

BOĞAZDAN İZOLE EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE VE PSEUDOMONAS BAKTERİLERİNİN BETA-LAKTAMAZ ENZİM AKTİVİTELERİNİN TESBİT EDİLMESİ

THE DETECTION OF BETA-LACTAMASE ACTIVITY OF ENTEROBACTERIACEAE AND PSEUDOMONAS BACTERIA ISOLATED FROM THROAT CULTURES

Dr.Güven URAZ, Dr.Erdoğan BERKMAN*

Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü,
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Mikrobiyoloji Laboratuvarı*
Gazi Tıp Dergisi 3 : 114-121, 1990

ÖZET : Arasturmamızda Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine çeşitli şikayetlerle gelen 163 çocuk hastanın boğaz kültüründen izole edilen Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ların B-laktamazları çalışılmıştır.

Üzerinde yapılan tüm bakterilerin B-laktamaz (Penisilinaz) enzim varlığı, nişastalı katı ortamda ve mikroiyodometrik olarak araştırılmış ve tablolar bu sonuçlara göre değerlendirilmiştir.

163 kültürden izole edilen Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'lar tek ve birden fazla izolat olarak gruplandırılmıştır. Tek izolat 136 Enterobacteriaceae'nin 90'u, B-laktamaz pozitiftir. Birden fazla izolat 27 Enterobacteriaceae'nin ise, 19'unda B-laktamaz enzimi pozitif bulunmuştur.

Enzim aktiviteleri değerlendirilen bakteriler, biyotiplerine göre ayrılmışlardır.

B-laktamaz pozitif tek izolat Enterobacteriacece'lardan en fazla *E. coli* ve *Klebsiella* izole edilmiştir. Diğer Enterobacteriacee'lar olarak *Proteus*, *Shigella*, *Aerobacter*, *Serratia* ve *Pseudomonas* belirlenmiştir.

Çalışma sırasında 8 hastanın boğaz kültüründe Enterobacteriacee'larda birlikte B-hemolytic streptococcus da izole edilmiştir.

Anahtar Kelimeler : Beta-Laktamaz, Enterobacteriaceae, Penisilinaz, Pseudomonas

SUMMARY : In this investigation the beta-lactamase of Enterobacteriaceae and Pseudomonas organisms isolated from the throat cultures of 163 pediatric age patients were examined. The samples were obtained from the patients of Hacettepe University Faculty of Medicine, Children's Hospital admitted because of various complaints.

Presence of beta-lactamase (penicillinase) enzymatic activity in these bacteria were detected using starch containing nutrient agar plates and the level of the enzyme was evaluated with the microiodometric method.

The isolated of Enterobacteriaceae ve Pseudomonas organisms was divided into two groups depending on being single or multiple isolations. 136 Enterobacteriaceae bacteria were isolated as single organisms and 90 of them were beta-lactamase positive. The remaining 27 cultures yielded two or more Enterobacteriaceae organisms. Among these 19 beta-lactamase producers were detected.

The isolated bacteria were biotyped according to their biochemical reactions.

Most of the Enterobacteriaceae organisms which were beta-lactamase positive were *E. coli* and *Klebsiella* strains. The remainder were *Proteus*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Serratia* and *Pseudomonas* strains. During this investigation in the throat cultures of 8 patients, beta hemolytic streptococci were isolated together with the coliforms.

Key Words : Beta-Lactamase, Enterobacteriaceae, Penicillinase, Pseudomonas

GİRİŞ

Son yıllarda, yeterli penisilin tedavisi gördükten sonra tonsiliterde grup A-Beta hemolytic streptococcus'ların kalışı, sıkılıkla rastlanan bir olaydır. Yapılan çalışmalarla, tekrarlanan tonsilitlerde B-laktamaz oluşturan mikroorganizmaların penisilini inaktive ederek duyarlı bakterilerin tedavisine engel olduğu bilinmektedir.

Boğaz florasında B-laktamaz (penisilinaz) enzimi yapan mikroorganizmalar araştırılırken, çoğunlukla *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides* türleri *Heamophilus* türleri, *Fusobacterium*'lar çalışılmıştır. Ancak, B-laktamaz yapan Enterobacteriaceae'lardan söz edilmemiştir.

