterir ve proteine bağlı demirin bakteriye kazandırılmasını sağlar. Asendan idrar yolu infeksiyonlarında demir bağlamanın esas rolü aydınlığa kavuşmamıştır, ancak piyelonefrit ve sistit olgularında aerobaktin yapan suşlara daha sık rastlanmaktadır (16,32).

*E.coli* suşlarının başka bir önemli virulans faktörü ise bakteriyel hemolizinlerdir. Bakteriyel hemolizinler bir grup ekstrasellüler sitotoksik polipeptid olup, eritrositleri eritirler. Birçok hemolitik *E.coli* suşu protein yapısında, sitolitik bir toksin salgılar. Bu toksine  $\alpha$ -hemolizin adı

verilmektedir. Ayrıca hücreye bağılı  $\beta$ -hemolizin ve salgılanan diğere hemolizinler de belirlenmiştir. Ancak bunların klinik önemi ve sıklıkları konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır (75,76).

Bu çalışma, idrar yolu infeksiyonlu hastalardan izole edilen *E.coli* suşları ile sağlıklı çocukların dışkı örneklerinden normal flora bakterisi olarak izole edilen *E.coli* suşlarının virulans faktörlerini karşılaştırmak ve idrar yolu infeksiyonlarında hangi virulans faktörlerinin rol oynadığını saptamak amacıyla planlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### *Morfoloji ve boyanma özellikleri:*

*Escherichia coli* insan ve hayvanların kalın barsağında predominant olarak bulunur. Yaklaşık olarak 2-3 µm boyunda ve 0,6 µm eninde, düz ve uçları yuvarlak bakterilerdir. Canlıdan alınan materyallerden hazırlanan preparatların direkt incelemesinde çok kısa, oval, uygun olmayan koşullarda üretildiklerinde veya antibiyotiklerle temasa geldiğinde ise çok uzun şekillerde görülebilir. Peritrik kirpikli olmasına karşın, hareketleri yavaştır. Spor oluşturmazlar. Bazı suşları kapsüllüdür ve katı besiyerlerinde mukoid koloniler meydana getirir. Anilin boyalarıyla kolay boyanır, Gram negatiftir (2,7,10,25,39).

### *Üreme özellikleri:*

*E.coli* fakültatif anaerop bir bakteridir. Kan, serum, asit sıvısı, glikoz gibi maddeler ilâve edilmemiş adi besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Optimal üreme ısısı 37°C, optimal pH 7-7,2'dir, fakat 20-44°C ve pH 5-8 arasında ürerler (2,7,24,34,43).

Buyyon ve peptonlu suda bol olarak ürer ve homojen bir bulanıklık meydana getirir. Dipte hafif bir çöküntü oluşur ve bu çöküntü tüp çalkalandığında kolaylıkla dağılır. Daha sonra yüzeyde ince bir zar oluşur. Ağarda genellikle 2-3 mm çapında parlak, konveks, kenarları düzgün, gri-beyaz renkte S kolonileri şekilde ürer, fakat besiyerinde tekrarlanan pasajlarda kaba, mat ve granüler R koloniler oluşur, kapsüllü suşları özellikle düşük sıcaklıkta veya orta derecede azot ve fosfat bulunan, yüksek karbonhidratlı ortamda inkübe edildiğinde mukoid koloniler meydana getirir (2,7,10,25,39, 68).

*E.coli*'nin bütün suşları glikoz ve laktozu asit ve gaz oluşturarak fermente ederken, çoğunluğu manitolü de fermente eder. Laktozu fermente eden bakterilerde hem β-galaktozido-permeaz hem de β-galaktozidaz enzimi bulunur. Laktoz β-galaktozido-permeaz enzimi aracılığıyla bakteri hücresi içerisine girmekte ve β-galaktozidaz enzime ile parçalanmaktadır. Bir bakteride β-galaktozidaz enzimi mevcut, fakat

$\beta$ -galaktozido-permeaz enzimi bulunmuyorsa bu bakteri laktozu fermente edemez. Bu enzimin bulunmadığı durumlarda laktoz bakteri içerisine girememekte ve  $\beta$ -galaktozidaz enzimi de laktozu parçalayamamaktadır (2,7,10,25,39).

### ***Biyokimyasal ve fiziksel özellikleri:***

*E.coli*'nin laktozu çabuk fermente etmesinin ve bundan gaz oluşturmasının diğer barsak bakterilerinden ayırımında önemi vardır. *E.coli* içerisinde laktoz bulunan eozin-metilen mavisi agarda ve Endo agarda refle veren koloniler oluştururken, SS ve Mac-Conkey besiyerinde kırmızı koloniler oluşturur (2,7).

*E.coli* nitratları nitritlere çevirmez, üreyi hidrolize etmez,  $H_2S$  oluşturmaz ve potasyum siyanürlü besiyerinde üremez (2,7,10,25,39). Bu bakterinin IMVIC olarak adlandırılan dört biyokimyasal özelliği; (triptofandan indol oluşturulması testi, metil kırmızısı testi, Voges-Proskauer testi ve karbon kaynağı olarak sitratı kullanma yeteneği) +++ olarak gösterilir (2,7).

*E.coli* sporsuz olduğu halde dış etkenlere oldukça dayanıklıdır. Isıya fazla dirençli değildir.  $55^\circ C$ 'ye 1 saat,  $60^\circ C$ 'ye 20 dakika dayanır.  $120^\circ C$ 'de otoklavda kolaylıkla ölür, soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı ise dirençsizdir (7,24,34,43,60).

### ***Antijen yapısı:***

*E.coli* karmaşık bir antijen yapısına sahiptir (39,60). Antijenik özellikleri ilk kez 1944 yılında Kauffmann tarafından incelenmiş, yapılan serotiplendirme ve sınıflandırma sayesinde farklı araştırmaların sonuçlarını karşılaştırmak mümkün olmuştur (24).

*E.coli*'nin O (somatik), H (kirpik), K (kapsül) antijenleri bulunur. O antijenleri tipi, H ve K antijenleri subtipi belirler (8,60).

*O Antijeni:* Polisakkarit-fosfolipid-protein kompleksi olup, ısıya, alkole dayanıklı, formaldehide ise dayanıksızdır. Bugüne kadar 171 farklı

*E.coli* O antijeni belirlenmiştir. Bunlardan en çok 25'ine rastlanmaktadır (2,5,7,8,10, 24,39,60).

**H Antijeni:** Protein yapısında olup, 100°C'de ısıtılmakla alkol ve proteolitik enzimlerle harap olur, fakat formaldehide dayanıklıdır. Yarı katı besiyerlerinde suşun pasajı ile H antijeni ve hareket gelişir. *E.coli*'nin 56 ayrı H antijeni belirlenmiştir. Tıbbî mikrobiyoloji bakımından ancak 20'si önemlidir (2,5,7,8,24,39,60).

**K Antijeni:** Polisakkarit yapısında olup. 100-200°C'deki ısıya duyarlıdır. *E.coli*'nin 90'dan fazla K antijeni bildirilmiştir (7,8,10). K antijeni, birbirinden farklı olan ve L, A ve B harfleri ile gösterilen bir antijen grubudur. Bir *E.coli* suşunda K antijenlerinin hepsi birden bulunmaz, L, A veya B antijenlerinden biri bulunabilir (2,7,8,60).

**L Antijeni:** Isıya dayanıksız bir antijendir. 100°C'de bir saat ısıtıldığında, antijenitesini kaybeder. Bazı L antijenleri ile fimbriyaların, birçok özellikleri bakımından birbirine benzediği belirlenmiştir. Örneğin; K88 (=F4) ve K99 (=F5) fimbriya antijenlerine benzer L antijenleridir. Bu antijeni taşıyan *E.coli* suşları hemolitik, ve fındık faresi ve tavşanlar için nefrotoksiktir. Yaklaşık 27 L antijeni bulunmaktadır (2,7,24,60).

**A Antijeni:** L ve B antijenlerine göre ısıya daha dirençli olarak tanımlanabilir. 120°C'ye 2,5 saat dayanır. Özellikle 0:8, 9, 20 ve 101 antijenlerini taşıyan *E.coli* suşları A antijenini de oluşturma yeteneğindedir (2,7,60). Yaklaşık 26 A antijeni bilinmektedir.

**B Antijeni:** Isıya duyarlılık yönünden L antijenlerine benzer. 100°C'de 1 saat ısıtılmakla harap olurlar. B antijenleri her suşta bulunmaz. Fakat gastroenterit yapan suşlarda daima bulunur. 25'den fazla B antijeni bilinmektedir (2,7). B antijeni, *E.coli*'nin patojenite ile ilgili olan başlıca kapsül antijenidir. B<sub>1</sub>'den B<sub>7</sub>'ye kadar rakamlarla gösterilen yedi ayrı serotip belirlenmiştir. B<sub>4</sub>-B<sub>7</sub> antijenlerinin, çocuklardaki epidemik diyarelerde etken olan *E.coli* suşlarında bulunduğu gösterilmiştir (60).

### ***Fimbriyalar:***

Enterobacteriaceae ailesindeki diğer cinslerde olduğu gibi, *E.coli* suşları antijenik, yapısal ve genetik açılarından farklı fimbriyalar taşırlar. Fimbriyalar antijenik olup bakterilerin serotipi ve grupları için spesifik değildirler. Katı besiyerlerinde tekrarlanan pasajlarda kaybolabilirler. Fakat bakterilerin sıvı besiyerlerinde üretilmeleri bunların gelişmelerine sebep olur (2,7,68).

Fimbriyalar bakterinin epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan, protein yapısında ipliksi organellerdir. Fimbriyalı bakteriler insan ve değişik hayvan eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahiptirler. Fimbriyasız mikroorganizmalar ise bu özelliği göstermezler (68). Bazıları ile oluşan hemaglutinasyon mannoz tarafından önlendiğinden, bunlar MS, hemaglutinasyonu mannoz tarafından önlenemeyenler ise, MR fimbriyalar olarak adlandırılır (2,7,26,27). Bakterinin hücrelere tutunması o dokuda kolonizasyonuna neden olduğundan, fimbriya antijenleri kolonizasyon faktör antijenleri (Colonization Factor Antigens=CFAs) olarak da tanımlanır ve bunlar özellikle üriner sistem ve barsak infeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynar (7,10,24). Üriner sistemde infeksiyon oluşturan bazı suşlar F1 (tip 1) fimbriya veya F7-F13 fimbriya= (P fimbriya) taşırlar. Bu suşlar fimbriyaları yardımı ile hücrelere tutunup idrar akımına karşı koyarak patojenitelerini arttırlar. Böyle suşlara üropatojen *E.coli* adı verilir (13,15).

### ***Oluşturduğu infeksiyonlar:***

*E.coli*'nin etken olduğu infeksiyonların başında idrar yolu infeksiyonları gelir. Ayrıca akciğer infeksiyonlarında etken olabilmekte ve nozokomiyal pnömonilerin yaklaşık %50'sinde etken olduğu bildirilmektedir (7,39,43,60). Kolesistit, kolanjit (2,7), peritonit (7,34,39) çeşitli perineal abseler, yenidoğan septisemi ve menenjitleri (2,5,24,34) ve daha seyrek olmak üzere sinüzit, otit, endokardit, flebit, apandisit, yara infeksiyonları gibi lokal iltihaplamalar yaptığı bilinmektedir (7,25,60,68). Burada özellikle idrar yolu infeksiyonları üzerinde durulacaktır.

İnsanlarda infeksiyon genellikle anatomik ve fonksiyonel olarak idrar yolu anomalisi olmayanlarda gelişir. Hayat boyunca erkeklerin yaklaşık %12'si, kadınların %10-20'si semptomatik idrar yolu infeksiyonu (38,48), ve daha yüksek oranda asemptomatik bakteriüri (ABÜ) geçirmektedir (38). Bakteri barsaktan idrar yoluna ve böbreğe (asendan yol) ya da kan veya lenf yoluyla (hematojen yol) geçer. Asendan yol normal popülasyonda özellikle kadınlar için önemlidir. Bu yolla üretradan (üretit), mesaneye (sistit), oradan üreter ve böbreğe (piyelonefrit) de geçebilir. Bu tip infeksiyonlar genellikle Gram-negatif bakteriler tarafından oluşturulur. Hematojen infeksiyonlar genellikle Gram-pozitif bakteriler (örn: *Staphylococcus aureus*) tarafından meydana getirilir. Hematojen infeksiyonlar asendan infeksiyonlardan daha seyrek görülür (2,68).

İdrar yolu infeksiyonları birçok defa klinik belirti vermez, semptomsuz olarak seyredebilir. Klinik belirti veren olgular ya idrar kesesinde lokalizedir ya da böbrek pelvisine yayılmıştır. Böbreğe yayılma idrar reflüsü sonucu oluşur. Böbrek veya idrar kesesi taşı, üreter darlığı, prostat hipertrofisi gibi idrar akışını zorlaştıran nedenler idrar yolu infeksiyonu insidansını artırır. Prostat hipertrofisi olan erkeklerde de bu nedenle sistit veya piyelonefrite sık rastlanılır (2,7,15,68).

İdrar yolu infeksiyonları daha çok bezleme dönemindeki bebeklerde, gebe kadınlarda, idrar yolu obstrüksiyonu olan hastalarda veya idrar yoluna 5 günden fazla kateter uygulanan hastaların yaklaşık %50'sinde görülür. Kalıcı sonda uygulananları idrar yolu infeksiyonundan korumak hemen hemen mümkün değildir. Bu durumlarda antibiyotik tedavisinin yanısıra, kateterin çıkarılması ile mesane bakteriden temizlenir (2,68).

### ***Virulans faktörleri:***

Patojen bakteriler konağın vücuduna girdikten sonra üreyerek, çoğalır ve belirli hasarlar meydana getirir. Bu sürecin başarısı ya da başarısızlığı konağın savunma mekanizması ve bakterinin virulans faktörleri ile yakından ilişkilidir (16).

*E.coli* insanların normal barsak florasında yaygın olarak bulunan kommensal bir bakteridir. Bu bakterinin özellikle belirli virulans faktörlerine sahip olan suşları ise, çeşitli infeksiyonlara neden olur. İdrar yolu infeksiyonu etkeni olan *E.coli* suşlarının bazı virulans faktörlerine sahip olduğu bilinmektedir. Bunlardan en önemlileri fimbriyal adhezinler, aerobaktin ve hemolizindir (Şekil 1) (68).

