

GASTROENTERİTLİ OLGULARDA SALMONELLA - SHIGELLA CİNSİ BAKTERİLERİN İZOLASYON SIKLIĞI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATERNLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hayati GÜNEŞ¹, Aslı AKTAŞ GÖKALP², Dumrul GÜLEN³, Ayşe Demet KAYA¹

ÖZET

AMAÇ: Gastroenteritler, özellikle de enfeksiyöz diyareler, dünyada sık görülen; Türkiye'de de kırsal kesimlerde daha fazla olmak üzere önemli bir sağlık sorunu oluşturmayı sürdüren enfeksiyonlardır. Etkenler arasında yer alan *Shigella* ve *Salmonella* türleri invazyon özellikleri olan ajanlardır. Bu çalışma, enfeksiyöz ishallerde hastalarda *Salmonella* ve *Shigella* izolasyon sıklığının araştırılması ve izolatların antibiyotik direnç paternlerinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Laboratuara gönderilen dışkı örneklerinden yapılan kültürler retrospektif olarak incelendi. Dışkı örnekleri öncelikle makroskopik, daha sonra mikroskopik açıdan incelendi. Makroskopik incelemede kanlı/mukuslu olan, mikroskopik incelemede ise lökosit içeren örnekler, invaziv enfeksiyon etkenleri açısından şüpheli olarak değerlendirilip, bakteriyolojik incelemeye alındı. İzolatlar konvansiyonel yöntemlerle tanımlandıktan sonra, CLSI'nın önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle, siprofloksasin, ampisilin, sefotaksim ve trimetoprim/sulfometoksazol (TMP/SMX)'e duyarlılıkları belirlendi.

BULGULAR: İncelenen toplam 2669 dışkı örneğinden 90 tanesi çalışma kriterlerine uygun olarak kabul edildi. Bunlardan 14(% 15,6)'ü *Shigella flexneri*, 3(% 3,3)'ü *Salmonella* spp. olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre; 14 *S.flexneri* suşundan 12(%85,7)'si ampisiline, 2(%14,3)' si TMP/SMX'e dirençli bulunurken, siprofloksasin ve sefotaksime direnç saptanmadı. *Salmonella* türlerinde ise direnç oranları; ampisilin için % 66,7 bulunurken TMP/SMX, siprofloksasin ve sefotaksime direnç saptanmadı.

SONUÇ: Bu çalışmada elde edilen farklı direnç profilleri, bölgesel antibiyotik direnç paternlerinin bilinmesinin önemli olduğunu, bu bilgilerin ampirik tedaviyi yönlendirme ve ayrıca direnç gelişimini sınırlama açısından yararlı olacağı gerçeğini bir kez daha ortaya koydu. Bölgedeki ilk veriler niteliği taşıyan çalışma sonuçlarının daha sağlıklı yorumlanabilmesi için kapsamlı çalışmalara gereksinim bulunduğu vurgulandı.

Anahtar sözcükler: *Salmonella*, *shigella*, gastroenterit, antibiyotik direnci

Isolation Rates of Salmonella-Shigella Spp. in Patients with Gastroenteritis and Evaluation of Antibiotic Resistance Patterns

SUMMARY

SUMMARY

OBJECTIVE: Gastroenteritis, particularly infectious diarrhea has worldwide distribution, and is still an important health problem predominantly in the rural areas of Turkey. *Shigella* and *Salmonella* species are invasive pathogens. This study was planned with the aim of investigating the frequency of *Shigella* and *Salmonella* isolation rates and to determine the antibiotic resistance patterns of the isolates.

MATERIALS and METHODS: The stool specimens sent to our laboratory for culture were analysed retrospectively. Stool specimens were taken primarily into macroscopic and then microscopic examination. Samples including blood/mucus and leukocytes were evaluated as suspicious for invasive disease and bacteriological examinations were performed. Isolates were identified by conventional methods, and tested for susceptibilities against ciprofloxacin, ampicillin, cefotaxime and trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) by Kirby-Bauer disc diffusion method according to the instructions of CLSI.