Ülkemiz çocukların boğaz kültürlerinden, çoklukla Enterobacteriaceae'lardan izole edilebilmektedir. Bu bakterilerin B-laktamaz (Penisilinaz) enzimleri araştırılarak pozitif enzim aktivitesi olanların penisilin tedavisi etkisiz kılabilceğini düşündürerek hareket edilerek çalışmamızın konusu saptanmıştır.

Araştırma sırasında, 0-13 yaş grubu çocukların boğaz kültürlerinde B-laktamaz (Penisilinaz) pozitif Enterobacteriaceae'ların kücümsemeyecek kadar çok olduğu belirlenmiştir.

MATERIAL METOD

Eylül 1985 - Ocak 1986 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesi'ne çeşitli şikayetlerle başvuran hastaların boğazından steril eküyonla örnekler alınmıştır.

Kültür amacıyla alının örnekler, önce koyun kanlı besi yerine azaltma yöntemiyle ekilmişlerdir. Üreyen bakteriler E.M.B., ornitin dekarboksilaz, lizin dekarboksilaz, malonat, inositol, üre ve setrimit agar içeren besi yerlerine yeniden ekilmiş ve laktoz, sükroz ve glukoz fermentasyonları incelenerek IMVIC deneyleriyle belirlenmişlerdir (Bayır ve Günalp, 1977; Difco, 1984).

B-laktamaz enziminin varlığını saptamak amacıyla, tanımlanan Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ların % 0.2 çözünebilir nişasta içeren Nutrient Agar (N.A.) ekimleri yapılmıştır.

Anılan besi yerlerinde, Perret ve Anderson (1954)'un nişasta iyodin yöntemine göre B-laktamaz varlığı araştırılmıştır. Bu suşlar arasında enzim varlığı gösterenler yeniden Novick (1962)'in mikro-iyodometrik yöntemiyle test edilmişlerdir.

BULGULAR

163 çocuk hastanın boğaz kültürlerinden izole edilen Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ların toplam izolat sayıları 178 olarak bulunmuştur. Da-ha sonra bakterilerin tek ve birden fazla izolat grupları yapılmıştır. Buna göre 136 (% 83.43) tek izolat, 27 de (% 16.56) birden fazla izolat Enterobacteriaceae tesbit edilmiştir.

Belirlenen tek izolat 136 bakterinin 90'nında (% 66.17) B-laktamaz enzim aktivitesi pozitif; 46'sında (% 33.82) ise negatiftir. Aynı enzimin 27 birden fazla izolat içindeki dağılımı da 19 pozitife (%70.37) karşılık, 8 adet negatif (%29.63) düzeyindedir.

Tablo 1'de 163 hastanın boğaz kültüründen izole edilen toplam 178 Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ın dağılımı görülmektedir. Değerlendirme yapılırken bir boğaz kültüründen birden fazla izole edilenler de dikkate alınmıştır.

Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'lar Izolat (%)
Escherichia coli 92 56.46
Klebsiella 57 35.52
Proteus 7 4.28
Pseudomonas 16 9.82
Aerobacter 3 1.84
Shigella 2 1.28
Serratia 1 0.61

Tablo - 1 : 163 hastanın boğaz kültüründen izole edilen toplam Enterobacteriaceae ve Pseudomonas bakterilerin dağılımı
Not : yüzde oranlar 163 hasta üzerinden hesaplanmış; pozitif ve negatif B-laktamaz enzim aktivitesi ayırmayı yapılmamıştır

Tablo'dan görüldüğü üzere Enterobacteriaceae'lardan arasında en yüksek díízeyde Escherichia coli ve Klebsiella'lara rastlanmıştır (92 ve 57 adet).

Tablo 2'de ise 163 hastanın izole edilen 136 tek izolat Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ların dağılımı yer almaktadır. Burada da aynı şekilde en yüksek sayıların sırasıyla 73 (% 44.78) ve 42 (% 25.77) olarak E.coli ve Klebsiella'lara ait olduğu gözlelmektedir.

Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'lar Izolat (%)
Escherichia coli 73 44.78
Klebsiella 42 25.77
Proteus 6 3.67
Pseudomonas 12 7.36
Aerobacter 1 0.61
Shigella 2 1.28

Tablo - 2 : 136 tek izolat Enterobacteriaceae ve Pseudomonas bakterilerinin dağılımı

Konu olan 163 hastanın 27'sinde birden fazla

Enterobacteriaceae, Pseudomonas ve diğer bakteriler birlikte izole edilmiştir (Tablo 3).

Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'lar	İzolat	(%)
Klebsiella - Escherichia coli	8	4.90
Klebsiella - Pseudomonas	2	1.28
Klebsiella - Staphylococcus aureus	1	0.61
Klebsiella - Beta-hemolytic streptococcus	2	1.28
Escherichia coli - Beta - hemolytic streptococcus	4	2.45
Escherichia coli - Staphylococcus aureus	2	1.28
Escherichia coli - Pseudomonas	1	0.61
Pseudomonas - Beta-hemolytic streptococcus	1	0.61
Escherichia coli - Aerobacter aerogenes	1	0.61
Pseudomonas - Staphylococcus aureus	1	0.61
Aerobacter aerogenes - Beta-hemolytic streptococcus	1	0.61
Klebsiella - Escherichia coli - Staphylacoccus aureus	1	0.61
Proteus - Escherichia coli	1	0.61
Escherichia coli - Serratia mercentes	1	0.61

Tablo - 3 : 163 hastanın boğaz kültürlerinden birden fazla izolat olarak sağlanan 27 Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'in dağılımı

Not : Tablo 3'de birden fazla izolasyon gösterilmektedir. Bu nedenle Enterobacteriaceae ve Pseudomonas beraberinde izole edilen Beta - hemolytic Streptococcus ve Staphylococcus aureus özellikle belirtilmiştir

Tablonun incelenmesinden gözlenebileceği gibi Klebsiella ve E.coli, birlikte izole edilen izolatlar arasında yine en yüksek düzeyi ifade etmektedir (8 adet ve % 4.90). Bunu ikinci derecede 4 adet ve % 2.4 orANIyla E.coli ve Beta-hemolytic streptococcus izlemektedir. Diğer birden fazla izolatlar 2 ve 1 adet arasında değişerek tabloya yansımaktadır.

Beta-hemolytic streptococcus'la birlikte izole edilen B-laktamaz üretici Enterobacteriaceae'ların sayısı 8 çıkmıştır. Tablo 4'de yer alan bu izolatların toplam 163 hasta arasındaki payı % 4.84'dür. Bu tablo aynı zamanda tekrarlayan tonsiliterde B-laktamaz üreten bakterilerin Beta-hemolytic streptococcus'ların tedavisiini engelleyebileceğini ortaya koymaktadır.

Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'lar	Beta-hemolytic streptococcus	Enzim aktivitesi	Toplam
Escherichia coli	3	+	3
	1	-	1
Klebsiella aerogenes	1	+	1
Klebsiella ozanae	1	+	1
Aerobacter aerogenes	1	-	1
Pseudomonas aeruginosa	1	-	1

Tablo - 4 : Boğaz kültürlerinden beraber izole edilen Enterobacteriaceae ve Pseudomonas bakterileri ile Beta-hemolytic streptococcus'lar

Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak izole edilen 50 adet B-laktamaz (penisilinaz) pozitif E.coli'nin durumu Tablo 5'de bulunmaktadır.

50 B-laktamaz pozitif E.coli, elimizdeki antiserumlarla tiplendirilmiştir. Bunlardan 21'i (% 42) hiçbir antiserum ile reaksiyon vermemiştir.

Toplam 29 adedi (%58) ise çeşitli antiserumlarla reaksiyon vermiştir. Bu 29 E.coli'nin 14'ü (% 28) 0125, 0126, 0124, 0111, 026, 0127, ve 0128 antiserumlarıyla, geriye kalan 15'i (% 30) de 07, 075 ve H5 antiserumlarıyla reaksiyon göstermiştir.