### *I. Fimbriyal adhezinler:*

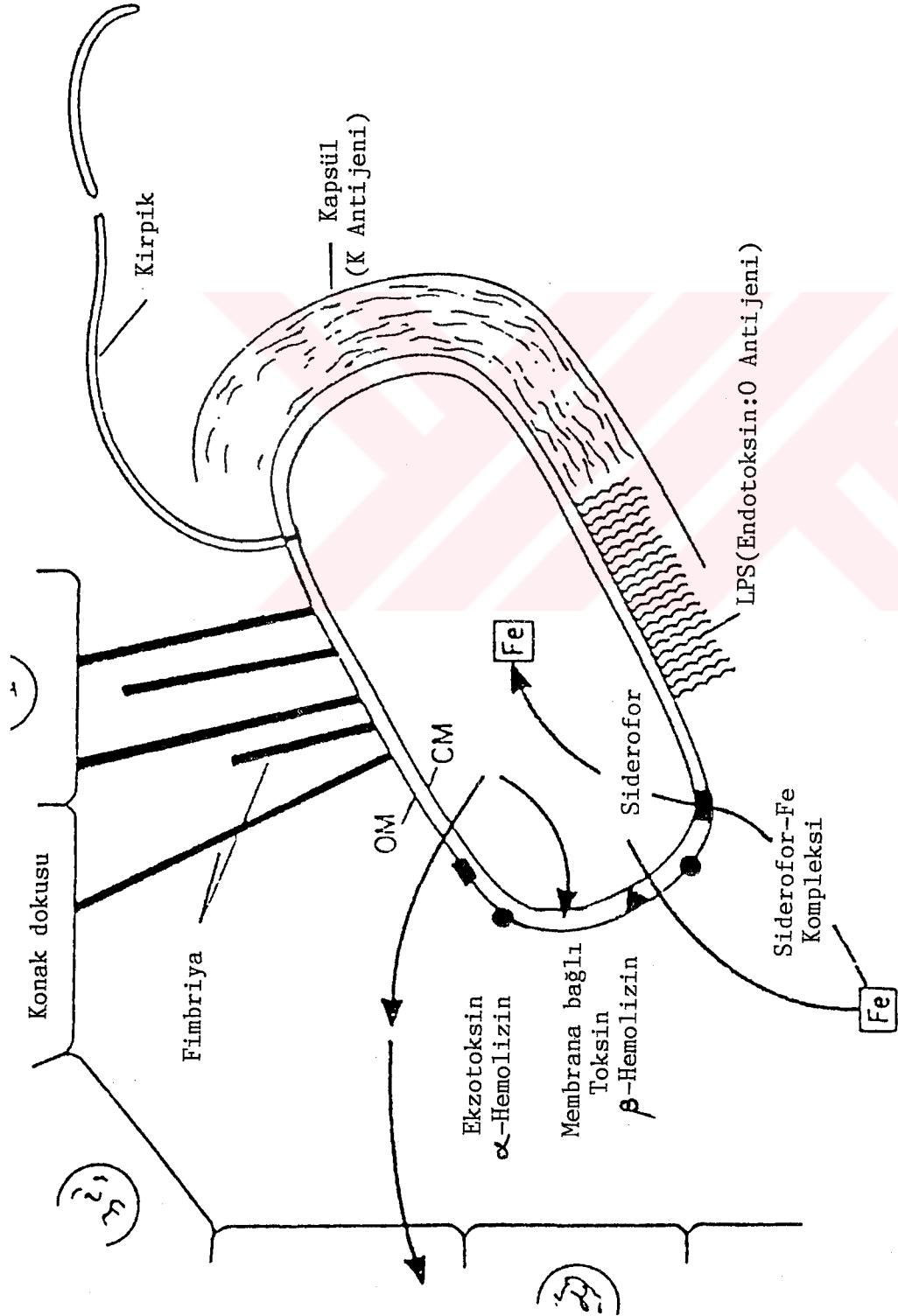
Fimbriyalar uzun, kıvrılabilen non-flagellar filamentler olup, bakterinin yüzeyinde bulunan organellerdir. Bunlar bakteri yüzeyi ile konak hücre arasındaki ilişkiyi sağlayarak, bakterinin kolonizasyonuna yardımcı olmakta ve bu suretle bir virulans faktörü rol oynamaktadır (29,68).

Fimbriyaların morfoloji ve fonksiyonları kirpiklerden ve seks piluslarından farklıdır. Kirpikler, fimbriyalardan daha kalın, uzun, daha esnek ve bakteri hareketinden sorumlu olan, adhezinler ile ilgili olmayan, seks pilusları ise daha kalın ve konjugasyondan sorumlu olan organellerdir (11,19,60).

*E.coli*'nin fimbriyaları biyolojik, antijenik ve genetik bakımdan gruplara ayrılır. *E.coli* suşlarında adhezinleri mannoz tarafından önlenen fimbriyalar bulunabilir. Bunlar tip 1 fimbriya ya da F1 fimbriya olarak adlandırılır. Ayrıca adhezinleri mannoz tarafından önlenmeyen (MR) fimbriyalar da taşıyabilirler. Bunlar farklı türlerin eritrositlerini ve değişik kan grubu eritrositlerini aglutine etmelerine göre iki grup içinde toplanabilirler:

1- P fimbriyalar: P kan grubu antijenlerini aglutine ederler.

2- X adhezinler (X fimbriyalar): Çeşitli kan grubu antijenlerine özgül olarak bağlanabilirler. S, M, F, G, Dr fimbriyalar X adhezinler olarak tanımlanır.



Şekil 1. Escherichia coli'nin virulans faktörleri.

*I.a. Tip 1 (F1=MS) fimbriyalar:*

Yapısal analizler sonucunda tip 1 fimbriyanın 7 nm çapında, 0,5-2 µm boyunda ve ortasında 0,2-0,25 nm çaplı boşluk bulunan yapılar olduğu gösterilmiştir. Bunlar heliks şeklinde tekrarlanan polimeraz subünitlerden oluşmuştur (35).

Tip 1 fimbriya bakterinin kromozomunda bulunan bir grup gen tarafından kodlanır. Tip 1 fimbriya reseptörleri çeşitli canlıların (kobay, fare, at gibi) eritrositlerinin, ayrıca *Candida* hücreleri, ağız, insan üretral ve ürogenital mukoza epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan mannoz içeren glikoproteine bağlanma özelliğindedir (71,73). Ayrıca idrarda normalde bulunan glikoprotein yapısındaki THP'ne de bağlanır (30).

Bir teoriye göre tip 1 fimbriyanın idrarda normal olarak bulunan THP'ne bağlanabilmesi, konağın non-spesifik savunma mekanizması olarak kabul edilmektedir. Çünkü bu yolla bakteri üroepitel hücrelere kolonize olmadan idrarla dışarı atılmaktadır. Bunun aksine olarak, ikinci bir teoriye göre ise, THP tip 1 fimbriyaya bağlanmakta ve bu fimbriyayı taşıyan bakteriyi örterek bakterinin fagositozunu engellemekte ve sonuçta patojeniteyi güçlendirmektedir (30,59).

Tip 1 fimbriyanın adheransı D-mannoz ya da  $\alpha$ -metil-mannozid çözeltisi ile inhibe olur. Buna karşın diğer monosakkaritler veya türevleri ile adheransın inhibe olmadığı gösterilmiştir (20,56).

Bu suretle ilgili dokularda bakterinin kolonize olmasını sağlar.

*I.b. P fimbriyalar:*

Pilin adı verilen subünitlerden oluşan, bir tek protein yapısında bir organeldir. Pilin proteinleri genellikle 20 KDa'dur ve uzun silindirik bir yapı oluşturacak şekilde heliks tarzında dizilmiştir. Bazı piluslar gövde boyunca dağılmış ikinci bir protein de taşırlar (74).

P fimbriyalarda, protein subünitlerinin molekül ağırlıkları ve serolojik özellikleri farklıdır. Çapraz immünoelektroforez yöntemi ile P

fimbriyalar farklı serotiplere ayrılmış, F antijeni olarak adlandırılmış ve F7<sub>1</sub>, F7<sub>2</sub> ve F8' den F13'e kadar numaralandırılan sekiz serotipi belirlenmiştir (17). P fimbriyaların antijenik yapısı kromozomal genlerde kodlanmıştır. Bu genlere "pyelonephritis associated pili" terimi dikkate alınarak pap genleri adı verilmektedir. Genellikle P fimbriya için konak hücre reseptörleri glikoproteinler ve glikoproteinlerden oluşan karbonhidrat kalıntılarıdır (48,68,74).

P fimbriyaların farklı antijenik tipleri ortak olarak aynı tip reseptörleri tanıma özelliğindedir. Bu reseptör, değişik hücrelerin yüzeyinde bulunan  $\alpha$ -D-Gal- $\beta$ -(1→4)- $\beta$ -D-Gal (globobioz) veya bu disakkaridin seramid lipide bağlı tekrarlarıdır (14,68). Bazı glikoproteinlerin bir komponenti olan bu disakkarid ile tüm glikosfingolipidlerin globosileri aynı zamanda insan P kan grubu sistemi antijenlerini oluştururlar. Bu nedenle, bu antijenlere bağlanma yeteneğindeki fimbriyalara P fimbriya adı verilmiştir (49,55,73).

P fimbriya taşıyan *E.coli* suşları P kan grubu eritrositlerini aglutine eder. Hemaglutinasyon mannoz tarafından önlenmez. Ayrıca glikolipidlerin Gal- $\alpha$ -(1→4) Gal  $\beta$  reseptörleri, renal pelvis, üreter, mesane ve vajina epitellerinde ve polimorf nüveli lökositlerde bulunur ve bakterinin üroepitel hücrelere yapışmasını sağlayarak, idrarın akışına bakteriyi dirençli kılar (25,52). Bu olay infeksiyon patogeneğinde ilk adımdır. P fimbriya çoğunlukla UPEC suşlarında bulunur ve piyelonefrit yapan *E.coli*'lerde önemli bir virulans faktörüdür (33,55).

#### *I.c. X adhezinler:*

Son yıllarda üropatojen *E.coli*'de yeni adhezinler belirlenmiştir. Bunlardan birincisi S pilusudur. Bu pilus  $\alpha$ -Neu NAC-(2-3)- $\beta$ -Gal yapısındaki glikoproteinlere bağlanır. İkincisi ise M pilusudur, ki insan M kan grubuna özel olan glikoforin A moleküllerine bağlanır. Bu reseptör glikokonjugatının pilus bağlanma yeri galaktoz, N-asetil galaktozamin sialik asit ve serin artıklarından oluşmaktadır. Her bir pilus tipi incelendiğinde *E.coli* adhezinlerinin karbonhidratları bağlayan ve böylece fonksiyonel olarak lektinlerin analogu olan proteinler olduğu kolayca anlaşılır. S ve M pilusu taşıyan *E.coli* suşlarının epidemiyolojik önemi iyi

anlaşılmamıştır. Bunlardan başka çeşitli kaynaklarda F, G, Dr adhezinleri de bildirilmiştir (68,73,74).

## II. Aerobaktin:

Serbest demir eksikliği, bakteriyel infeksiyonlara karşı konağın ilk savunma mekanizmalarından biridir (88). Tüm patojen bakterilerin üremek için bir besin olarak demir bileşiklerine gereksinimleri vardır (87). *E.coli* oksijen transportu ve depolanması DNA sentezi, elektron transportu, peroksidaz metabolizması gibi birçok yaşamsal süreç için demire gereksinim duyar (3). Ancak vücut sıvılarında bağlı demir miktarı, 20  $\mu\text{M}$ 'den fazla olduğu halde (16), serbest demir miktarı azdır. Bunun nedeni vücut sıvılarında demir bağlayan doymamış proteinlerin bulunmasıdır. Spesifik demir bağlayıcı protein olarak kanda serum transferrin, süt ve mukoza salgısı gibi sekresyonlarda laktoferrin bulunur (2). Hücre içindeki fazla demir ise ferritin adı verilen proteinlere bağlanıp depolanır (92,93).

Fizyolojik pH ve hidrofilik ortam FeIII'ün daha az çözünmesini sağlar (3). Bunun sonucu serbest demir konsantrasyonu  $10^{-12}$   $\mu\text{M}$  kadar az olur. Oysa bakterilerin ihtiyaç duyduğu demir miktarı yaklaşık 5  $\mu\text{M}$ 'dür (16).

Konağın patojene karşı savunma mekanizmalarından biri barsaktan demir absorpsiyonunun azaltılması, demir bağlayıcı proteinlerin yüksek oranda sentezlenmesi, plazmadaki demirin hücre içine depolanması sonucu mevcut serbest demirin azaltılmasıdır (87). Böylece bakteri, infeksiyon sırasında demir ihtiyacını karşılamada güçlük çeker. Ancak birçok bakteri "düşük molekül ağırlıklı demir-bağlayan bileşimleri" yani sideroforları sentez eder. *E.coli* suşları iki ayrı demir bağlayıcı siderofor meydana getirebilir. Bunlar aerobaktin ve enterobaktin (enteroselin)'dir (87). *E.coli*'de "hidroksamat siderofor" olan aerobaktin demir bağlayan sistemlerden en etkilisidir. Aerobaktin ve enterobaktin demire yüksek derecede afinite gösterir. Böylece konak proteinine bağlı demirin alınarak bakteri tarafından kullanılabilmesini sağlar (3,16,35).

**Tablo 1.** *Enterobakteriyal sideroforlar ve transferrinin demir III kompleksleri için afinite sabitleri.*

Enterobaktin	$10^{52}$
Aerobaktin	$10^{23}$
Transferrin	$10^{22.7}$

Aerobaktin iki lizin ve bir sitrat molekülünden (616 Mw) oluşan küçük bir moleküldür. *E.coli* hücrelerinden ortalama verilen aerobaktin, konağın demir bağlayan proteinlerinden FeIII'ü ayırır. Daha sonra FeIII 74-KDa'luk dış membran reseptör proteini tarafından alınır (Şekil 2) (35,44).

Aerobaktin sisteminin diğer sideroforlara göre birçok üstünlüğü vardır (Tablo 1).

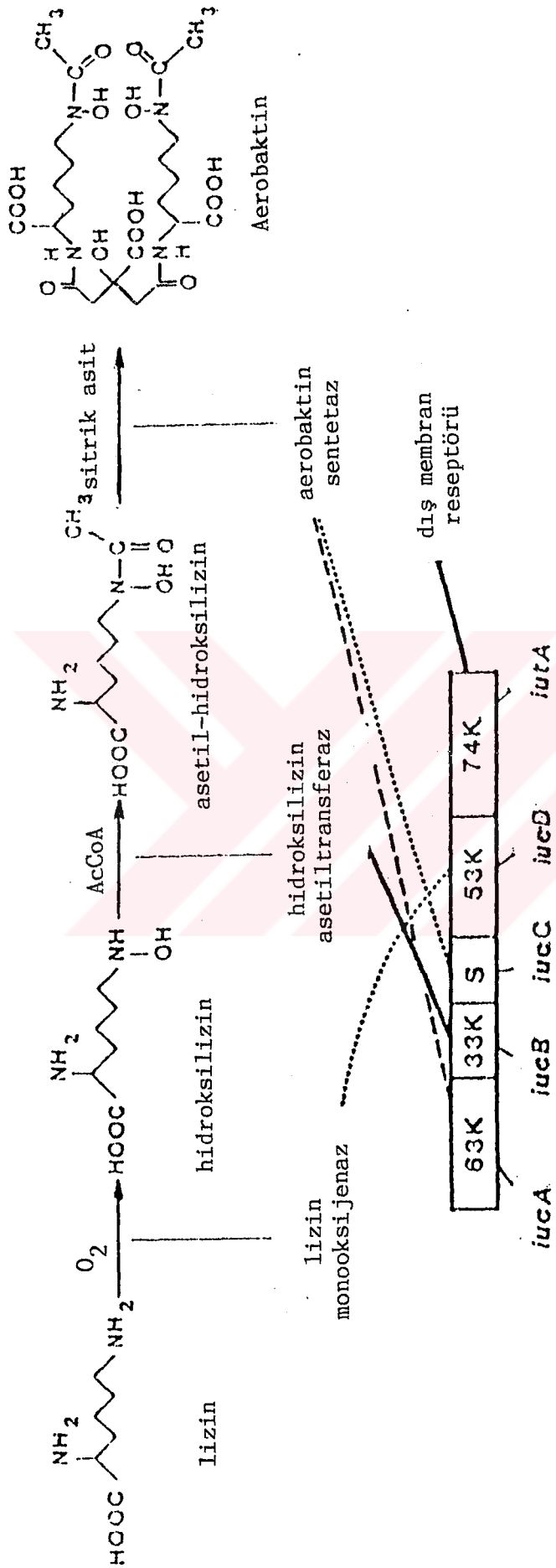
Gerçekte enterobaktinin afinite sabiti aerobaktininkinden daha fazla olmasına karşın, enterobaktinin afinite sabiti nötral pH'da daha düşüktür (3,16).