RESULTS: A total of 90 specimens out of 2669 samples were eligible for the acceptance criteria. Of these samples, 14 (15,6%) were *Shigella flexneri*, 3(3,3%) were *Salmonella* spp. According to the antibiotic susceptibility patterns; out of 14 *S.flexneri* strains 12(85,7%) were resistant to ampicillin, 2(14,3%) were resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole, but no resistance was detected for ciprofloxacin and cefotaxime. Resistance rates of *Salmonella* species were; 66,7 % for ampicillin, no resistance was detected for TMP/SMX, ciprofloxacin and cefotaxime.

CONCLUSION: Different resistance profiles obtained in this study showed once again, the importance of having the knowledge about the local antibiotic resistance patterns, as this may lead for empirical treatment and be useful in limiting the development of resistance. More comprehensive studies are needed to interpret the results of this preliminary study from this region.

Key words: *Salmonella*, *shigella*, gastroenteritis, antibiotic resistance

¹Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TEKİRDAĞ, TÜRKİYE

²Ağrı Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, AĞRI, TÜRKİYE

³Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TEKİRDAĞ, TÜRKİYE

Gastroenteritler, dünyada sık olup, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sorun olmaya devam etmektedir. Etken olan bakteri, virus ya da parazitler, sıklıkla oral yol ile bulaştıklarından hijyen koşulları ve sanitasyon uygulamalarındaki eksiklik enfeksiyonun gelişimine neden olmaktadır¹⁻³.

Bakteriyel patojenlerden olan Salmonella ve Shigella türleri, özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal kesimlerinde en sık izole edilen bakterilerdir²⁻³. Salmonella enfeksiyonu dünyada yaygın bir zoonoz olup⁴, non-tifoidal salmonellozun en yaygın formu, kısa süren ve kendi kendini sınırlayabilen gastroenterit tablosudur ve hastaların yaklaşık %5-10'unda ciddi komplikasyonlar gelişebilmektedir⁵. Salmonella'ya benzer şekilde Shigella türleri de tedavi edilmediğinde de yüksek morbidite ve mortaliteyle seyreden enfeksiyonlara neden olmaktadır⁶. Akut diyarenin tedavisi sıvı-elektrolit replasmanı ile sınırlı⁷ olmakla beraber, şigelozda, salmonellozda bazı durumlarda⁸ antibiyotik tedavisi verilmektedir. Bu bakterilerde, antibiyotiklere karşı kolayca direnç gelişebilmesi tedavi sorunlarına yol açmaktadır⁹. Bu nedenle Salmonella ve Shigella türlerinin bölgesel antibiyotik direnç paternlerinin bilinmesi önemli olup, bu bilgiler ampirik tedaviyi yönlendirme, ayrıca direnç gelişimini sınırlama açısından da yararlı olacaktır.

Bu çalışmada, 1 Ocak 2006 ile 31 Aralık 2009 tarihleri arasındaki 4 yıllık dönemde Ağrı Devlet Hastanesi'ne ishal şikâyetiyle başvuran hastalardan izole edilen Salmonella ve Shigella suşları değerlendirilmiş ve izolatların antibiyotik duyarlılık paternlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ağrı Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na akut diyare ön tanısıyla gönderilen dışkı örneklerinin sonuçları retrospektif olarak incelendi. Ateş yüksekliği, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal şikâyetiyle gelen hastalardan gönderilen dışkı örnekleri; öncelikle makroskopik, daha sonra mikroskopik açıdan incelendi. Mikroskopik incelemede örnekler boyasız direkt yöntemle ve lugolle boyanarak incelendi.

Makroskopik incelemede kanlı/mukuslu olan, mikroskopik incelemede ise lökosit içeren ve parazitolojik açıdan negatif bulunan örnekler, invaziv enfeksiyon etkenleri açısından şüpheli olarak değerlendirilip bakteriyolojik inceleme alındı. Katı, içerisinde kan ve/veya mukus bulunmayan, direkt incelemede de lökosit içermeyen örnekler bakteriyolojik inceleme için alınmadı. Örnekler bakteriyolojik inceleme amacıyla Eozin Methylen Blue (EMB) (BBL, BD) ve SelenitF (Difco, BD) besiyerlerine ekildi ve takiben Salmonella-Shigella agar (Difco, BD) besiyerine pasaj yapıldı ve 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Salmonella identifikasyonu için Salmonella poli A (OMA) ve Salmonella poli B

(OMB); Shigella için ise Shigella dysenteriae I-II (Grup A-I, A-II), Shigella flexneri (Grup B), Shigella boydii-I-II-III (Grup C-I II-III), Shigella sonnei (Grup D) kullanıldı. Tüm antiserumlar Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi'nden temin edildi¹⁰.