6 numaralı tablo, boğaz kültürlerinden tek izolat olarak izole edilen 22 B-laktamaz (penisilinaz) negatif E.coli'lerin kendi serumlarıyla verdiği reaksiyonlara göre dağılımları görülmektedir. İzlenebileceği gibi, 11 (% 50) B-laktamaz negatif E.coli hiçbir antiserumla reaksiyon vermemiştir. 6 (% 27.27) B-laktamaz E.coli, 0126, 0119, 0125 ve 0111 antiserumlarıyla; 5 (% 22.72) E.coli ise 075, H5 ve 07 antiserumlarıyla reaksiyon vermiştir.

Boğaz kültürlerinde birlikte izole edilen 18 E.coli'nin dağılımı Tablo 7'de gösterilmektedir.

B-laktamaz pozitif E.coli izolasyon sayısı	E.coli a n t i s e r u m l a r i *	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
21								+
1			0125 +					
3			0124					
1		026+						
9			+					
6				+				
2		0126+						
2		0111+						
1		0127+						
3		0124+			+			
1						+		
Topl. 50			< 29 >					21
* (1) 026 K : 60 055 K : 9 0111 K : 58 0127 K : 63	(2) 0124 B : 17 0126 B : 16 0125 B : 15	(3) 075 K95 : H5	(4) 07 : K1 : H	(5) 028, 0112, 0124, 0136, 0143, 0152, 0164	(6) 078, 0.128	(7) Reaksiyon vermeyen		

Tablo - 5 : Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak elde edilen B-laktamaz (penisilinaz) pozitif Escherichia coli'lerin dağılımı

B-laktamaz negatif E.coli izolasyon sayısı	E.coli a n t i s e r u m l a r i *	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
11								+
2				+				
1		0126+						
3				+				
1		0119+						
2		0125+						
1		0111+					+	
1								
Toplam 22			< 11 >					11

Tablo - 6 : Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak elde edilen B-laktamaz (penisilinaz) negatif Escherichia coli'lerin dağılımı

Izolasyon sa.	E.coli ile birlikte izole edilen bakt.	Enzim aktivitesi	E.coli anti re. (+)	E.coli anti re. (-)
5	Escherichia coli - Klebsiella	+		-
2	Escherichia coli - Klebsiella	-		-
1	Escherichia coli - Klebsiella	-	026.B6	
1	Escherichia coli - Beta-hemolytic streptococcus	-		
2	Escherichia coli - Beta-hemolytic streptococcus	+		-
1	Escherichia coli - Beta-hemolytic streptococcus	+	0124	
1	Escherichia coli - Seratia merentes	+	PolyB	
1	Escherichia coli - Proteus	-	0111B4	
1	Escherichia coli - Klebsiella - Staphylococcus aureus	+		
1	Escherichia coli - Staphylococcus aureus	+		-
1	Escherichia coli - Staphylococcus	+	07 : H5	
1	Escherichia coli - Aerobacter aerogenes	+	07	
18	13 (+) 5 (-)			

Tablo - 7 : Boğaz kültürlerinden birden fazla izolat olarak izole edilen Escherichia coli'lerin enzim aktiviteleri ve kendi antiserumuna göre dağılımları

Not : Tablo : 7'de birden fazla izolasyon yer almaktadır. Bu nedenle Escherichia coli beraberinde izole edilen B-hemolitik streptokokus

Tablonun incelenmesinden gözlenebileceği gibi E.coli'lerin 4 tanesi (% 22.22) Beta-hemolytic streptococcus'la birlikte izole edilmiştir. Bunların 3'ü (%16.66) B-laktamaz pozitif E.coli'dir. 1'nin (% 5.55) ise B-laktamazı negatifdir. Ayrıca 2 (% 11.11) E.coli, S.aureus'la birlikte izole edilmiş ve enzim aktivitesi pozitif bulunmuştur. Üçlü (E.coli'- Klebsiella - S.aureus) 1 adet (% 5.55) E.coli izo lasyonunda B-laktamaz pozitiftir. Klebsiella ile birlikte olan 8 (% 44.44) izolasyonun 3'ünde (% 16.66) E.coli B-laktamaz negatif, geriye kalanlarda ise pozitiftir. Diğer Coliform'lara birlikte izole edilen E.coli'nin 2'si (% 11.11) pozitif, 1'i de (% 5.55) negatif enzim aktivitesi göstermiştir.