Sulu çözeltilerde enterobaktin aerobaktine oranla demiri daha hızlı bağlar. Oysa serum ve albumin varlığında bunun tersi geçerlidir. Bunun nedeninin, enterobaktinin proteinlere bağlanması ve proteinler tarafından inaktive edilmesi söz konusu iken, bu olayın aerobaktin için geçerli olmaması olduğu tahmin edilmektedir (3,16,54).

Enterobaktin aerobaktinden daha az çözünür. Stabilitesi de daha düşüktür (16).

Demirin enterobaktinden serbest kalması için sideroforun hidrolize olması gereklidir. Enterik bakteriler, enterobaktin salgılayarak demir enterobaktin kompleksi oluşturur ve aktif olarak geriye dönüp bakterinin membranından hücreye transportunu sağlar. Demir, enterobaktinin enzimatik parçalanması ile hücre içinde serbest kalır. Aerobaktin ise hidrolize olmadığından sürekli aktivite gösterir (35).

Enterobaktin demiri sitoplazmada serbest bırakırken, aerobaktin demiri direkt olarak bakterinin sitoplazma zarına verir.



Şekil 2. Aerobaktinin kimyasal yapısı ve biyosentezi.

Ne enterobaktin ne de aerobaktin tek başına antikor cevabı oluşturacak kadar büyük moleküllü değillerdir. Fakat enterobaktin (bir katekol) haptenlere benzer biçimde serum proteinlerine bağlanır ve anti-enterobaktin antikorlarının oluşumuna neden olur. Bu da enterobaktinin in-vivo koşulda bakteri tarafından kullanımını sınırlayabilir (16).

Aerobaktin sistemine sahip olan suşlar düşük demirli ortamlarda, serumda ve hatta dilüe idrarda bile üreme üstünlüğüne sahiptirler. Onun için aerobaktin tipi siderofor oluşturabilen *E.coli* suşları siderofora sahip olmayanlara oranla daha yüksek virulans gösterir (35,90).

Aerobaktin sistemine ait genler plazmidlerde (pCol V-K 30) veya bakterinin kromozomunda bulunur (90). Aerobaktin oluşturan *E.coli* suşlarının hemen tümünde aerobaktin sisteminin 5 operon gen tarafından kodlanır; aerobaktin sisteminin gereksindiği enzimler 4 gen tarafından, dış membran reseptör proteinleri ise beşinci gen tarafından kodlanır (Şekil 2) (35).

Sentez genleri iuc (iron uptake-chelate), reseptör genleri de iut (iron uptake-transport) olarak isimlendirilir. Aerobaktin biyosentezi gerçekleşirken, iuc genleri DBAC sırası ile görev yapmaktadır. Sırasıyla;

- (i) lizin hidroksilasyonu
- (ii) hidroksil grubunun asetilasyonu ve hidroksamik asit oluşumu
- (iii) iki hidroksamik asit molekülünün sitrat ile birleşmesi gerçekleşir ve sonuçta aerobaktin molekülü sentez edilir (3).

Lizin hidroksilasyonu sırasında rol oynayan "lizin mono-oksijenaz" enzimi memeli hücrelerinde mevcut olmadığı için, bu aşamanın kemoterapi için bir hedef olabileceği ve bu yolla üropatojen *E.coli* suşlarının virulansının azaltılabileceği düşünülmüştür (3).

Aerobaktin üretimi hücre içi demir konsantrasyonuna bağlıdır ve fur (ferric uptake regulatory) geni tarafından düzenlenir (35). Hücre içi demir konsantrasyonu yeterince yüksek olduğu zaman, fur represör geni tarafından üretilen madde demirle (veya diğer divalen katyonlarla) birleşir ve aerobaktin operonunun promotör bölgesine taşınır. Böylece

transkripsiyon bloke edilir. Hücredeki demir oranı azaldığında ise fur represör promotor bölgeden ayrılır ve transkripsiyon süreci başlar (3).

### III. Hemolizinler:

Bakterilerin demir elde etmelerinde sideroforlara alternatif yol, hemolizin oluşturmalarıdır. Bakteri, eritrositleri hemoliz ederek hemoliz sonucu açığa çıkan hemoglobini bir demir kaynağı olarak kullanır (32). Hemolizin üretiminin, demir fazlalığında baskılandığı, buna karşın demir miktarının düşük olduğu durumlarda arttığı belirlenmiştir (75).

Bakteriyel hemolizinler bir grup ekstrasellüler sitotoksik polipeptidler olup, eritrositleri eritirler. Eritrosit üzerinde oluşturdukları bu etkinin yanı sıra polimorf nüveli lökosit, monosit ve fibroblast gibi bir grup hücreye daha in-vitro toksik etki gösterirler.

*E.coli* suşlarının birçoğu hemolitikdir. Çeşitli *E.coli* hemolizinleri vardır. Bunlardan biri hücreye bağlı olmayan, kültür sıvılarında bulunan, tripsine, duyarlı suda erir bir hemolizin olan  $\alpha$ -hemolizindir. Genellikle aktivasyonu için kalsiyum iyonları gerektirir (75), buna karşın kalsiyum yokluğunda da eritrositleri eritebildiği gösterilmiştir. Alfa hemolizin sentezi konjugatif plazmidlerle kontrol edilir (37). Diğer bir hemolizin ise hücreye bağlı olan  $\beta$ -hemolizindir. Her iki toksin de birçok hayvan eritrositini eritme özelliğindedir.

*E.coli*'nin  $\alpha$ -hemolizini renal tübüler hücrelerde hasar oluşturucu etkiye sahiptir. Alfa hemolizin oluşturan *E.coli*'nin bu nedenle renal parankimde yayılabildiği düşünülmektedir (12,41). Alfa hemolizin bütün memelilerin ve hatta balıkların eritrositlerini parçalar. Kültür süpernatantında bulunan hemolitik maddenin hemen tamamının proteinden oluştuğu saptanmıştır, az miktarda fosfolipid ya da lipopolisakkarit komponentleri de içermektedir. Tahminen  $2 \times 10^5$  -  $8 \times 10^5$  Mw'dir (35,75).

Alfa hemolizin üretimi Hly A-D isimlendirilen 4 operon gen tarafından kodlanmaktadır. Bu genler *E.coli*'nin insan izolatlarında kromozomal, hayvan izolatlarında ise plazmidaldır (35,36).

Hemolizinin eritrositlere bağlanması ve hemolitik aktivite gösterebilmesi için HlyA proteininin bir intrasellüler protein olan HlyC tarafından aktivite edilmesi gerekir. Hemolizin salgılanmasında birinci aşama enerjiye bağımlı bir süreçtir ve HlyB proteini ile ilgilidir. Oysa dış membrandan salgılanma pasiftir, ve HlyD proteinini gereksinir. HlyB mutantlarında HlyA hücre içinde veya periplasmik aralıkta kalır ve sonuçta bakteri non hemolitik fenotip gösterir. Oysa HlyD mutantlarında hemolizin hücre yüzeyinde birikir ve sonuçta kanlı jelozda dar hemolitik zonlar meydana gelir (35). Hemolizin moleküllerinin eritrosit membranından geçişinde  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ , kanyonları ile mannitol ve sakkarozun permabilite artırıcı etkisi olduğu, özellikle bunlardan  $Ca^{++}$ 'un maksimal etki sağladığı belirlenmiştir (75). Düşük hemolizin/eritrosit oranlarında eritrositlerin az bir kısmı erir ya da hemoglobininin rengi açılır, ki bu esnada eritrositler normal görünümünde kalır (35).



## GEREÇ ve YÖNTEM

İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Üroloji, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dallarının polikliniklerine çeşitli nedenlerle başvuran 115 hastanın idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında virulans faktörleri aranmıştır. Ayrıca, üriner sistem infeksiyonu geçirmemiş 30 sağlıklı çocuğun dışkı örneklerinden, normal flora bakterisi olarak izole edilen *E.coli* suşlarının virulans faktörleri araştırılarak, UPEC suşlarındaki virulans faktörleri ile karşılaştırılmıştır.

Alınan idrar örneklerinden 0.01 ml alınarak triptik soy agar (TSA) besiyerine ekilmiş, kültürler 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden Gram boyaması yapılarak, Gram negatif çomak kolonilerinden saf kültür alınmıştır. Bu bakterilerin identifikasyonu klasik mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Biyokimyasal özelliklerini incelemek üzere üç şekerli besiyeri (Triple Sugar Iron agar=TSI), üreli jeloz, Ferguson, Clark-Lups ve Simmon's sitrat besiyerlerine ekim yapılmıştır. TSI besiyerlerinde glikoz ve/veya laktoz/sakkarozdan asit ve gaz oluşturan H<sub>2</sub>S oluşturmeyen, üreaz negatif, indol pozitif ve sitratlı besiyerinde üremeyen suşlar *E.coli* olarak identifiye edilmiştir (5,10,24,34,43).

Bu suşlarda üç virulans faktörü; fimbriyalar, aerobaktin ve hemolizinler araştırılmış, antibiyotik ve kemoterapötik maddelere duyarlılıkları NCCLS önerilerine göre standart disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

### *1- MR ve MS fimbriyaların belirlenmesi:*

Bu amaçla her bir eritrosit tipi için mannozlu ve mannozsuz ortamda olmak üzere tüpte ikişer ayrı seri hemaglutinasyon deneyi yapılmıştır. Deneylerde 115 UPEC suşu ve 30 kontrol *E.coli* suşu ile 0 grubu insan ve kobay eritrositleri kullanılmıştır.

### *Hemaglutinasyon deneyleri:*

Sodyum sitratın distile sudaki %3.8'lik steril çözeltisinden enjektöre 1 ml çekilip, 4 ml 0 grubu insan kanı alınmıştır. Kobay kanı için de benzer işlem uygulanmıştır. Eritrositleri yıkamak üzere santrifüj tüpüne alınan kan üzerine pH'sı 7.2 olan fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ilâve edilerek santrifüjde 1500 rpm'de 5 dakika çevrilmiş ve her defasında üst sıvıyı atmak ve üzerine tekrar PBS eklemek suretiyle aynı işlem 3 kez tekrarlanmıştır. En son olarak PBS içinde iki ayrı tüpte %0.5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlanmıştır. Suşların MRHA veya MSHA özelliklerini belirlemek üzere eritrosit süspansiyonlarından birine %2.5 oranında mannoz ilâve edilmiştir (26,27,29,70). Suşların TSA besiyerindeki bir gecelik kültürlerinden PBS (pH 7.2) kullanılarak yoğun ( $1.6-3.2 \times 10^{10}$ -McFarland No.10) bir süspansiyon hazırlanmıştır (26).

Her suş için 4 aglutinasyon tüpü kullanılmıştır. Her tüpe 100 µl bakteri süspansiyonu konmuştur. 1. tüpe mannozlu 0 grubu eritrosit süspansiyonu; 2. tüpe mannozsuz 0 grubu eritrosit süspansiyonu; 3. tüpe mannozlu kobay eritrosit süspansiyonu ve 4. tüpe mannozsuz kobay eritrosit süspansiyonundan 100'er µl eklenmiştir. Tüpler +4°C'de 15 dakika çalkalayıcıda bekletilmiş, hemaglutinasyon ve hemaglutinasyon inhibisyon sonuçları makroskopik ve gerektiğinde mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Ayrı tüplerde hazırlanan PBS içindeki bakteri süspansiyonları ve PBS içindeki eritrosit süspansiyonları negatif kontrol amacı ile kullanılmıştır (26).

### *2- Aerobaktinin belirlenmesi:*

*E.coli* suşlarında aerobaktin üretimi bioassay yöntemi ile araştırılmıştır. Bunun için nutrient agar (jeloz) (Oxoid) hazırlanmış ve sterilizasyondan sonra metil alkolde çözündürülmüş 410 µM 2,2 dipiridil (Sigma) ilâve edilerek Petri kutularına dökülmüştür (32,63). Besiyerine eklenecek optimal dipiridil miktarı ön deneylerden sonra hesaplanmıştır.

Suşlarda aerobaktin oluşumunun belirlenmesinde, üremek için aerobaktine gereksinimi olan mutant bir suş; *E.coli* LG1522 indikatör

olarak kullanılmıştır. Bu suş Department of Bacteriology, Karolinska Hospital, Stockholm, İsveç'ten sağlanmıştır.

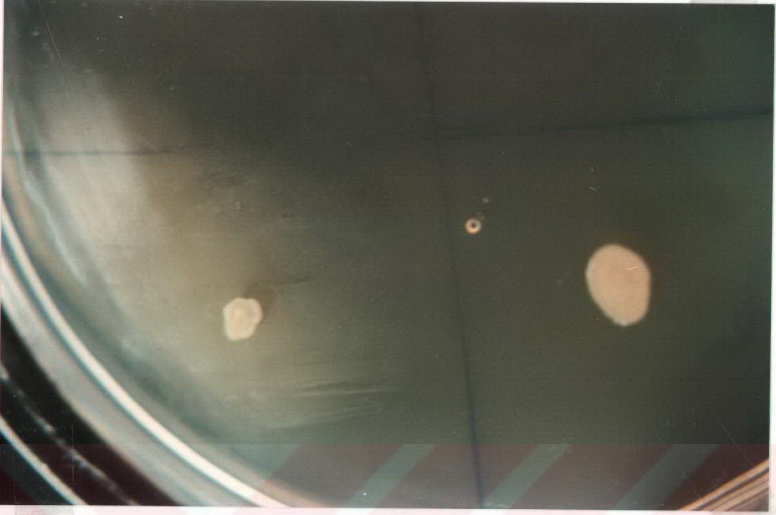
İndikatör suş *E.coli* LG1522'nin steril distile suda 0.5 No'lu McFarland standardına uygun süspansiyonu hazırlanmış ve daha sonra bu süspansiyon steril distile suda 1/10 oranında sulandırılmıştır. Bakteri süspansiyonundan dipiridil ilâveli jeloz içeren Petrilere 200 µl konarak, yavrulu tüp yardımı ile yayılmış, sonra test suşlarından işaretli bölgelere nokta inokülasyonları yapılmıştır. Kültürler bir gece 37°C'de inkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Test suşlarının etrafında indikatör suşun üremesi, test suşunun aerobaktin oluştuğunu göstermiştir (Resim 1,2) (32,63).