Salmonella ve Shigella cinsi olarak identifiye edilen bakterilerin, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'ın önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasin (5µg), ampicilin (10µg), sefotaksim (30µg) ve trimetoprim/sulfometoksazol'e (TMP/SMX) (25µg) (Oxoid-İngiltere) duyarlılıkları incelendi. Siprofloksasin için ≤15 mm dirençli 16-20 mm arası orta derecede dirençli, ≥21 mm duyarlı; ampicilin için ≤13 mm dirençli 14-16 mm arası orta derecede dirençli, ≥17 mm duyarlı; sefotaksim için ≤14 mm dirençli 15-22 mm arası orta derecede dirençli, ≥23 mm duyarlı; TMP/SMX için ise ≤10 mm dirençli 11-15 mm arası orta derecede dirençli, ≥16 mm duyarlı kabul edildi¹¹.

BULGULAR

İncelenen toplam 2669 dışkı örneğinden 90 tanesi (%3,4) çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun bulundu. Bu örneklerden 14'ü (%15,6) Shigella flexneri, 3'ü (%3,3) de Salmonella spp. olarak identifiye edildi.

Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre; 14 S.flexneri suşundan 12'si (%85,7) ampiciline, 2'si (%14,3) TMP/SMX'e dirençli bulunurken, siprofloksasin ve sefotaksime direnç saptanmadı. Salmonella türlerinde ise ampiciline 3 suştan 2'si dirençli bulundu. TMP/SMX, siprofloksasin ve sefotaksime direnç saptanmadı.

TARTIŞMA

Gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık problemleri arasında yer alan gastroenterit etkenlerinden olan Salmonella ve Shigella türleri, önemli morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir¹²⁻¹³. Salmonella türleri genellikle kendi kendini sınırlayan hastalığa neden olmakla birlikte, Shigella türleri daha ciddi enfeksiyon oluşturma eğilimindedir. Türkiye'de Salmonella için fekal izolasyon %2-11, Shigella için ise %2-9 arasındadır¹⁴. Çalışmadaki Salmonella oranları bu değerlerle uyumluysen Shigella oranları bunlara göre yüksek bulunmuştur. Ancak Shigella'nın izolasyon oranının bu çalışmadaki orandan yüksek olduğu yerler de bildirilmiştir¹⁵. Ergönül ve ark.'nın yaptığı çalışmada¹⁶ en yaygın tür Shigella flexneri, Altun ve ark.'nın çalışmasında¹⁷ Shigella sonnei, Pullukçu ve ark.'nın¹⁸ çalışmasında Shigella sonnei, Kuzucu ve ark.'nın¹⁹ çalışmasında Shigella flexneri olarak bulunmuştur. Dünyanın farklı yerlerinde yapılan araştırmalarda da genellikle Shigella flexneri yaygın tür olarak saptanırken,²⁰⁻²³ Shigella sonnei'nin etken olduğunu bildiren çalışmalar

da bulunmaktadır²⁴. Bu çalışmadaki izolatlar Shigella flexneri olarak tanımlanmıştır.

Birçok ülkede, gram negatif basillerde görülen antibiyotik direnci bu etkenlerden kaynaklanan enfeksiyonlarının tedavisinde ciddi sorunlara yol açmaktadır²⁵. Salmonella ve Shigella cinsi bakteriler de ciddi seyirli invaziv enfeksiyonlara neden olduklarından bu ajanların etken olabileceği düşünülen gastroenterit tablolarında ampirik tedavide uygun antibiyotiği verebilmek için bölgesel antibiyotik direnç paternlerinin önceden bilinmesinde yarar vardır. Türkiye'de çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda Salmonellalarda ampisiline %27-66, TMP/SMX'e ise %,8-33,3 oranlarında direnç saptanmıştır²⁶⁻²⁸. Çalışmadaki bulgular bu değerlerle uyumlu bulunmuştur. Sefotaksim direnci %,4,8-8 gibi düşük değerlerde saptanırken kinolon direncine rastlanmamıştır²⁶⁻²⁸. Çalışmadaki Salmonella türlerinden elde edilen veriler de bu değerlerle uyumludur.