Tablo 8'de boğaz kültürlerinden tek izolat olarak toplam 33 B-laktamaz pozitif Klebsiella'nın biyotiplerine göre dağılımları gözükmemektedir.

B-laktamaz pozitif Klebsiella izolasyon sayısı	Klebsiella biyotipleri					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
14	+					
8		+				
9				+		
2					+	
Toplam (%)	14	8	9	2		
	42.12	24.22	27.20	6.06		

(1) K.aerogenes, (2) K.pneumoniae, (3) K.edwardsiella, (4) K.atlanta, (5) K.ozaenae, (6) K.rhinoscleromatis.

Tablo - 8 : Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak elde edilen toplam 33 B-laktamaz pozitif Klebsiella'ların dağılımı

B-laktamaz pozitif tek izolat Klebsiella'lardan en fazla 14 (% 42.42) K.aerogenes, ikinci olarak 9 (% 27.20) K.ozaenae ve 8 (%24.22) K.pneumoniae izole edilmiştir. K.rhinoscleromatis ise 2 (% 6.06) düzeyinde izole edilirken B-laktamaz pozitif K.edwardsiella ve K.atlanta hiç izole edilememiştir.

Buradan aldığımız yüzde oranları 163 hastada değerlendirecek olursak % 25.55 oranında K.aerogenes ve % 5.34 ise K.ozaenae, % 5.23 oranında da K.pneumonia izolasyonu yapılmıştır.

Anılan değerler üst solunum yollarından izole edilen Enterobacteriaceae'lar açısından değerlendirilecek olursa küüümsenmeyecek sonuçlardır.

B-laktamaz negatif tek izolat Klebsiella'larda K.edwardsiella ve K.rhinoscleromatis'e rastlanmamıştır. Toplam B-laktamaz negatif tek izolat Klebsiella'ların sayısı B-laktamaz pozitiflere oranla çok az bulunmuştur. B-laktamaz negatif K.aero-

genes 4 (% 44.40), ikinci olarak da K.atlanta 3 (% 33.30) adet bulunmuştur. Oysa B-laktamaz pozitif Klebsiella'larda K.atlanta izole edilememiştir. K.pneumonia ve K.ozaenae 1'er (11.11) adet çıkmıştır.

B-laktamaz negatif Klebsiella izolasyon sa.	Klebsiella biyotipleri					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
4	+					
1			+			
3					+	
1						+
Toplam (%)	9	4	1	-	3	1
		44.40	11.11		33.30	11.11

(1) K.aerogenes, (2) K.pneumoniae, (3) K.edwardsiella, (4) K.atlanta, (5) K.ozaenae, (6) K.rhinoscleromatis

Tablo - 9 : Boğazdan tek izolat olarak izole edilen 9 adet B-laktamaz (penisilinaz) negatif Klebsiella'ların biyotip le rine göre dağılımı

B-laktamaz pozitif Klebsiella'lar ve birlikte izole edilen bakteriler	Toplam izolasyon sayısı
Klebsiella aerogenes-Escherichia coli	3
Klebsiella aerogenes-Escherichia coli-Staphylococcus aureus	1
Klebsiella aerogenes-Pseudomonas aeruginosa	2
Klebsiella edwardsii-Escherichia coli	1
Klebsiella ozaenae-Escherichia coli	1
Klebsiella pneumoniae-Staphylococcus aureus	1
Klebsiella ozaenae-Beta-hemolytic streptococcus	1
Klebsiella aerogenes-Beta-hemolytic streptococcus	1
Toplam	11

Tablo - 10: Boğaz kültürlerinden birden fazla izolat olarak izole edilen B-laktamaz (penisilinaz) pozitif Klebsiella'ların dağılımı

Not : Tablo 10'da birden fazla izolasyon gösterilmektedir. Onun için Klebsiella'larla birlikte izole edilen Staphylococcus aureus ve Beta-hemolytic streptococcus'e de tablodan özellikle yer verilmiştir.