### 3- Alfa hemolizin belirlenmesi:

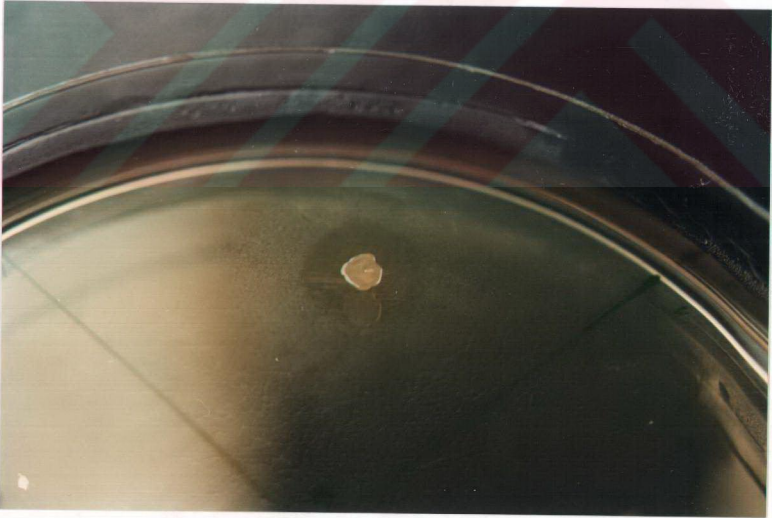
UPEC suşları ve kontrol *E.coli* suşları hemolizin yapımı bakımından da incelenmiş ve bu amaçla 20 µM CaCl<sub>2</sub> içeren ve içermeyen %5 koyun kanlı beyin-kalp infüzyon agar kullanılmıştır. Bakteriler bu besiyerlerine çizgi şeklinde ekilerek 2 gece 37°C'de inkübe edilmiştir. Kültürünün çevresinde belirgin şeffaf hemoliz zonu görülen suşlar α-hemolizin pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### 4- Antibiyotik ve kemoterapötik duyarlılığının belirlenmesi:

Suşların ampisilin (AMP), ampisilin+sulbaktam (SAM), amoksisilin+klavulanik asit (AMC), sefalotin (KF), sefazolin (KZ), sefuroksim sodyum (CXM), sefuroksim aksetil (CXM), sefoksitin (FOX), seftriakson (CRO), sefoperazon+sulbaktam (75/30), imipenem (IPM), gentamisin (CN), netilmisin (NET), amikasin (AK), norfloksasin (NOR) ve siprofloksasin (CIP), kotrimoksazol (SXT), nitrofurantoin (F), duyarlılıkları NCCLS önerilerine göre standart yöntem ile belirlenmiştir. Besiyeri olarak Mueller-Hinton agar kullanılmıştır (13,38,48,79).



**Resim 1.** Aerobaktin deneyi:  
Solda aerobaktin oluşturmayan, sağda aerobaktin oluşturucu suş.



**Resim 2.** Aerobaktin deneyi:  
Aerobaktin ve kolisin oluşturucu suş.

## BULGULAR

Üropatojen *E.coli* suşlarındaki virulans faktörlerinin araştırılması amacı ile planlanan bu çalışmada değişik klinik tablolara sahip ve farklı yaş gruplarından olan 115 idrar yolu infeksiyonlu hastadan izole edilen *E.coli* suşları ile, 30 sağlıklı çocuğun dışkı örneklerinden izole edilen *E.coli* suşları incelenmiştir. İncelenen UPEC suşlarının % 52,2'si sistit, %26'sı asemptomatik bakteriüri, %12.2'si piyelonefrit olgularından izole edilmiştir (Tablo 2). Kadınlarda görülen *E.coli* etkenli İYİ oranı %79, erkeklerdekine göre %21 daha yüksek bulunmuştur.

**Tablo 2.** Olguların tanı, yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Tanı	Yaş grubu	Kadın		Erkek		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
Sistit	Çocuk	21	35	10	16.7	60	52.2
	Erişkin	21	35	8	13.3		
Asemptomatik bakteriüri	Çocuk	2	6.7	-	-	30	26
	Erişkin <sup>x</sup>	28	93.3	-	-		
Piyelonefrit	Çocuk	6	42.8	-	-	14	12.2
	Erişkin	7	50	1	7.2		
Diğerleri <sup>xx</sup>	Çocuk	3	27.3	1	9	11	9.6
	Erişkin	3	27.3	4	36.3		
TOPLAM		91	79	24	21	115	100

x: Suşlar gebe kadınlardan izole edilmiştir.

xx: Prostatit, epididimit, böbrek taşı, sonda uygulanan, tekrarlayan idrar yolu infeksiyonlu hastalar.

**Tablo 3. İdrar yolu infeksiyonu etkeni E.coli suşları ile kontrol E.coli suşlarında belirlenen hemaglutinasyon ve hemoliz özellikleri.**

Tanı	0 grubu eritrosit ile MRHA <sup>x</sup>		Kobay eritrositi ile MSHA <sup>xx</sup>		MRHA ve MSHA		Hemaglutinasyon vermeyen		α-hemolizin	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Piyelonefrit (n:14)	5	35.7	1	7	-	-	8	57	6	42.8
Sistit (n:60)	13	21.7	11	18.3	3	5	39	65	25	41.7
Aseptomatik bakteriyüri (n:30)	7	23.3	7	23.3	1	3.3	17	56.6	12	40
Diğerleri (n:11)	3	27.3	1	9	-	-	7	63.6	4	36.4
Toplam (n:115)	28	24.3	20	17.4	4	3.5	71	61.7	47	40.8
Kontrol (Dışkı izolatları) (n:30)	3	10	4	13.3	-	-	23	76.7	14	46.7

x: P fimbriya veya X adhezinler

xx: F1 (tip 1) fimbriya

İncelenen 115 üropatojen *E.coli* suşunun ve sağlıklı çocukların dışkı örneklerinden izole edilen 30 (kontrol) *E.coli* suşunun hemaglutinasyon özellikleri tablo 3'te gösterilmiştir.

Piyelonefritli hastalardan izole edilen suşlarda MR fimbriyalara en yüksek oranda %35.7 rastlanmıştır. Bu oran sistitli hastalarda %21.7, ABÜ'de %23.3 ve diğer hasta gruplarında %27.3 olarak saptanmıştır. Dışkı izolatlarında ise MR fimbriya taşınım oranı %10 en düşük olarak belirlenmiştir. MS fimbriyalara ise ABÜ'de %23.3, sistit izolatlarında %18.3, dışkı izolatlarında %13.3, diğer hasta grubu izolatlarında %9, piyelonefrit izolatlarında %7 oranında rastlanmıştır. Sistit olgularından izole edilen *E.coli* suşlarının %5'inde hem MR, hem de MS fimbriya belirlenmiştir.

Farklı tiplerdeki idrar yolu infeksiyonlarında etken olan *E.coli* suşlarında ve kontrol *E.coli* suşlarında aerobaktin oluşturma sıklığı tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Aerobaktin oluşturduğu belirlenen *E.coli* suşlarının klinik tablolara göre dağılımı.

Suşlar	İncelenen suş sayısı	Aerobaktin oluşturanlar	
		n	%
Piyelonefritli hasta izolatları	14	9	64.3
Erişkinler	8	4	50
Çocuklar	6	5	83.3
Sistitli hasta izolatları	60	28	46.6
Erişkinler	29	14	48.3
Çocuklar	31	14	45.2
Aseptomatik bakteriüri hasta izolatları	30	9	30
Diğer hasta izolatları	11	3	27.3
Toplam	115	49	42.6
Kontrol	30	13	43.3

Piyelonefritli hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarından %64.3'ünün aerobaktin oluşturduğu, bu oranın piyelonefritli çocuklardan izole edilenlerde daha yüksek %83.3 olduğu, diğer hasta gruplarından izole edilen ve kontrol olarak kullanılan suşlarda ise aerobaktin insidansının %27.3-46.6 arasında değiştiği saptanmıştır.

Aerobaktin pozitif *E.coli* suşlarına piyelonefritli çocuklarda %83.3 sistitli çocuklardan %45.2 daha yüksek oranda rastlanmıştır. Buna karşın piyelonefritli erişkinlerden izole edilen aerobaktin pozitif *E.coli* suşlarının oranı %50 ile sistitli erişkinlerden izole edilen aerobaktin pozitif suş oranı %48.3 arasında belirgin bir fark görülmemiştir (Tablo 4).

Aerobaktin pozitif *E.coli* suşlarına piyelonefritli kız çocuklarda %35.7 ve kadınlarda %21.4 erkeklerden %7.2 daha yüksek oranda rastlanmıştır. Benzer şekilde sistitli kadın ve kız çocuklardan izole edilen *E.coli* suşlarında aerobaktin oluşturanların oranı %15 sistitli erkek hasta izolatlarına göre daha yüksek %8.3 bulunmuştur (Tablo 5).

**Tablo 5.** Aerobaktin oluşturan *E.coli* suşları ile , klinik tablo, yaş ve cinsiyet ilişkisi.

Tanı	Kadın				Erkek				Toplam	
	Çocuk		Erişkin		Çocuk		Erişkin			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Piyelonefrit (n:14)	5	35.7	3	21.4	-	-	1	7.2	9	64.3
Sistit (n:60)	9	15	9	15	5	8.3	5	8.3	28	46.6
Aseptomatik bakteriyüri (n:30)	1	3.3	8	26.7	-	-	-	-	9	30
Diğerleri (n:11)	1	9.1	2	18.2	-	-	-	-	3	27.3

İYİ etkeni ve kontrol *E.coli* suşlarında belirlenen  $\alpha$ -hemolizin aktivitesi tablo 3'te gösterilmiştir. UPEC suşlarının %40.8'inde, dışkı izolatlarının %46.7'sinde  $\alpha$ -hemolizin belirlenmiştir. En yüksek hemolizin aktivitesinin piyelonefrit %42.8 izolatlarında olduğu, diğer hasta gruplarında ise bu oranın %36.4-41.7 arasında olduğu gözlenmiştir.

24 saatlik inkübasyonda suşların %25.5'inde hemolizin aktivitesi gözlenirken, 48 saat sonunda bu oranın %42'ye yükseldiği, suşların 16 %11'sinin kalsiyumsuz besiyerinde hemolizin aktivitesi göstermediği belirlenmiştir (Tablo 6).

**Tablo 6.** *E.coli* suşlarının  $\alpha$ -hemolizin aktivitesine inkübasyon süresi ve besiyerlerine kalsiyum ilâvesinin etkisi.

Suşlar	1.gün <sup>x</sup>		2.gün	
	n	%	n	%
İYİ izolatları (n:115)	31	26.9	47 <sup>xx</sup>	40.8
Kontrol Suşlar (n:30)	6	20	14 <sup>xxx</sup>	46.7
Toplam (n:145)	37	25.5	61	42

x:  $Ca^{++}$  ilâveli ve ilâvesiz besiyerlerinde aynı sonuçlar alınmıştır.

xx:  $Ca^{++}$  ilâvesiz besiyerinde 9 suş negatif sonuç vermiştir.

xxx:  $Ca^{++}$  ilâvesiz besiyerinde 7 suş negatif sonuç vermiştir.

Tablo 7'de aerobaktin üretimi ile MR fimbriya, MS fimbriya taşıma arasındaki ilişki gösterilmiştir. Piyelonefritli suşların %21.4'ünün Piyelonefritli hastalardan izolen edilen aerobaktin pozitif *E.coli* suşların hiçbirinde MS fimbriya saptanmamıştır.

Sistitli hastalardan izole edilen suşların %11.6'sı hem aerobaktin hem de MR fimbriya yönünden pozitif bulunmuş, bu suşların %8.4'ünü hem aerobaktin ürettiği, hem de MS fimbriya taşıdığı belirlenmiştir.

ABÜ'de ise hem aerobaktin pozitif, hem de MR fimbriyaya sahip olan suşların oranı %13.3 olarak bulunmuştur. Bu suşların %6.7'sinin ise, aerobaktin üreten ve MS fimbriya taşıyan suşlar olduğu belirlenmiştir.

Dışkı izolatlarından aerobaktin pozitif MR fimbriya taşıyanların ve aerobaktin pozitif ve MS fimbriya taşıyanların oranı %3.3 olarak saptanmıştır.

Buna göre idrar yolu infeksiyonu etkeni *E.coli* suşlarında aerobaktin oluşturan ve MR fimbriya taşıyanların sıklığı, aerobaktin oluşturan ve MS

fimbriya taşıyanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca kontrol olarak kullanılan dışkı izolatlarda aerobaktin oluşturan ve MR ya da MS fimbriya taşıyan suşların oranı %3.3 dikkat çekici oranda düşük saptanmıştır.

**Tablo 7.** Farklı klinik tablolarda etken olan üropatojen *E.coli* ve dışkıdan izole edilen *E.coli* suşlarında aerobaktin üretimi-MR ve MS fimbriya taşınımı ilişkisi.

Suşlar	MR fimbriya(+)		MR fimbriya(-)		MR fimbriya(+)		MR fimbriya(-)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Piyelonefritli hasta</b>								
<b>izolatları (n:14)</b>								
Aerobaktin pozitif	3	21.4	6	42.9	-	-	9	64.3
Aerobaktin negatif	2	14.3	3	21.4	1	7	4	28.7
<b>Sistitli hasta izolatları</b>								
<b>(n:60)</b>								
Aerobaktin pozitif	7	11.6	21	35	5	8.4	23	38.3
Aerobaktin negatif	6	10	26	43.3	6	10	26	43.3
<b>Asemptomatik</b>								
<b>bakteriüri'li</b>								
<b>hasta izolatları (n:30)</b>								
Aerobaktin pozitif	4	13.3	5	16.7	2	6.7	7	23.3
Aerobaktin negatif	3	10	18	60	5	16.7	16	53.3
<b>Diğer hasta izolatları</b>								
<b>(n:11)</b>								
Aerobaktin pozitif	-	-	3	27.3	-	-	3	27.3
Aerobaktin negatif	3	27.3	5	5.4	1	9	7	63.7
<b>Dışkı izolatları</b>								
<b>(kontrol) (n:30)</b>								
Aerobaktin pozitif	1	3.3	12	40	1	3.3	12	40
Aerobaktin negatif	2	6.7	15	50	3	10	14	46.7

Tablo 8'de UPEC ve kontrol suşlarında hemolizin oluşturma ile MR fimbriya taşınımı arasındaki ilişki görülmektedir. UPEC suşlarından %13.9'unun, kontrol suşlarından ise %10'unun her iki virulans faktörüne sahip olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 8.** Üropatojen ve kontrol *E.coli* suşlarında MR fimbriya taşınımı ile  $\alpha$ -hemolizin üretimi arasındaki ilişki.