Türkiye'de Shigella suşlarının antibiyotik duyarlılık paternlerine bakıldığında ampisiline direnç oranları % 24-50 arasında saptanmıştır^{14,17,18,26-28}. Bu çalışmadaki değer %85,7 ile bunlardan yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni Ağrı Devlet Hastanesi'nde ampisilin profilaktik tedavide çok fazla kullanılıyor olması olabilir. TMP/SMX'e direnç oranı da yapılan çalışmalarda %19-74,2 olarak saptanmıştır^{14,17,18,26-28}. Bu çalışmadaki oran % 14,3 ile bu değerlerden düşük bulunmuştur. Bu da TMP/SMX kullanımının rutinde daha az kullanılıyor olmasına bağlı olabilir. Sefotaksime direnç, çalışmaların çoğunda tespit edilemezken^{18,26,28} bazısında düşük derecede direnç tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda siprofloksasine direnç saptanmamıştır^{14,17,18,26-28}. Çalışmada siprofloksasin ve sefotaksime direnç saptanmamış, bu veriler yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Sefotaksimin parenteral kullanılan bir ilaç olduğundan dolayı pratikte profilaktik tedavide kullanılması kısıtlıdır. Ancak siprofloksasine karşı direnç oluşmamış olması sevindiricidir. Bu ilaç, profilaktik tedavide kullanılabilir.

Türkiye'de ishal vakaları, önemli bir morbidite ve mortaliteye neden olup, etkenler arasında Salmonella ve Shigella türleri ilk sıralarda yer almaktadır. Çalışma sonuçları bu patojenlerin il merkezinde invaziv enfeksiyon oluşturan gastroenterit etkenleri arasında önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir. İzolatların antibiyotik duyarlılık paternleri incelendiğinde, tedavide ampisilin ilk seçenek olmaktan çıktığı, TMP/SMX siprofloksasin ve sefotaksimin halen kullanılabileceği görülmektedir. Çalışmada antibiyotik duyarlılığı test edilen izolat sayısının düşük oluşu yorum yapabilmeyi zorlaştırmakla beraber, veriler Ağrı ilinden gönderilen ilk sonuçlar olması yönüyle önemlidir. İldeki Salmonella-Shigella türlerinin izolasyon sıklığı ve antibiyotik duyarlılık paternlerinin daha detaylı olarak incelenebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara

gereksinim bulunmaktadır.

TEŞEKKÜR: Verilerin toplanması ve düzenlenmesindeki katkılarından dolayı laboratuvar teknikeri sayın Ayfer AYNALI'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Al-Gallas N, Bahri O, Bouratbeen A, Ben Haasen A, Ben Aissa R. Etiology of acute diarrhea in children and adults in Tunisia, Tunisia, with emphasis on diarrheagenic Escherichia coli: prevalence, phenotyping, and molecular epidemiology. Am J Trop Med Hyg 2007;(77):571-82.
2. Okeke IN, Ojo O, Lamikanra A, Kaper JB. Etiology of acute diarrhea in adults in southwestern Nigeria. J Clin Microbiol 2003;(41):4525-30.
3. Velge P, Cloeckert A, Barrow P. Emergence of Salmonella epidemics: the problems related to Salmonella enterica serotype enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. Vet Res 2005;(36):267-88.
4. Vo AT, van Duijkeren E, Gaastra W, Fluit AC. Antimicrobial resistance, class 1 integrons, and genomic island 1 in Salmonella isolates from Vietnam. PLoS One, 2010;(5): 9440.
5. Su LH, Chiu CH. Salmonella: Clinical importance and evolution of nomenclature. Chang Gung Med J 2007;(30):210-19.
6. Niyogi SK. Shigellosis. J Microbiol 2005;43:133-43.
7. Casburn-Jones AC, Farthing MJG. Management of infectious diarrhoea. Gut 2004; 53: 296-305.
8. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. 4. Baskı: Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2005:152-4.
9. World Health Organization: Antimicrobial resistance in shigellosis, cholera, and campylobacteriosis, WHO/CDS/CSR/DRS/2001.8.
10. Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, White O, editors. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington DC: ASM Press, 2003:654-671.
11. Wayne PA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. Clinical and laboratory standards institute 2006. M100-S16.
12. Foghartaigh CN, Edgeworth JD. Bacterial gastroenteritis. Medicine 2009;37(11):586-93.
13. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ, Adak GK, Levine MM. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bulletin of the World Health Organization 1999;77(8):651-66.
14. Öngen B. Türkiye'de ishal etkenleri. ANKEM Derg 2006;20(Ek 2):122-34.
15. Demirtürk N. Akut ishallerin etkenlerinin değerlendirilmesi: 2 yıllık izlem. ANKEM Derg 2004;18(1):24-7.
16. Ergönül Ö, Imre A, Çelikbaş A, Dokuzoğuz B. Drug resistance of Shigella species: changes over 20 years in Turkey. Int J Antimicrob Agents 2004;23:527-8.
17. Altun B, Gür D. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde 1999-2010 yılları arasında dışkı örneklerinden izole edilen Shigella türlerinin antibiyotiklere direnç profilleri. Mikrobiyol