Anlaşılacağı üzere, boğaz kültürlerinden birden fazla izolat olarak izole edilen B-laktamaz pozitif 11 Klebsiella'nın dağılımı yer almaktadır. En fazla B-laktamaz pozitif K. aerogenes, E.coli ile birlikte (3 adet ve % 27. 27) izole edilmiştir.

Tablodan görüldüğü (Tablo 13) üzere boğazdan toplam 12 tek Pseudomonas izolasyonu yapılmıştır. Bunun 7 adedi (% 58.33) P.aeruginosa (1'i B-laktamaz pozitif, diğer 6'sı negatif) olarak bulunmuştur.

Aerobacter'le izole edilen diğer bakteriler	enzim aktivitesi		Toplam izolasyon (%)
	Pozitif	Negatif	
Aerobacter aerogenes - Echerichia coli	1		
Aerobacter aerogenes - Beta - hemolytic Streptococcus		1	
			2 66.66
Aerobacter aerogenes	1		1 33.33
Toplam			3

Tablo - 11 : Boğaz kültürlerinde tek izolat ve diğer bakterilerle birlikte izole edilen B - laktamaz pozitif ve negatif Aerobacter aerogenes'ler

Proteus bakterileri	Enzim aktivitesi		Toplam izolasyon (%)
	Pozitif	Negatif	
Proteus vulgaris	1	1	2 33.33
Proteus retgeri		1	1 16.16
Proteus mirabilis	2		2 33.33
Proteus morgani		1	1 16.16
Toplam	3	3	6

Tablo - 12 : Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak izole edilen B - laktamaz enzim aktivitesi pozitif ve negatif proteus bakterilerinin bıtıplerine göre tanımlanması.

Not : Bir Proteus retgeri ile birlikte E.coli izole edilmiştir.

Pseudomonas bakterileri	Enzim aktivitesi		Toplam izolasyon (%)
	Pozitif	Negatif	
Pseudomonas aeruginosa	1	6	7 58.33
Diğer pseudomonas grubu	2	3	5 41.66
Toplam	3	9	12

Tablo - 13 : Boğaz kültürlerinden izole edilen B - laktamaz enzim aktivitesi pozitif ve negatif tek izolat Pseudomonas'ların biyotiplere dağılımı.

Pseudomonas'larla (4 adet) birlikte izole edilen bakterilerin yer aldığı Tablo 14 incelendiğinde, 2'sinin (% 50) Pseudomonas aeruginosa ve B-laktamaz pozitif ve beraberinde (S.aureus ve K.aerogenes), 2'sinin de (% 50) diğer Pseudomonas'lar

dan ve B - laktamaz negatif çıktıgı görülmektedir.

Gördüğü gibi 163 boğaz kültüründen izole edilen 2 adet (% 1.22) Shigella flexneri'nin tümü B-laktamaz negatif çıkmıştır.

Pseudomonas'la birlikte izole edilen bakteriler	Enzim aktivitesi		Toplam izolasyon (%)
	Pozitif	Negatif	
Pseudomonas aeruginosa - Staphylococcus aureus	1		
Pseudomonas aeruginosa - Klebsiella aerogenes	1		2 50
Diğer Pseudomonas grubu bak.ler Beta-hemolytic streptococcus		1	
Diğer Pseudomonas grubu bak.ler Escherichia coli		1	2 50
Toplam	2	2	4

Tablo - 14 : Boğaz kültürlerinden diğer bir bakteri ile izole edilen B-laktamaz pozitif ve negatif Pseudomonas'lar.

Shigella bakterisi	Enzim aktivitesi	
	Pozitif	Negatif
Shigella flexneri		2
Toplam		2

Tablo - 15 : Boğaz kültürlerinden tek izolat olarak izole edilen Shigella flexneri'nin enzim aktivitesi.

TARTIŞMA

Araştırma sonuçlarına bakıldığından, B - laktamaz pozitif Enterobacteriaceae ve Pseudomonas'ların boğazda kücümsenmeyecek derecede bulunduğu anlaşılmaktadır. Bu da bize tekrarlayan tonsilit enfeksiyonlarında rol aldığı düşüncesini vurgulamaktadır.