Suşlar	MR fimbriya pozitif		MR fimbriya negatif	
	n	%	n	%
İYİ izolatları				
$\alpha$ -hemolizin pozitif	16	13.9	31	26.9
$\alpha$ -hemolizin negatif	12	10.5	56	48.7
Kontrol suşlar				
$\alpha$ -hemolizin pozitif	3	10	11	36.7
$\alpha$ -hemolizin negatif	-	-	16	53.3

Piyelonefrit izolatları içinde MR fimbriya ve  $\alpha$ -hemolizin pozitif suşların oranı %21.5 diğer hasta gruplarına ait suşlarınkine göre daha yüksek bulunmuştur. Diğer gruplara ait suşlarda bu oranlar %13.3-15 arasında değişmektedir (Tablo 9).

İYİ izolatları içinde aerobaktin ve  $\alpha$ -hemolizin üreten suşların oranı tablo 10'da gösterilmiştir. UPEC suşlarının %16.5'inin bu iki virulans faktörünü birlikte taşıdığı, bu oranın kontrol suşlardakine çok yakın olduğu belirlenmiştir.

UPEC suşlarından %7.8'inin üç virulans faktörünü birlikte taşımalarına karşın dışkı izolatlarında bu oran %3.3 daha düşük bulunmuştur (Tablo 11). Ayrıca predispozan faktöre sahip hasta izolatları içinde, bu virulans faktörünü birlikte taşıyan suşa rastlanmamıştır. Hasta grupları dikkate alındığında; iki virulans faktörünü birlikte taşıyan suşlara, en yüksek oranda %35.8 piyelonefrit izolatlarında rastlanmış, bu oran diğer hasta gruplarında %26.7-30 arasında belirlenmiştir. Tek virulans faktörü taşıyan UPEC suşlarının oranı %41 iken, aynı oran dışkı izolatlarında %50 bulunmuştur.

**Tablo 9.** İncelenen *E.coli* suşlarında MR, MS fimbriya taşınımı ile  $\alpha$ -hemolizin üretimi arasındaki ilişki.

Suşlar	$\alpha$ -hemolizin (+)		$\alpha$ -hemolizin (-)	
	n	%	n	%
Piyelonefritli hasta izolatları (n:14)				
MR fimbriyalı	3	21.5	2	14.2
MS fimbriyalı	1	7	-	-
Sistitli hasta izolatları (n:60)				
MR fimbriyalı	9	15	4	6.7
MS fimbriyalı	5	8.3	6	10
Aseptomatik bakteriüri'li hasta izolatları (n:30)				
MR fimbriyalı	4	13.3	3	10
MS fimbriyalı	2	6.7	5	16.7
Diğer hasta izolatları (n:11)				
MR fimbriyalı	-	-	3	27.3
MS fimbriyalı	-	-	1	9
Dışkı izolatları (n:30)				
MR fimbriyalı	3	10	-	-
MS fimbriyalı	1	3.3	3	10

**Tablo 10.** Üropatojen *E.coli* ve kontrol izolatlarının aerobaktin üretimi ve  $\alpha$ -hemolizin aktivitelerinin karşılaştırılmaları.

Suşlar	Aerobaktin pozitif		Aerobaktin negatif	
	n	%	n	%
İYİ izolatları				
$\alpha$ -hemolizin pozitif	19	16.5	28	24.3
$\alpha$ -hemolizin negatif	30	26	38	33
Kontrol suşlar				
$\alpha$ -hemolizin pozitif	5	16.7	9	30
$\alpha$ -hemolizin negatif	8	26.7	8	26.7

**Tablo 11.** İncelenen *E.coli* suşlarında virulans faktörlerinin birlikte taşınımının, farklı klinik tablolara göre değerlendirilmesi.

Suşlar	Üç virulans faktörü taşıyan		İki virulans faktörü taşıyan		Tek virulans faktörü taşıyan		Virulans faktörü taşımayan	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Piyelonefritli hasta izolatları (n:14)	1	7.2	5	35.8	8	57	-	-
Sistitli hasta izolatları (n:60)	6	10	16	26.7	24	40	14	23.3
Aseptomatik bakteriyüri'li hasta izolatları (n:30)	2	6.7	9	30	10	33.3	9	30
Diğer hasta izolatları (n:11)	-	-	3	27.3	5	45.4	3	27.3
Toplam (n:115)	9	7.8	33	28.7	47	41	26	22.5
Dışkı izolatları (kontrol) (n:30)	1	3.3	8	26.7	15	50	6	20

İncelenen UPEC suşlarının çeşitli antimikrobiyal maddelere direnç durumu tablo 12'de belirtilmiştir. Ampisiline en yüksek oranda %63.5 saptanmış, buna karşın sefoperazon-sulbaktam ve imipenem direncine rastlanmamıştır.

Aerobaktin oluşturan ve oluşturmeyen *E.coli* suşlarının antimikrobiyal maddelere direnç oranları karşılaştırıldığında; bu oranlar arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir (Tablo 13).

**Tablo 12.** İncelenen 115 *E.coli* suşunda çeşitli antimikrobiyal maddelere direnç.

Antimikrobiyal maddeler	Dirençli n	Suş %
Ampisilin	73	63.5
Ampisilin+sulbaktam	55	47.8
Amoksisilin+klavulanik asit	34	29.6
Sefalotin	62	53.9
Sefazolin	30	26
Sefuroksim sodyum	14	12
Sefoksitin	3	2.6
Seftriakson	2	1.7
Sefoperazon+sulbaktam	0	0
İmipenem	0	0
Gentamisin	5	4.4
Netilmisin	4	3.5
Amikasin	4	3.5
Norfloksasin	1	0.9
Siprofloksasin	2	1.7
Kotrimoksazol	60	52.2
Nitrofurantoin	4	3.5

**Tablo 13.** Aerobaktin oluşturan 49 ve aerobaktin oluşturmayan 66 UPEC suşunda antimikrobiyal maddelere direnç durumunun karşılaştırılması.

Antimikrobiyal maddeler	Aerobaktin oluşturan suşlar		Aerobaktin oluşturmayan suşlar	
	n	%	n	%
Ampisilin	34	29.6	39	33.9
Ampisilin+sulbaktam	25	21.8	30	26
Amoksisilin+klavulanik asit	17	14.8	17	14.8
Sefalotin	28	24.3	34	29.6
Sefazolin	17	14.8	13	11.2
Sefuroksim sodyum	5	4.4	9	7.8
Sefoksitin	1	0.9	2	1.7
Seftriakson	1	0.9	1	0.9
Sefoperazon+sulbaktam	0	0	0	0
İmipenem	0	0	0	0
Gentamisin	4	3.5	1	0.9
Netilmisin	3	2.6	1	0.9
Amikasin	4	3.5	0	0
Norfloksasin	1	0.9	0	0
Siprofloksasin	2	1.7	0	0
Kotrimoksazol	29	25.2	31	27
Nitrofurantoin	1	0.9	3	2.6

## TARTIŞMA

*E.coli* en sık rastlanan idrar yolu infeksiyonu etkeni olmasının yanı sıra bu infeksiyonlar en fazla sistit tablosu olarak ortaya çıkmaktadır (4,27,68,89). Bu çalışmada da incelenen *E.coli* suşlarının %52.2'si sistit olgularından izole edilmiştir. Literatürde idrar yolu infeksiyonlarına kadınlarda erkeklerden daha sık rastlandığı bildirilmektedir (68). Çalışmamızda incelenen *E.coli* suşlarının %79'u kadın, %21'i erkek hastalardan izole edilmiştir.

İdrar yolu infeksiyonlarında etken olan *E.coli* suşlarında çeşitli virulans faktörleri belirlenmiştir. Bunlardan en ilginç olanlar; fimbriyal adheziner, aerobaktin ve  $\alpha$ -hemolizindir. Bu çalışmada farklı tipte idrar yolu infeksiyonlarında etken olan *E.coli* suşlarında yukarıdaki virulans faktörlerinin sıklığı araştırılmış ve bunlar dışkı izolatu olan kontrol *E.coli* suşlarının virulans faktörleri ile karşılaştırılmıştır.

Birçok bakteride olduğu gibi, *E.coli* suşlarında, hidrofobik proteinlerden oluşan ve bakterilerin epitel hücre yüzeyine yapışmalarını sağlayan fimbriyalar vardır (21,29). Bakterilerin konak epitel hücre yüzeyine yapışarak kolonize olması, infeksiyon hastalıklarının patogenezinde ilk adım olarak kabul edilmektedir (66,69,80,81).

*E.coli* fimbriyaları, yapışmaları mannoz tarafından önlenen MS (tip 1) ve yapışmaları mannoz tarafından önlenmeyen MR fimbriyalar olarak iki gruba ayrılırlar.

Bakterilerin üroepitel hücrelere adheransı ve sıklığı İYİ'ların klinik kategorisi ile ilişkilidir. Bugüne değin MS fimbriyaların piyelonefrit olgularında herhangi bir rolü olduğu gösterilmemiş, buna karşın MR fimbriyaların UPEC suşlarında sıklıkla bulunduğu ve bunların çoğunun P fimbriya olduğu bildirilmiştir (29,53,69,81). Ayrıca bazı kişilerin ve özellikle kadınların daha sık üriner sistem infeksiyonu geçirmesi, diğer bazı kişilerin ise bu infeksiyona yakalanmamasının nedeni henüz tam açıklığa kavuşmamışsa da, üriner sistem infeksiyonuna yatkın kadınların epitel hücrelerinde P fimbriya reseptörlerinin daha fazla bulunduğu saptanmıştır (49,71).

P fimbriya idrar yolu infeksiyonlarının, özellikle piyelonefrit olgularının patogeneğinde önemlidir; çünkü üroepitel hücrelere yapışarak, idrarın akışına karşı bakteriyi dirençli kılar ve bakterinin Gal-Gal (globozid) spesifik reseptörleri taşıyan böbrek hücrelerine tutunarak kolonizasyonuna ve sonunda inflamasyona neden olur. Ayrıca tip 1 fimbriya taşıyan suşların insan idrar yolu epitel hücrelerine zayıf olarak yapıştığı oysa MR fimbriyaya sahip olan suşların daha güçlü olarak bağlandığı bildirilmiştir (29).

Bakterilerin epitel hücre yüzeyine yapışmasını saptamak güç olduğu için, bu amaçla mikrobiyolojide daha çok hemaglutinasyon yöntemi kullanılmakta, hemaglutinasyon; bakterilerin epitel hücre yüzeylerine yapışarak, kolonizasyon oluşturma özelliğinin bir indikatörü olarak yorumlanmaktadır (26).

*E.coli* suşlarının üroepitel hücrelere yapışması ile, virulansları arasındaki ilişkiyi kanıtlayan birçok araştırma vardır (29,30,37,57).

Çeşitli araştırmalarda idrar yolundan izole edilen *E.coli* suşlarından %18-84'ünün MR fimbriya taşıdığı, bu oranın kontrol olarak incelenen dışkı izolatlarında ise %2-36 arasında olduğu, İYİ izolatlarının %36-61'inin MS fimbriyaya sahip olduğu, kontrol grupta ise bu oranın %11-66 arasında değiştiği bildirilmektedir (4,13,26,27,30,58).

Çalışmamızda incelenen UPEC suşlarında MR fimbriya taşınım oranı %24.3 olarak belirlenmiş, buna karşın kontrol suşlarda bu oran %10 olarak bulunmuştur. MS fimbriya taşınım oranları ise UPEC suşlarında ve kontrol suşlarda sırasıyla %17.4 ve %13.3 olarak saptanmıştır. Bu iki gruptaki MS fimbriya taşınım oranlarının oldukça yakın bulunması, literatürde de belirtildiği gibi İYİ'nda MR fimbriyaların MS fimbriyalara oranla daha büyük önem taşıdığını göstermektedir. Bu sonuç, MS fimbriyanın idrarda bulunan Tamm-Horsfall proteinine bağlanarak bakterilerin idrarla dışarı atılması ve bu nedenle MS fimbriyalı suşların daha az oranda İYİ oluşturduğu teorisini de desteklemektedir. Ancak orta yaşın üstündeki kişilerin idrarında bu proteinin azaldığı ve yaşlılıkta MS fimbriyalı suşların da İYİ'na neden olduğu bildirilmektedir (78). Çeşitli araştırmacılar İYİ'nın farklı klinik tablolarında etken olan *E.coli*

suşlarının MR fimbriya taşıma oranlarını; piyelonefrit olgularında %45-83, sistit olgularında %13-68, ABÜ olgularında %18-52 olarak belirlemişlerdir. Buna karşın MS fimbriyaya sahip UPEC suşlarının oranları; sistit olgularında %21-91, piyelonefrit olgularında %10-86, ABÜ olgularında %33-69 olarak saptanmıştır (16,26,29,81). Bu sonuçlar piyelonefrit patogeneğinde MR, sistit patogeneğinde ise MS fimbriyaların daha önemli rol oynadığını göstermektedir. Çalışmamızda da, piyelonefrit etkeni suşlarda MR fimbriya taşınımı %35.7, MS fimbriya taşınımı ise %7 oranında bulunmuştur. Sistit olgularında MS fimbriyalı suş oranının %18.3 piyelonefrit izolatlarındakinden %7 daha yüksek olduğu görülmüştür.

MR/P adhezinlerin patojenitedeki rolü kesin olarak açıklanamamıştır. Ancak patojenitede rol oynayan mekanizmalar içerisinde, böbrek hücreleri üzerindeki MR/P adhezinlere özgül reseptörlerin varlığına bağlı olarak ortaya çıkan spesifik organotropizm ve idrar yolunda konağın fagositik aktivitesine ve spesifik immün cevabına ilişkin selektif bir baskının bulunmayışı gibi faktörlerin birlikte etkili olduğu düşünülmektedir (26).

Çeşitli araştırmalarda MR ve MS fimbriya taşımayan *E.coli* suşlarına en düşük oranda piyelonefrit etkenleri arasında ve en yüksek oranda ise dışkı izolatları arasında rastlandığı bildirilmiştir (26,29). Çalışmamızda da UPEC suşları arasında fimbriya taşımayanların oranı %61.7, kontrol suşlarda ise %76.7 olarak belirlenmiştir.

Bakterilerin üremeleri için besin olarak demire gereksinimleri vardır (87). Birçok bakteri düşük molekül ağırlıklı demir-bağlayan bileşimleri yani sideroforları sentez eder. *E.coli* suşları iki ayrı demir bağlayıcı siderofor meydana getirebilir. Bunlar aerobaktin ve enterobaktindir. Bu sideroforlar demire yüksek derecede afinite gösterir. Böylece konak proteinine bağlı demirin bakteri tarafında alınarak kullanılabilmesini sağlar. *E.coli* 'de aerobaktin siderofor, enterobaktinden daha etkilidir (1,16,90).

Deneyssel olarak geliştirilen infeksiyonlarda demir enjeksiyonunun bakteriyel virulansı arttırdığı belirlenmiştir (6). Aynı şekilde kanda

hemoglobin bileşenlerinin serbest kalması sonucunda çoğu bakterilerin virulansının arttırılabildiği ve bu durum ciddi klinik komplikasyonlara yol açabildiği gösterilmiştir (9,40).