- Bul* 2011;45(4):609-16.
18. Pullukçu H, Aydemir Ş, Sipahi OR, Yamazhan T, Tünger A. 1999-2006 yılları arasında dışkı kültürlerinden izole edilen 439 Shigella kökeninin tür dağılımı ve antibakteriyel direnç durumları. *ANKEM Derg* 2007;21(3):137-41.
 19. Kuzucu Ç, Baktır E, Acar N. 1998-1999 yılları arasında izole edilen Salmonella ve Shigella suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2001;58 (1):11-14.
 20. Rosewell A, Ropa B, Posanai E, Dutta SR, Mola G, Zwi A, MacIntyre CR. Shigella spp. Antimicrobial Drug Resistance, Papua New Guinea, 2000-2009. *Emerg Infect Dis* 2010;16 (11):1797-9.
 21. Khan AI, Huq S, Malek MA, Hossain MI, Talukder KA, Faruque ASG, Salam MA, Sack DA. Shigella serotypes among hospitalized patients in urban Bangladesh and their antimicrobial resistance. *Epidemiol Infect* 2004;132: 773-7.
 22. Bercion R, Njuimo SP, Boudjeka PM, Manirakiza A. Distribution and antibiotic susceptibility of Shigella isolates in Bangui, Central African Republic. *Trop Med Int Health* 2008;13:(4):468-71.
 23. Urvashi, Saxena S, Dutta R. Antimicrobial resistance pattern of Shigella species over five years at a tertiary-care teaching hospital in North India. *J Health Popul Nutr* 2011; 29 (3): 292-5
 24. Salmandeh-Ahrabi S, Jafari F, Habibi E, Irajian GR, Aslani MM, Baghbani-Arani F, Zali MR. Tahran'da izole edilen Shigella türlerinin serotip dağılımı ve antimikrobiyal direnç oranları. *Mikrobiyol Bül* 2007;453-7
 25. Lyon DJ, Scheel O, Adeyemi-Doro FA, Ling TK, Cheng AF, Norrby SR. Antimicrobial susceptibility and extended-spectrum beta-lactamases of Hong Kong isolates of Enterobacteriaceae. *Scand J Infect Dis* 1996;Suppl 101:17-20.
 26. Şenses Z, Baysallar M, Aydoğan H, Üsküdar Güçlü A, Doğanç L. Kan ve dışkı örneklerinden izole edilen Salmonella ve Shigella izolatlarının antibiyotik dirençleri. *Güllhane Tıp Dergisi* 2007;49:141-6.
 27. Gündüz T, Tünger Ö, Sürücüoğlu S, Özbakkaloğlu B. Manisa bölgesinde soyutlanan Salmonella ve Shigella suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002;32:216-9.
 28. Ağel HE, Durmaz B, Refik M, Aşgın N. Dışkı kültürlerinden izole edilen Salmonella ve Shigella suşlarının antibiyotik direnç durumları. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1999;6(4):313-6.

YAZIŞMA ADRESİ

Yrd. Doç. Dr. Hayati GÜNEŞ
Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD, TEKİRDAĞ, TÜRKİYE

E-Posta : dr_hgunes@yahoo.com

Geliş Tarihi : 25.02.2012

Kabul Tarihi : 05.07.2012