Hastaların 8'inde (% 4.90) A grubu (Basitrasinin pozitif) Beta Hemolytic streptococcus ve Enterobacteriaceae birlikte izole edilmiştir. Bu izolasyonun 5'inde (% 55.55) B-laktamaz da pozitif çıkmıştır.

Turner ve Nord, (1983) da 167 tekrarlanan tonsilitli hastalarla olan çalışmalarında % 73 oranında B-laktamaz pozitif mikroorganizma saptamışlardır.

Brook, (1984) ise streptococcus tonsil enfeksiyonlarında B-laktamaz yapan aerob ve anaerob bakterilerin rolünü araştırdığı çalışmasında, tekrarlanan enfeksiyon etkeni olarak belirlediği B-laktamaz pozitif bakteri oranını % 80 düzeyinde bulmuştur.

Enterobakterlerin B-laktamaz rezistans spektrumlarını araştıran Olson ve ark. (1983) çalışmalarında, B-laktamaz aktiviteleri pozitif olan *Proteus*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*'nın sıkça izolasyondan sözetsmektedirler. Araştırmacılar, enzim aktivitelerini bizimde yararlandığımız spektrofotometrik yöntemle tesbit etmişlerdir.

Türkiye'de çocukların boğaz kültürlerinde Enterobacteriaceae'lara sıklıkla rastlanmaktadır. Her ne kadar boğaz kültürlerinden izole edildiklerinde değerlendirmeye alınmıyorsa da, Beta hemolytic streptococcus gibi bakterilerle birlikte bulunabilmektedir. Bu Enterobacteriaceae'lar arasında B-laktamaz pozitif olanlar Beta hemolytic streptococcus'ların tedavisini etkileyebilmektedir.

Ayrıca, çalışma sırasında izole edilen B-laktamaz pozitif ve negatif Enterobacteriaceae'ların gruplandırmasında pek çok patojen bakteri de bulunmuştur. Böylece hastaların klinik tablolarının tarihendirilmesinde boğazdan izole edilen bu bakterilerin bazı enfeksiyonlarda ilk haberci olduğu belirlenmiştir.

Penisilin tedavisini etkisiz kılabilen, B-laktamaz (penisilinaz) enzimi salgılayan boğaz Enterobacteriaceae'larının belirlenmesi ve bunların peni-

silinle tedavi edilebilen bakterilerle birlikte olması halinde (örneğin Beta-hemolytic streptococcus gibi), onların varlıklarını sürdürmeye neden olduğunun saptanması araştırmanın amacını oluşturmuştur.

Bu çalışmada, izole edilen Enterobacteriaceae ve Pseudomonas bakterilerinin yapılan sınıflandırılmasında *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Aerobacter* ve *Shigella flexneri*'nin bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, EPEC enteropatojenik, ETEC enterotoksijenik ve EIEC enteroinvazif *E.coli* antiserumlaryla reaksiyon veren B-laktamaz pozitif *E.coli* sayısı ise 13 adet (% 26.) olarak bulunmuştur.

Bu sonuncuları çocuk yaş gruplarıyla değerlendirdiğimizde, 10 adedinin süt çocuklarında hastalık yaptığı, 3'üne de 0-5 yaş grubunda rastlandığı tespit edilmiştir.

Nataro ve ark. (1985)'nın yürüttükleri araştırmada, süt çocuklarında diare yapan EPEC (enteropatojenik) *E.coli*'lerin histopatolojik ve DNA ekstraksiyonlarının plazmit çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda insan orijinli *E.coli* (EPEC)'lerde EAF plazmidlerinin taşıdığı ve bunun da patojenite de önemli olduğu saptanmıştır.

EAF plazmid içeren EPEC'ler diarelerde aktif rol oynamakta ve daha çok patojenite göstermektedirler. Anılan çalışmada 026, 055, 0111, 0119, 0125, 0126, 0127, 0128 ve 069 serotipleri bulunmuştur.

Araştırma sırasında, 0124, 0125, 0126, 0127, 026 ve 0111 antiserumlaryla reaksiyon veren ve B-laktamaz pozitif EPEC grubu 13 *E.coli* izole edilmiştir. Bunun yukarıdaki araştırmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Enteropatojenik *E.coli* plazmidleri ile çalışan Baldini ve ark. (1983) da B-laktamaz pozitif enteropatojenik *E.coli* susları izole etmişlerdir.