*E.coli* suşlarında aerobaktin üretimi bioassay ile saptanabilmektedir. Çalışmamızda da aynı yöntemden yararlanılmıştır. Bu yöntemde üremesi için aerobaktine gereksinim duyan mutant bir suş olan *E.coli* LG1522 indikatör olarak kullanılmıştır. *E.coli* LG1522 enterobaktin reseptörü taşımayan (fep A) bunun yanında aerobaktin üretimine ilişkin geni içermeyen (iuc<sup>-</sup>), ancak fonksiyonel aerobaktin reseptör geni bulunan (iut<sup>+</sup>) pColV plazmidini taşıyan bir suştur. Bu suş basit ve zengin besiyerlerinde üreyebilir, düşük demirli besiyerlerinde üreyemez, ancak aerobaktin oluşturan başka bir *E.coli* varlığında, aerobaktin gereksinimi karşılandığı için üreyebilir (16).

İndikatör suş normal besiyerlerinde pasaj yapıldığı zaman besiyerinde mevcut olan besinleri sitoplasmasında depolar. Düşük demirli besiyerlerine ekildiği zaman zayıf bir üreme gösterir. Bu nedenle aerobaktin deneyi yapılmadan önce düşük demirli besiyerinde birkaç pasaj yapmak gerekir. Bu suretle bakteri depoladığı besini (örn. demir) tüketir. Bakterinin düşük demirli besiyerlerinde üremeyen son pasajının deneyde kullanılması gerekir. *E.coli* suşlarında aerobaktin üretimine ilişkin olarak yapılan çeşitli çalışmalarda farklı oranlar bildirilmiştir. Bu farklılığın coğrafik bölgelere, uygulanan yöntem ve seçilen hasta gruplarına bağlı olduğu düşünülmektedir (35).

Doğadan izole edilen *E.coli* suşlarında aerobaktin üretenlerin prevalansı %6 belirgin biçimde düşük olarak saptanmaktadır. Bu oran gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunan suşlarda %34-44 arasında belirlenmektedir. Oranlar arasındaki bu önemli fark; aerobaktinin konak dokularında kolonizasyonu kolaylaştırdığının işareti olarak yorumlanmaktadır (82). Ancak bazı araştırmacılar enteropatojen *E.coli* suşlarının virulansında aerobaktinin rolünün önemli olmadığını bildirmişlerdir (67). Dışkıdan izole edilen *E.coli* suşlarında aerobaktin üretiminin yüksek oranda bulunması, böyle suşların barsağın mikrobiyal ekosistemi içinde demir alımı için kolayca rekabet edebildiğini göstermektedir (67,91).

Çalışmamızda da, UPEC suşlarında ve dışkı izolatlarında aerobaktin üretenlerin oranı %42.6 ve %43.3 olarak saptanmıştır.

Çeşitli araştırmalarda idrar yolu infeksiyonlarının farklı klinik tablolarında etken olan *E.coli* suşlarında aerobaktin üretimi oldukça farklı bulunmuştur. Ortalama sonuçlara göre, aerobaktin üreten suşların oranı; piyelonefrit izolatlarında %73, sistit izolatlarında %49, ABÜ izolatlarında %38, ayrıca bakteremi izolatlarında %58 olarak belirtilmektedir (31,32,35,89). Bu oranlar gerek İYİ'nda ve gerekse diğer infeksiyonlarda aerobaktinin önemli bir virulans faktörü olduğunu göstermektedir.

Benzer şekilde çalışmamızda aerobaktin pozitif suşlar; piyelonefritli hasta izolatlarında %64.3, sistitlilerde %46.6, ABÜ'de %30 olarak saptanmış, bu bulgular aerobaktin üretimini, özellikle piyelonefrit olgularında başlıca virulans faktörü olduğu fikrini vermiştir.

Westerland ve ark. (89) piyelonefrit izolatlarında, alt İYİ izolatlarına göre aerobaktin üretimini daha yüksek saptamışlardır. Çalışmamızda da piyelonefrit izolatlarında aerobaktin üretimi %64.3, alt İYİ'lu hasta izolatlarında bu oran %41 olarak belirlenmiştir.

Yapılan az sayıdaki çalışmalara İYİ'na predispozan faktörleri taşıyan hastalardan İYİ etkeni olarak izole edilen *E.coli* suşları arasında aerobaktin oluşturanların oranı, bu faktörleri taşımayan hastalardan izole edilenlere göre daha düşük bulunmuştur (35,36). Çalışmamızda da benzer şekilde bu oranlar sırası ile %27.3 ve %44.2 olarak saptanmıştır.

Aerobaktin sentez eden *E.coli* suşlarının özellikle bebeklerde, kız çocuklarında ve kadınlarda ciddi İYİ'larına neden olduğu bildirilmektedir (32,80,89). Çalışmamızda en yüksek aerobaktin pozitif suş oranı piyelonefritli çocuklarda %83.3, piyelonefritli kız çocuklar ve kadınlarda sırasıyla %35.7 ve %21.4 olarak saptanmıştır. Bu bulgularımız diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur.

Hemolitik *E.coli* suşları yaşamlarını sürdürmek için (üremek için) hemolizin sentezleyerek eritrositleri parçalamakta ve bu surette demir

gereksinimini hem ve hemoglobinden sağlamaktadır. Ayrıca hemolizinlerin polimorf nüveli lökositler, monositler ve fibroblastlar üzerine toksik etkili olduğu gösterilmiştir.

*E.coli* suşlarında en az iki değişik hemolizin ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) saptanmıştır. Alfa hemolizin hücreye bağlı olmayan, suda eriyebilen, tripsine duyarlı ve genellikle aktivasyonu için kalsiyum iyonlarını gereksinen bir ekzotoksindir. Beta hemolizin ise hücreye bağlı bir toksindir (75,76).

Beta hemolizinin klinik önemi ve bulunuş sıklığı konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır; ancak beta hemolizinin aktivitesi çeşitli yöntemlerle inhibe edildiğinde nükleik asitlerin ve proteinlerin sentezi inhibe olduğu saptanmış, bu nedenle beta hemolizinin bakterinin metabolik aktivitesi için gereken bir madde olduğu sonucuna varılmıştır (75).

*E.coli*  $\alpha$ -hemolizini renal tübüler hücrelerde hasar oluşturucu etkiye sahiptir (41). Bu hemolizin yeterli düzeyde bulunduğundan hücre membranında por oluşumuna sitoplazmik komponentlerin serbest kalmasına neden olur. Sonuçta böbrek harabiyetine yol açar. Toksinin düşük düzeyde bulunması halinde ise ökaryot hücrelerin fonksiyonlarında çeşitli etkiler meydana gelir. Bunlardan başlıcaları sitokin salınımı ve süperoksidlerin üretimi konusunda hücrelerin uyarılmasıdır (68). Ayrıca mast hücrelerinden ve bazofillerden histamini açığa çıkarır (28,72). Bu bulgular; hemolizinlerin hem demir sağlayarak bakterinin üremesini desteklemek ve hem de konağın dokularına doğrudan zarar vermek suretiyle bakteri virulansını arttırdığı fikrini vermektedir. Bir araştırmada, fare ve kobayda oluşturulan asendan İYİ modelinde hemolizin üretiminin mesanede bakteri kolonizasyonunun artışı ve nefropatojenite arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (18,31). Hemolizine karşı oluşan aktif ya pasif bağışıklığın fareleri hemolitik suşların infeksiyonuna karşı koruduğu saptanmıştır (22).

Alfa hemolizin moleküllerinin eritrosit membranından geçişinde kalsiyum iyonlarının maksimal etki sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca alkalin pH'nın, zengin besiyerlerinin ve inkübasyon süresinin 48 saate

kadar uzatılmasının,  $\alpha$ -hemolizinin in-vitro koşulda gösterilmesinde daha uygun olduğu bildirilmiştir (37,75).

Çalışmamızda yukarıdaki faktörler göz önüne alınarak  $\alpha$ -hemolizin oluşumu incelenmiştir. Birinci gün suşların %25.5'inde hemolizin aktivitesi saptanırken, 2. gün bu oran %42'ye yükselmiştir. Ayrıca suşların %11'inin sadece kalsiyumlu besiyerinde hemoliz oluşturduğu belirlenmiştir. Bu bulgular  $\alpha$ -hemolizinin belirlenmesinde besiyerine  $Ca^{++}$  ilâvesinin ve 48 saatlik inkübasyon süresi sağlanmasının yararlanılması gereken faktörler olduğunu düşündürmüştür.

Ayrıca  $Ca^{++}$  içermeyen besiyerinde hemoliz oluşturmayan suşların oranının dışkı izolatlarında, UPEC suşlarına göre daha yüksek olması da dikkat çekici bulunmuştur. Kalsiyumsuz ortamda hemoliz oluşturmayan suşların çoğunun dışkı izolatları olduğu, 1 günlük inkübasyon sonrasında İYİ izolatlarının dışkı izolatlarından daha güçlü hemolizin aktivitesi gösterdiği saptanmıştır.

UPEC suşlarının dışkı izolatlarından daha yüksek oranda hemolitik bulunduğunu bildiren çeşitli çalışmalar vardır. Israele ve ark. (30) İYİ izolatlarında %37 ve kontrol suşlarda %25, Green ve ark. (27) ise İYİ izolatlarında %38, kontrol suşlarda %6 oranında hemolitik aktivite saptamışlardır. Buna karşın Barlas ve ark.(4) aynı oranları sırasıyla %16 ve %20 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda da bu son araştırmaya benzer şekilde İYİ izolatlarının %40.8'inde, kontrol suşların %46.7'sinde  $\alpha$ -hemolizin belirlenmiştir.

Çeşitli araştırmalarda piyelonefrit etkeni *E.coli* suşlarının %29-68'inin  $\alpha$ -hemolizin oluşturduğu ve en yaygın hemolizin üretiminin piyelonefrit izolatlarında saptandığı bildirilmiştir (53,58,81,89).

Çalışmamızda ise, piyelonefrit izolatlarının %42.8'inde, sistit izolatlarının %41.7'sinde, ABÜ izolatlarının %40'ında  $\alpha$ -hemolizin aktivitesi saptanmıştır. Önemli bir fark olmamakla birlikte, piyelonefrit etkenlerinde  $\alpha$ -hemolizin oluşturanların oranı biraz daha yüksek bulunmuştur.

Bazı araştırmacılar İYİ izolatı olan *E.coli* suşlarında aerobaktin ve P fimbriyanın genellikle beraber bulunduğunu ve bu iki virulans faktörünün muhtemelen birbirine bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (32).

Jacobson ve ark. (32) piyelonefritojenik *E.coli* suşlarında hem aerobaktin, hem de P fimbriya taşınım sıklığını istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda piyelonefrit izolatlarında %21.4, sistit izolatlarında %11.6, dışkı izolatlarında ise %3.3 oranında MR fimbriya ve aerobaktin bulunduğu saptanmıştır. Bu bulgular yukarıdaki araştırmanın sonucu ile uyumludur. Bir çalışmada, sistitli çocuklardan izole edilen suşların, çoğu kez sistitli erişkinlerden daha fazla oranda aerobaktin ve P fimbriyaya birlikte sahip olduğu saptanmıştır (46). Buna karşın, çalışmamızda aerobaktin ve MR fimbriyaların birlikte taşınım oranları, sistitli çocuklardan izole edilen suşlarda ve sistitli erişkin izolatlarında sırasıyla %9.9 ve %10 olarak belirlenmiştir.

İYİ'lerinin tüm farklı klinik tabloları birlikte ele alındığında, *E.coli* suşlarında aerobaktin oluşturan ve MR fimbriya taşıyanların sıklığı, aerobaktin oluşturan ve MS fimbriya taşıyanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol olarak kullanılan dışkı izolatlarında ise aerobaktin oluşturan ve MR ya da MS fimbriya taşıyan suşların oranı %3.3 ve %3.3 dikkat çekici oranda düşük saptanmıştır.

Hemolitik UPEC suşlarının genellikle MRHA verdiği (23,27), MRHA<sup>+</sup> hemolitik suşların, MRHA<sup>-</sup> hemolitik suşlara göre daha yüksek oranda mast hücrelerinden histamin salınımına neden oldukları bildirilmektedir (28). Bazı araştırmacılar *E.coli* suşlarında bakteriyel adhezinlerin başlıca virulans faktörü olduğunu savunurken (65,77), başka bir grup ise  $\alpha$ -hemolizin İYİ'lerinin patogenezinde daha önemli olduğunu iddia etmektedirler (76). Farelerde P fimbriya ve  $\alpha$ -hemolizine sahip suşlarla geliştirilen asendan infeksiyonlar incelendiğinde bakterilerin mesane ve böbrekte kolonize olduğu ve deney hayvanlarının 2/3'sinin öldüğu belirlenmiştir. Buna karşılık sadece P fimbriya taşıyan suşlarla geliştirilen infeksiyonlarda kolonizasyon meydana gelmiş, ancak böbrek hasarı ve ölüm görülmemiştir. Her iki virulans faktörünü de taşımayan suşların farelerde kolonize olmadığı bildirilmiştir.

Bu bulgular; hemolizinlerin böbrek hasarında önemli rol oynadığını, P fimbriya ve  $\alpha$ -hemolizin oluşturan *E.coli* suşlarında fimbriyalar bakterilerin kolonizasyonunu sağlarken, hemolizinin de doku harabiyetine neden olduğunu ve bu yolla her iki virulans faktörünün birbirinin etkisini güçlendirdiğini düşündürmektedir (68).

Green ve ark. (27) inceledikleri UPEC suşlarından %67'sinin hem hemolizin ürettiğini, hemde insan O grubu eritrositlerini aglutine ettiğini bildirmişlerdir.

Coşar (13), UPEC suşlarında hemolizin yapımı ile hemaglutinasyon aktivitesi arasında istatistiksel yönden anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda incelenen 115 UPEC suşundan %13.9'unun hem hemolitik olduğu, hemde MR fimbriya taşıdığı belirlenmiştir. Ayrıca çeşitli İYİ tablolarında  $\alpha$ -hemolizin üretimi ve MR fimbriya taşınımı birlikte ele alındığında; en yüksek oranın %21.5 piyelonefrit izolatlarında olduğu saptanmış, kontrol suşlar ise bu oran %10 olarak bulunmuştur.

UPEC suşları ile yapılan çeşitli araştırmaların sonucunda,  $\alpha$ -hemolizin üretimi ile aerobaktin arasında bir ilişki bulunamamıştır (32). Çalışmamızda da  $\alpha$ -hemolizin ve aerobaktini birlikte oluşturan suşların oranı düşük bulunmuştur. Her iki virulans faktörünü birlikte taşıyan UPEC suşlarının oranı %16.5 ile dışkı izolatlarının oranı da %16.7 birbirine çok yakın bulunmuştur. Bu sonuçlar, her ikisi de demir alımı ve kullanımı ile ilgili olan bu iki virulans faktöründen sadece birini üretmesinin bakteri için yeterli olduğu fikrini vermiştir.

Bir infeksiyonun gelişmesi üç faktör tarafından belirlenir. Bunlar; 1- İnokulum miktarı, 2- Bakterinin virulansı, 3- Konağın savunma mekanizmasıdır. Bunlar aynı zamanda İYİ'nin lokalizasyonunu da belirler. Üriner sistemde konağın savunmalarının baskılanmasına neden olan yapısal ya da işlevsel bir bozukluğun bulunduğu durumlarda virulansı düşük bir bakterinin çok küçük miktarı bile ciddi bir infeksiyon oluşmasına neden olabilirken, alta yatan major bir anomalinin bulunmadığı, konağın

savunmalarının yeterli olduğu durumlarda esas rolü inokulum miktarının ve bakteriyel virulans faktörlerinin oynadığı bildirilmektedir (83,84,85).

Duyarlı bir konakta gelişecek olan İYİ'nun tipi kısmen de olsa infekte eden suşun taşıdığı virulans faktörleri ile ilgilidir. Bu virulans faktörleri arasında bakterinin O ve K antijenleri, insan serumunun bakterisit etkisine direnç, insan idrar yolu epitel hücrelerine tutunma, aerobaktin ve hemolizin oluşturma özellikleri sayılabilir. Akut piyelonefritli hastalardan izole edilen *E.coli* suşunun birkaç virulans faktörüne ve hatta tümüne sahip oldukları, buna karşın aynı özelliğe dışkı izolatlarında rastlanmadığı, ayrıca bağışıklığı baskılanmış İYİ'lu hastalardan izole edilen suşlarda da az sayıda virulans faktörü bulunduğu bildirilmektedir (29,36,50).

Bu bulgular, *E.coli*'nin virulans faktörlerinin, ürolojik ve immünolojik yönden baskılanmış bireylere oranla, normal bireylerde daha büyük önem taşıdığını göstermektedir. Bu nedenle üst İYİ'lu hastalarda virulans faktörü taşımayan bir suş ile infeksiyon saptandığında, infeksiyonu hazırlayıcı faktörlerin mutlak araştırılmasını öneren yazarlar vardır (64).

Stamm ve ark. (80) ile, Lomberg ve ark. (50,51), UPEC suşlarındaki virulans faktörlerini araştırdıkları çalışmalarda; piyelonefritojen suşlarda birden çok sayıda virulans faktörü bulunduğunu bildirmişlerdir. Sandberg ve ark. (69) ise farklı yaş gruplarındaki İYİ'lu hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarındaki virulans faktörlerini araştırmış, bu faktörler ile hastaların yaşı arasında bir ilişki kurulamamıştır. Çalışmamızda da çoğul virulans faktörü taşınımına özellikle piyelonefrit etkeni suşlarda yüksek oranda rastlanmış, İYİ yönünden hazırlayıcı faktörlere sahip hastalara ait *E.coli* suşlarının bu üç virulans faktörünü birlikte taşımadıkları saptanmıştır.

Türkiye'de 1988-1992 yılları arasında yapılan araştırmalarda idrar izolatlarına en etkili antimikrobiyal maddelerin kinolonlar ve amikasin olduğu bildirilmiştir (13,42,45,86).

Çalışmamızda incelenen UPEC suşlarında en yüksek direnç; ampisilin %63.5, sefalotin %53.9, trimetoprim-sulfametoksazol %52.2 ve ampisilin-sulbaktam %47.8 karşı belirlenmiş, suşların çok azında kinolonlara %0.9-1.7 ve 3. kuşak sefalosporinlerden seftriaksona %1.7 direnç saptanmış, suşların hiçbirinde sefoperazon-sulbaktam ve imipenem direncine rastlanmıştır.

Aerobaktin sentezine ilişkin genlerin genellikle antimikrobiyal maddelere direnç genleri ile birlikte aynı plazmitte taşındığı bildirilmektedir (62,90). Antimikrobiyal tedavi uygulandığında oluşan selektif baskı sonucunda bir yandan dirençli mutantlar çoğalıp, antimikrobiyal direnci oluştururken, bu direnci kodlayan plazmit aynı zamanda aerobaktin üretimini de sağlar. Aerobaktin genlerini kodlayan bu plazmit konjugatif özellikte olduğu için bakteriler arasında transfer edilebilir (16). Bu bilgilere dayanılarak çalışmamızda aerobaktin oluşturan ve oluşturmayan *E.coli* suşlarının antimikrobiyal maddelere direnç oranları karşılaştırılmış; ancak bu oranlar arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir.

## SONUÇLAR

1- UPEC suşlarında MR fimbriya taşınım oranı %24.3, dışkıdan izole edilen kontrol suşlarda bu oran %10 olarak bulunmuştur. İYİ'lerinin değişik klinik tablolarında etken *E.coli* suşlarında MR fimbriyaların taşınım oranları %21.7-35.7 MS fimbriyaların taşınım oranlarından %7-23.3 daha yüksek bulunmuş. Kontrol suşlarda ise bu oranlar sırasıyla %10 ve %13.3 olarak saptanmıştır. Ayrıca en yüksek MR fimbriya taşınımı %35.7 piyelonefritojen suşlarda belirlenmiştir. UPEC suşları arasında fimbriya taşımayanların oranı %61.7, kontrol suşlarda ise %76.7 olarak belirlenmiştir.

2- UPEC suşlarında ve dışkı izolatlarında aerobaktin üretenlerin oranı %42.6 ve %43.3 olarak saptanmıştır. Ancak İYİ'nın farklı klinik tablolarında etken olan *E.coli* suşlarında aerobaktin üretimi oldukça farklı bulunmuştur. Aerobaktin pozitif suşlar, piyelonefritli hasta izolatlarında %64.3, sistitlilerde %46.6, ABÜ'de %30 olarak saptanmıştır. Ayrıca piyelonefrit izolatlarında aerobaktin üretimi %64.3 iken, alt İYİ'lu hasta izolatlarında bu oran %41 olarak belirlenmiştir. Bu bulgu, aerobaktin üretiminin özellikle piyelonefrit olguları ile ilişkili olduğunu doğrulamaktadır. İYİ'na predispozan faktörleri taşıyan hasta izolatlarında aerobaktin oluşturanların oranı %27.3, bu faktörleri taşımayan hasta izolatlarındakinden %44.2 daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular aerobaktinin UPEC suşlarında önemli bir virulans faktörü olduğunu göstermektedir.

3- Besiyerlerine  $Ca^{++}$  ilâvesinin ve inkübasyon süresinin uzatılmasının  $\alpha$ -hemolizin aktivitesini artırıcı etki gösterdiği, 1.gün İYİ izolatlarının dışkı izolatlarından daha güçlü hemolizin aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. İYİ'lu hasta gruplarından izole edilen *E.coli* suşlarında  $\alpha$ -hemolizin aktivitesi yönünden önemli bir fark bulunmamakla birlikte, piyelonefrit etkenlerinde  $\alpha$ -hemolizin oluşturanların oranı biraz daha yüksek bulunmuştur.

4- UPEC suşları içinde hem aerobaktin oluşturan, hem de MR fimbriya taşıyan suşların oranı %12.2 dışkı izolatlarındakinden %3.3 daha yüksek bulunmuş, ayrıca bu iki virulans faktörünün birlikte taşınımına en

yüksek oranda %21.4 piyelonefrit etkeni suşlarda rastlanmıştır. İYİ'lerinin farklı klinik tablolarında etken olan *E.coli* suşlarında aerobaktin oluşturan ve MR fimbriya taşıyanların sıklığının aerobaktin oluşturan ve MS fimbriya taşıyanlara göre daha yüksek olduğu saptanmış, dışkı izolatlarında ise aerobaktin oluşturan ve MR ya da MS fimbriya taşıyan suşların oranı dikkat çekici oranda düşük bulunmuştur. Bu gözlemler incelenen virulans faktörleri içinde fimbriyal adhezinlerin rolünün önemini göstermektedir.

5- Hem  $\alpha$ -hemolizin oluşturan, hem de MR fimbriya taşıyan suşlara en yüksek oranda piyelonefrit izolatlarında %21.5 rastlanmıştır. Kontrol suşlarda ise bu oran %10 olarak bulunmuştur.

6- UPEC suşları arasında,  $\alpha$ -hemolizin ile aerobaktin üretimi arasında bir ilişki bulunamamıştır.

7- Çoğul virulans faktörü taşınımı özellikle piyelonefrit etkeni suşlarda yüksek oranda belirlenmiş, İYİ yönünden hazırlayıcı faktörlere sahip hastalar ait *E.coli* suşlarından hiçbirinin bu üç virulans faktörünü birlikte taşımadıkları saptanmıştır.

8- Aerobaktin oluşturan ve oluşturmayan UPEC suşlarında çeşitli antimikrobiyal maddelere direnç oranları karşılaştırıldığında belirgin bir fark gözlenmemiştir.

## ÖZET

Virulans, mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneğidir. Tüm bakteriler üriner sistemde aynı derecede inflamasyon yol açmazlar. Bazı üriner patojenler avirulan ve fırsatçı olup, yalnızca konağın bağışıklığı baskılandığı zaman infeksiyon oluşturabilirler. Diğerleri ise virulans faktörleri sayesinde kolon florasından üriner sisteme kolayca girebilir ve konağın savunmalarına karşı koyarak infeksiyon oluşturabilirler.

Bu çalışmada *E.coli* suşlarının hangi virulans faktörlerinin İYİ'nda önemli rol oynadığını belirlemek amacıyla; 115 İYİ'lu hastadan izole edilen *E.coli* suşu ile, sağlıklı çocukların dışkı örneklerinden normal flora bakterisi olarak izole edilen 30 *E.coli* suşunda üç ayrı virulans faktörü (fimbriyal adhezinler, aerobaktin ve  $\alpha$ -hemolezin) araştırılmıştır.

İncelenen UPEC suşlarının %52.2'si sistit olgularından ve %79'u kadın hastalardan izole edilmiştir. UPEC suşlarında MR fimbriya taşıyım oranı %24.3 iken, kontrol suşlarda bu oran %10 olarak bulunmuştur. İYİ'nun değişik klinik tablolarında MR fimbriyaların taşıyım oranı %21.7-35.7 MS fimbriyalarından %7-23.3 daha yüksek bulunmuştur. Kontrol suşlarda ise bu oran sırasıyla %10 ve %13.3 olarak saptanmıştır. MR fimbriyaya sahip olan suşlara en fazla piyelonefrit izolatlarında %35.7 rastlanmıştır.

Çalışmamızda UPEC suşlarında ve dışkı izolatlarında aerobaktin üretenlerin oranı %42.6 ve %43.3 olarak saptanmıştır. Ancak İYİ'larının farklı klinik tabloları dikkate alındığında; piyelonefritli hasta izolatlarından %64.3'ünün ve piyelonefritli çocuklardan izole edilen suşların %83.3'ünün aerobaktin ürettiği saptanmıştır. Aerobaktin üretim oranı üst İYİ'lu izolatlarında alt İYİ'lu hasta izolatlarına göre daha yüksek saptanmıştır. İYİ'na predispozan faktörleri taşıyan hasta izolatlarında aerobaktin üretenlerin oranı %27.3, bu faktörleri taşımayan hasta izolatlarından %44.2 daha düşük bulunmuştur.

Kalsiyum ilâveli kanlı besiyeri kullanılarak ve inkübasyon süresi arttırılarak *E.coli* suşlarının  $\alpha$ -hemolizin aktivitesinin arttığı ve birinci günde İYİ izolatlarında dışkı izolatlarından daha güçlü bir hemolizin

aktivitesi gözlenmiştir. İYİ'lu hasta gruplarına ait izolatlarında  $\alpha$ -hemolizin oluşturma yönünden önemli bir fark belirlenmemekle birlikte, piyelonefrit etkenlerinde  $\alpha$ -hemolizin oluşturanların oranı %42.8 biraz daha yüksek bulunmuştur.

Aerobaktin ve MR fimbriyaya birlikte sahip olan suşlara en yüksek oranda %21.4 piyelonefrit etkeni suşlarda ve en düşük oranda %3.3 dışkı izolatlarında rastlanmıştır. İYİ'larının tüm farklı klinik tablolarında etken olan *E.coli* suşları içinde aerobaktin oluşturan ve MR fimbriya taşıyanların sıklığı %11.6-21.4 aerobaktin oluşturan MS fimbriya taşıyanlara %6.7-8.4 göre daha yüksek, dışkı izolatlarında ise aerobaktin oluşturan ve MR ya da MS fimbriya taşıyan suşların oranı %3.3 oldukça düşük saptanmıştır.

Alfa hemolizin ve MR fimbriyayı beraber taşıyan suşlar en yüksek oranda %21.5 piyelonefrit izolatlarında saptanmıştır. Kontrol suşlarda ise bu oran %10 olarak bulunmuştur. UPEC suşlarında,  $\alpha$ -hemolizin ile aerobaktin üretimi arasında bir ilişki belirlenmemiştir.

Piyelonefritli hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarında genellikle birden fazla virulans faktörü bulunmasına karşın, kontrol suşlarda bu faktörlerin daha az sıklıkla bulunduğu, predispozan faktörlere sahip İYİ'lu hastalardan izole edilen UPEC suşlarının hiçbirinin bu üç virulans faktörüne birden sahip olmadıkları gözlenmiştir.

Antimikrobiyal maddelere duyarlılıkları araştırıldığında UPEC suşlarında en yüksek oranda direnç ampisiline karşı saptanırken, hiçbirinde sefoperazon-sulbaktam ve imipenem direncine rastlanmamıştır. Aerobaktin oluşturan ve oluşturmeyen UPEC suşlarında denenen antimikrobiyal maddelere direnç oranları yönünden belirgin bir fark gözlenmemiştir.

**KAYNAKLAR**

1. Aisen P, Leibman A: **Lactoferrin and transferrin, a comparative study.** Biochim Biophys Acta 257:314 (1972).
2. Akan E: **Tıbbi Mikrobiyoloji**, 2.baskı, s.70 Saray Medikal Yayıncılık, İzmir (1993).
3. Bagg A, Neilands B: **Molecular mechanism of regulation of siderophore-mediated iron assimilation**, Microbiol Rev 51:509 (1987).
4. Barlas Ş, Çolak H, Usluer G: **Üriner sistem infeksiyonlarında etken olan *Escherichia coli*'lerin hemoliz ve adheziv özellikleri**, İnfeksiyon Derg 6:35 (1992).
5. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology**, 9.baskı, s.362, The Mosby Co, London (1994).
6. Barry DMJ, Reeve AW: **Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with in intramuscular iron administration**, Pediatrics 60:908 (1977).
7. Bilgehan H: **Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları**, 9.baskı, s.4 Şafak matbaacılık, İzmir (1994).
8. Bilgehan H: **Klinik Mikrobiyolojik Tanı**, I.baskı, Barış Yayınları, İzmir (1992).
9. Bornside GH, Bouis PJ, Cohn L: **Hemoglobin and *Escherichia coli*, a lethal intraperitoneal combination**, J Bacteriol 95:1567 (1968).
10. Brenner DJ: **Enterobacteriaceae "NR Krieg, JG Holt (eds): Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology Vol 1" kitabında**, s.408, Williams and Wilkins, Baltimore, London (1984).
11. Briton CC: **Non-flagellar appendages of bacteria**, Nature 183:782 (1959).