Araştırmamızda, ayrıca boğaz kültürlerinden izole edilen bakteriler arasında 2 adet *Shigella flexneri* saptanmıştır. Bu hastalardan birinin allerji polikliniğine başka şikayetlerle gelen 8-9 yaşlarında bir çocuk, diğерinin ise gastroenterit tanııyla yatan 6 aylık bir bebek olduğu anlaşılmıştır.

Allerji polikliniğine gelen hastadan yalnızca boğaz kültürü alındığından buradaki *S.flexneri* bir raslantı sonucu olarak izole edilmiştir. Gastroente-

rit tanısı koyulan hastanın boğaz kültüründe hem S.flexneri üremiş, hem de bir gün sonra gaita kültüründen aynı bakteri izole edilmiştir.

Bunun yanısıra, çalışmamız sırasında 2 adet B-laktamaz pozitif Enterobacter aerogenes izolasyonu yapılmıştır.

Olson ve ark. (1983) tarafından yapılan çalışmada da B-laktamaz pozitif Enterobacter aerogenes 6 hastada saptanmıştır.

Sonuç olarak 0-13 yaş grubu çocukların boğaz florasında bulunan, fakat değerlendirmeye alınmayan Enterobacteriaceae ve Pseudomonas bakterilerinin küçümsenmeyecek derecede çok olduğu ve bunların muhtemel enfeksiyonun ilk habercisi olabilecekleri belirlenmiştir. Aynı zamanda büyük bir bölümünde B-laktamaz enzim aktivitesi gözlenen bu bakterilerin B-laktam halkası içeren antibiyotik tedavisini etkisiz hale getirebilecekleri gözlenmiştir.

3. Brook I : The Role of B-lactamase Producing Bacteria in the Persistence of Streptococcal Tonsillar Infection. Rev. Infect. Dis 6 (5) : 601 - 607, 1984
4. Difco Manual : Difco Laboratories, Incorporated, Detroit, Michigan; 13 th. edition 212, 1984
5. Nataro JP, Scaletsky ACI, Kaper BJ : Plasmid-Mediated Factors Conferring Diffuse and Localised Adherence of Enteropathogenic Escherichia coli. Infect. Immunity 48 (2) : 378 - 383, 1985
6. Novick RP : Microiodometric Assay for Penicillinase. Biochem J 83 : 236 - 240, 1962
7. Olson B, Weinstein RA, Nathan C, Kobins A : Broad-spectrum B-lactam Resistance in Enterobacter : Emergence During Treatment and Mechanisms of Resistance. J Antimicrob. Chemother 11 : 299 - 310, 1983
8. Perret JC : Iodometric Assay of Penicillinase. Nature 27 (174) : 1012 - 1013, 1954
9. Turner K, Nord CE : Beta-Lactamase Producing Microorganism in Recurrent Tonsillitis. Scand.J.Infect, Dis 39 : 83 - 85, 1983
10. Uraz G : Boğazdan izole Edilen Koliform Bakterilerin Beta-Laktamaz Enzim Aktivitelerinin Tesbit Edilmesi ve Beta-Laktamaz pozitif Koliformlarda Penisilin Etkisi inaktivasyonunun İn-Vitro Deneylerle Gösterilmesi. Yayınlanmamış Doktora Tezi; Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1986

* Bu araştırma Güven URAZ tarafından gerçekleştirilen doktora çalışmasının bir bölümüdür.

Yazışma Adresi : Dr.Güven URAZ
Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Anabilim Dalı
Beşevler ANKARA
Tel : 212 60 30

KAYNAKLAR

1. Baldini MM, Kaper JM, Levine MM, Candy DCA : Plasmid Mediated Adhesion in Enteropathogenic Escherichia coli. J.Pediatr. Gastroenterol. Nutr 2 : 534 - 538, 1983
2. Bayn G, Günalp K : Klinik Olgulardan izole Edilen Klebsiella Grubu Bakteriler üzerinde bir Çalışma. Mikrobiyoloji Bülteni; Cilt 11, 3 : 371 - 383, 1977