12. Cavalieri SJ, Bohach GA, Snyder AS: ***Escherichia coli*  $\alpha$ -hemolysin: characteristics and probable role in pathogenicity**, Microbiol Rev 48:326 (1984).
13. Coşar G: **Üropatojen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları hemoliz ve insan 0-grubu eritrositler ile hemaglütinasyon özellikleri**, İnfeksiyon Derg 2:55 (1988).
14. Coşar G: ***Escherichia coli* suşlarında P-fimbriyalar ve idrar yolu infeksiyonu patogeneğinde rolleri**, "Tümbay E, Tünger A, Hilmi Z, (eds): 3. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabında" s.148 (1991).
15. Çakır N, Bahar H, Şaşmaz E, Karamızrak T, Okuyan M: **Üropatojen *Escherichia coli* kökenlerinin hidrofobik özellikleri ve bunun hemaglutinasyon ve *Candida* aglutinasyonla ilişkisi**. Türk Mikrobiyol Cem Derg 16:74 (1986).
16. de Lorenzo V, Martinez JL: **Aerobactin production as a virulence factor: A reevaluation**, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 7:621 (1988).
17. de Ree YM, Schwillens P, Vanden Bosch JF: **Monoclonal antibodies for serotyping the fimbriae of uro-pathogenic *Escherichia coli***, J Clin Microbiol 24:121 (1986).
18. Domingue GJ, Laucirica R, Baglia P, Covington S, Robledo JA, Li SC: **Virulence of wild-type *Escherichia coli* uroisolates in experimental pyelonephritis**, Kidney Int 34: 761 (1988).
19. Duguid JP, Anderson ES: **Terminology of bacterial fimbriae, or pilli, and their types**, Nature (London) 215:89 (1967).
20. Duguid JP, Gillies RR: **Fimbriae and adhesive properties in dysentery bacilli**, J Pathol Bacteriol 74:397 (1957).
21. Duguid JP, Smith IW, Dempster G, Edmunds PN: **Non flagellar filamentous appendages ("fimbriae") and haemagglutinating activity in bacterium *coli***, J Pathol Bacteriol 70:335 (1955).

22. Emody L, Batai I, Kerényi M, Székely J, Polyak L: **Anti-*Escherichia coli* alfa-hemolysin in control and patient sera**, *Lancet* 2:986 (1982).
23. Evans DJ, Evans DG, Hohne C, Noble MA, Haldane EV, Lior H, Young LS: **Hemolysin and K antigens in relation to serotype and hemagglutination type of *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections**. *J Clin Microbiol* 13:171 (1981).
24. Ewing WH: **Edwards in Ewing's Identification of Enterobacteriaceae**, 4.baskı s.93, Elsevier, New York, Amsterdam, Oxford (1996).
25. Farmer JJ, Kelly MT: **Enterobacteriaceae "A Balows, WJ Hausler, KL Herrmann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): Manual of clinical microbiology 5. baskı" kitabında, s.360, ASM Press, Washington DC (1991).**
26. Gander RM, Thomas VL, Forland M: **Mannose-resistant hemagglutination and P receptor recognition of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from adult patients**, *J Infect Dis* 151:508 (1985).
27. Green CP, Thomas VL: **Hemagglutination of human type O erythrocytes, hemolysin production and serogrouping of *Escherichia coli* isolated from patients with acute pyelonephritis, cystitis and asymptomatic bacteriuria**, *Infect Immun* 31:309 (1981).
28. Gross-Weege W, König W, Scheffer J, Nimmich W: **Induction of histamine release from rat mast cells and human basophilic granulocytes by clinical *Escherichia coli* isolated and relation to hemolysin production and adhesin expression**, *J Clin Microbiol* 26:1831 (1988).
29. Hagberg L, Jodal U, Korhonen TK, Lidin-Janson G, Lindberg U, Svanborg Eden C: **Adhesion, hemagglutination and virulence of *Escherichia coli* causing urinary tract infection**, *Infect Immun* 31:564 (1981).

30. Israele V, Darabi A, Mc Cracken G: **The role of bacterial virulence factors and Tamm-Horsfall protein in the pathogenesis of *Escherichia coli* urinary tract infection in infant**, Am J Dis Child 141:1230 (1987).
31. Iwahi T, Abe Y, Tsuchiya K: **Virulence of *Escherichia coli* in ascending urinary-tract infection in mice**, J Med Microbiol 15:303 (1982). (35 No'lu kaynakta site edilmiştir).
32. Jacobson SH, Hammarlind M, Lidfeldt KJ: **Incidence of aerobactin positive *Escherichia coli* strains of patient with symptomatic urinary tract infection**, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 7:630 (1988).
33. Jacobson SH, Kallenius G, Lins LE, Svenson SB: **P fimbriae receptors in patients with chronic pyelonephritis**, J Urol 139:900 (1986).
34. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: **Review of Medical Microbiology, 17. baskı**, s.233, Appleton and Lange, Connecticut (1987).
35. Johnson JR: **Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection**, Clin Microbiol Rev 4:80 (1991).
36. Johnson JR, Moseley SL, Roberts PL, Stamm WE: **Aerobactin and other virulence factor genes among strains of *E.coli* causing urosepsis. Association with patient characteristics**, Infect Immun 56:405 (1988). (35 No'lu kaynakta site edilmiştir).
37. Johnson JR, Roberts LP, et al.: **P fimbriae and other virulence factors in *Escherichia coli* urosepsis. Association with patients characteristics**, J Infect Dis 156:225 (1987).
38. Johnson JR, Stamm WE: **Urinary tract infection in women: diagnosis and therapy**, Ann Intern Med 111:906 (1989).
39. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert GM: **Zinsser Microbiology, 19.baskı**, s.464, Appleton and Lange, Connecticut (1988).

40. Kaye D, Gill FA, Hook EW: **Factors influencing host resistance to *Salmonella* infections: the effects of hemolysis and erythrophagocytosis**, Am J Med Sci 254:205 (1967).
41. Keane WF, Welch R, Gekker G, Peterson PK: **Mechanism of *Escherichia coli*  $\alpha$ -hemolysin induced injury to isolated renal tubular cell**, Am J Pathol 126:350 (1987).
42. Kılıç H, Karahan M: **İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları**, Mikrobiyol Bült 21:29 (1991).
43. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: **Diagnostic Microbiology**, 4.baskı, s.105 JB Lippincott Co, Philadelphia (1992).
44. Konopka K, Bindereif A, Neilands JB: **Aerobactin-mediated utilization of transferrin iron**, Biochemistry 21: 6503 (1982).
45. Köksal İ, Mocan H, Berkman E, Saltoğlu N: **Üriner sistem infeksiyonu olan çocukların idrarlarından izole edilen *Escherichia* suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları**, Mikrobiyol Bült 24:241 (1990).
46. Kunin CM, Mc Cormack RC: **A epidemiologic study of bacteriuria and blood pressure among nuns and working women**, N Engl J Med 278:635 (1968).
47. Leffler H, Svanborg Eden C: **Glycolipid receptors for uropathogenic *Escherichia coli* on human erythrocytes and uroepithelial cells**, Infect Immun 34:920 (1981).
48. Lipsky BA: **Urinary tract infections in men. Epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment**, Ann Intern Med 110:138 (1989).
49. Lomberg H, Hanson LA, Jacobson B, Jodal U, Leffler H, Svanborg Eden C: **Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux, and bacterial**

**attachment in patients with recurrent pyelonephritis, N Engl J Med 308:1189 (1983).**

50. Lomberg H, Hellstrom M, Jodal U, Leffler H, Lincoln K, Svanborg Eden C: **Virulence-associated traits in *Escherichia coli* causing first and recurrent episodes of urinary tract infection in children with or without vesicoureteral reflux, J Infect Dis 150:561 (1984).**
51. Lomberg H, Hellstrom M, Jodal U, Orskov I, Svanborg Eden C: **Properties of *Escherichia coli* in patients with renal scarring, J Infect Dis 159:579 (1989).**
52. Lomberg H, Jodal U, Svanborg Eden C, Leffler H, Samuelsson B: **PI blood group and urinary tract infection, Lancet 1:551 (1981).**
53. Marild S, Wettergren B, Hellstrom M, Jodal U, Lincoln K, Orskov I, Orskov F, Svanborg Eden C: **Bacterial and inflammatory response in infants with febrile urinary tract infection or screening bacteriuria, J Pediatr 112:348 (1988).**
54. Moore DG, Earhart CF: **Specific inhibition of *Escherichia coli* enterochelin uptake by a normal human serum immunoglobulin, Infect Immun 31:631 (1981).**
55. Mulholland SG, Mooreville M, Parson CL: **Urinary tract infections and P blood group antigens, Urology 24:232 (1984).**
56. Ofek I, Mirelman D, Sharon N: **Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors, Nature 265:623 (1977).**
57. Ohman L, Hed J, Stendahl O: **Interaction between human polymorphonuclear leukocytes and two different strains of type 1 fimbriae-bearing *Escherichia coli*, J Infect Dis 146:751 (1982).**
58. Opal SM, Cross A, Gemski Lyhte LW: **Survey of purported virulence factors of *Escherichia coli* isolated from blood, urine and stool, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 7:425 (1988).**

59. Orskov I, Ferencz A, Orskov F: **Tamm-Horsfall protein or uromucoid is the normal urinary slime that traps type 1 fimbriated *E.coli***, Lancet 1:887 (1980).
60. Öktem Z: **Tıbbi Bakteriyoloji**, II.cilt 3.baskı, s.188 Menteş matbaası, İstanbul (1967).
61. Özüt H: **Üriner sistem infeksiyonları: Genel ilkeler ve tanı yaklaşımı**, Klimik Derg 4:3 (1991).
62. Phillips I, Eykun S, King A, Grandsden WR, Rowe B, Forst JA, Gross RJ: **Epidemic multiresistant *Escherichia coli* infection in west lambeth health district**, Lancet 1:1038 (1988).
63. Podschun R, Fischer A, Ullmann U: **Siderophore production of *Klebsiella* species isolated from different sources**, Zentralbl Bakteriol 276:481 (1992).
64. Rarkkäinen U, Ikâheimo R, Kalilla M, and Mântyjârvi R: **P fimbriation of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis demonstrated by a commercial agglutination test (PF test)**, J Clin Microbiol 29:221 (1991).
65. Regid G, Sobel JD: **Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: A review**, Rev Infect Dis 9:470 (1987).
66. Roberts JA, Hardaway K, Kaack B, Fussel EN, Baskin G: **Prevention of pyelonephritis by immunization with P-fimbriae**, J Urol 131:602 (1984).
67. Robins-Browne RM, Feain R, Stuart SJ: **Aerobactin-mediated uptake of iron is not an essential virulence determinant of enteropathogenic *Escherichia coli***, Lancet 2:164 (1985).
68. Salyers AA, Whitt DD: **Bacterial Pathogenesis. A Molecular Approach**, s.205, ASM Press, Washington D.C. (1994).
69. Sandberg T, Kaijser B, Lidin-Janson G, Lincoln K, Orskav F, Orskav I, Stokland E, Svanborg Eden C: **Virulence of *Escherichia coli* in relation to host**

- factors in women with symptomatic urinary tract infection**, J Clin Microbiol 25:1471 (1988).
70. Schaeffer AJ, Amundsen SR, Schmid LM: **Adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells**, Infect Immun 24:753 (1979).
71. Schaeffer AJ, Jones JM, Dunn JK: **Association of in vitro *Escherichia coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary-tract infection**, N Engl J Med 304:1062 (1981).
72. Scheffer J, Konig W, Braun V, Goebel W: **Comparison of four hemolysin producing organisms (*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Aeromonas hydrophila*, and *Listeria monocytogenes*) for release of inflammatory mediators from various cells**, J Clin Microbiol 26:544 (1988).
73. Schoolnik GK: **How *Escherichia coli* infects the urinary tract**, N Engl J Med 320:804 (1989).
74. Schoolnik GK: **The role of bacterial adherence in urinary tract infections** "Neu HC (ed): *New Antibacterial Strategies*" kitabında, s.111, Churchill Livingstone, London (1990).
75. Short EC, Kurtz HJ: **Properties of the hemolytic activities of *Escherichia coli***, Infect Immun 3:678 (1971).
76. Smith HW: **The hemolysins of *Escherichia coli***, J Pathol Bacteriol 85:197 (1963).
77. Sobel JD: **Bacterial etiologic agents in the pathogenesis of urinary tract infection** "Kaye D (ed): *The Medical Clinics of North America Vol 2*" kitabında, s.253, WB Saunders Co, Philadelphia (1991).
78. Sobel JD, Kaye D: **Reduced uromucoid excretion in the elderly**, J Infect Dis 152:653 (1985).

79. Söyletir G, Günalp A: **İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen *E.coli*'lerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ve bu infeksiyonlarda metabolit defektli suşların rolü**, Mikrobiyol Bült 10:210 (1985).
80. Stamm WE, Hooton TM, Johnson JR, Johnson C, Stapleton A, Roberts PL, Fihn SD: **Urinary tract infections: From pathogenesis to treatment**, J Infect Dis 159:400 (1989).
81. Stenqvist K, Sandberg T, Lidin-Janson G, Orskov F, Orskov I, and Svanborg Eden C: **Virulence factors of *Escherichia coli* in urinary isolates from pregnant women**, J Infect Dis 156:870 (1987).
82. Stuart SJ, Greenwood KT, Luke RKJ: **Iron-suppressible production of hydroxamate by *Escherichia coli* isolates**, Infect Immun 36:870 (1982).
83. Tunçkanat F: **Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri**, Klimik Derg 6:3 (1993).
84. Tunçkanat F: **Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde konakçı savunma mekanizmalarının rolü**, Klimik Derg 7:24 (1994).
85. Uygur CM, Şahin A, Özen HA: **Üriner infeksiyonlar: konakçı savunma mekanizmaları, predispozan faktörler, lokalizasyon, laboratuvar, Cerrahi Tıp Bült 1:93 (1992).**
86. Ünal S, Aydın M, Özyayın N, Akın A: **Alt üriner sistem infeksiyonlarında tek doz amoksisilin, TMP+SMX ve ofloxasin tedavisi**, Mikrobiyol Bült 23:231 (1989).
87. Weinberg ED: **Iron and infection**, Microbiol Rev 42:45 (1978).
88. Weinberg ED: **Iron withholding: A defense against infection and neoplasia**, Physiol Rev 64:65 (1984). (16 No'lu kaynakta site edilmiştir).
89. Westerland B, Siitonen A, Elo J, Willams PH, Korhonen TR, Mâkelâ PH: **Properties of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in boys**, J Infect Dis 158:996 (1988).

90. Williams PH: **Novel iron uptake system specified by Col V plasmids; an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli***, Infect Immun 26:925 (1979).
91. Williams PH, Roberts M: **Aerobactin mediated iron uptake: A virulence determinant in enteropathogenic *Escherichia coli***, Lancet 1:763 (1985).
92. Yenson M: **İnsan Biokimyası**, 7.baskı, s.633, Güneş Kitabevi Ankara (1995).
93. Zubay G: **Biochemistry**, s.99T, WCB Publ, Oxford (1993).

