

VAN YÖRESİNDE İZOLE EDİLEN *SALMONELLA* SEROTİPLERİ VE BUNLARIN ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİLİKLERİ

Mustafa Berktaş* Hamza Bozkurt* M. Güzel Kurtoğlu* Hüseyin Güdücüoğlu*

Hayrettin Akdeniz**

*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

* 11-14 Aralık 1997 tarihlerinde Bursa’da yapılan prof. Dr. Ö. Fethi Tezok, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Günleri-II, Salmonellalar ve Enfeksiyonları Sempozyumu’nda sözlü olarak sunulmuştur.

ÖZET

Çalışmamızda çeşitli örneklerden izole edilen toplam 66 *Salmonella* serotipi üzerine, 14 antibiyotiğin etkileri araştırılmıştır.

Alınan gaita, idrar, kan, abse ve BOS örneklerinden gerekli besiyerlerine ekimler yapılarak izole edilen bakteriler önce polivalan *Salmonella* antiserumları ile, daha sonra ise monovalan antiserumlarla karşılaştırılarak tiplendirilmiştir. *Salmonella* serotiplerinin 56(%84.9)’sı gaita, 4(%6.1)’ü idrar, 3(%4.5)’ü kan, 2(%3.0)’si apse, 1(%1.5)’i ise BOS’tan izole edilmiştir. İzole edilen *Salmonella*’ların serotip dağılımında ise 36(%54.5)’sının *S. paratyphi B*, 17(%25.8)’sinin *S. paratyphi A*, 9(%13.6)’unun *S. typhimurium* ve 4(%6.1)’ünün ise *S. arizona* olduğu saptanmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile (Becton Dickinson-Sceptor) antimikrobiyal duyarlılık testi yapılarak 14 antibiyotiğin bakteriler üzerine etkisi araştırılmıştır.

Salmonella serotiplerinin 2'sinde (%3) siprofloksasine, 5'inde (%7.6) kloramfenikol ve seftazidime, 8'inde (%12.1) imipeneme karşı direnç saptanmış olup, ayrıca diğer antibiyotiklere karşı % 10 ile % 33.3 arasındaki oranlarda direnç geliştiği gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Salmonella*, antibiyotik direnci, Mikrodilüsyon yöntemi.

GİRİŞ

Salmonella'lar *Enterobacteriaceae* ailesindeki en karmaşık cinstir. Bu cinsin sınıflandırılması ve adlandırılması defalarca değiştirilmiş olup tam olarak kesinlik kazanmamıştır, bu yüzden karışıklıklar doğmaktadır. *Salmonella* cinsindeki bakteriler lipopolisakkarid O (somatik) ve protein H (kirpik-flagella) antijenlerinin farklılıkları temeline dayanılarak 1926'larda White'ın düzenlediği ve 1972-1978'de Kauffmann'ın genişlettiği şemaya göre, serotiplere ayrılmışlardır. *Salmonella* cinsi içinde antijence farklı 2200 kadar serotip tanımlanmaktadır(1).

Bazı araştırmacılar *salmonella* cinsini biyokimyasal özellikleriyle 3 türe (*Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* ve *Salmonella enteritidis*) ayırmayı önermişlerdir. Bu sınıflandırmaya göre *Salmonella typhi* (*S.typhi*) ve *Salmonella choleraesuis* türleri yalnızca birer serotip (serovar) içerirler ve bilinen 2200'e yakın serotip *Salmonella enteritidis* içinde yer alır (örneğin *S.enteritidis ser. typhimurium*, *S.enteritidis ser. enteritidis*, *S.enteritidis ser. heidelberg*)(1).

Daha sonra DNA analizleri ile çeşitli serotipler arasında, % 61-100 oranında DNA benzerliği gösterilmesi nedeniyle, bütün *Salmonella*'ları tek tür içinde toplamak ve biyokimyasal özelliklerine göre alt türlere ayırmak eğilimi doğmuştur(2).

Salmonella'lara bağlı infeksiyonların büyük çoğunluğunda etken kontamine besinler ve su yolu ile alınmaktadır. Salgınlarda önemli kaynaklar kümes hayvanları ve

ürünleri (özellikle yumurta), etler, süt ve süt ürünleridir (3). İnsanlarda *Salmonella*'lara bağlı olarak gastroenterit, besin zehirlenmesi ve tifo formları gelişebilmektedir. Oral yolla 10^7 mikroorganizma alınması durumunda sağlıklı kişilerin yaklaşık % 50'sinde tifo geliştiği görülmüştür (4). Tifoda kesin tanı mikroorganizmanın kandan izolasyonudur. Dışkıdan izolasyon kesin tanı koydurucu olmamakla birlikte hastada klinik bulguların varlığıyla birlikte olduğunda güçlü bir tanı göstergesidir (5). Tifolu hastalardan birinci haftada yapılan kan kültürlerinde izolasyon oranı % 80'dir (6). Gaita kültürleri ise genellikle inkübasyon periyodu esnasında pozitif olup hastaların 1/3'ü ile 2/3'ünde hastalığın 2-4. haftasında tekrar pozitifleşmektedir (6). Tanıda serolojik çalışmalar da yararlı olmakla birlikte olguların çoğunda hastalığın seyri esnasında aglütinin titresinde yükselme görülmemektedir. Ayrıca diğer enfeksiyonlara bağlı yalancı pozitiflikler de görülmektedir (5).

Salmonella'lara bağlı enfeksiyonlar özellikle ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir morbidite ve mortaliteye sahiptir. *Salmonella*'lara bağlı enfeksiyonlarda tedaviyi gerektiren durumlarda eskiden beri kullanılan antibiyotiklerden başlıcaları kloramfenikol, ampisilin ve trimetoprim-sulfametoksazol'dür. Ayrıca III. kuşak sefalosporinler de tedavide etkindir (4). Özellikle son zamanlarda insan ve hayvanlarda antibiyotiklerin geniş kullanımına bağlı olarak çok sayıda antibiyotiğe dirençli *Salmonella* suşlarının ortaya çıkması, tedavide kullanılacak antibiyotiğin seçimini güçleştirmektedir. *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere karşı dirençlilik oranı coğrafik bölgelere göre büyük farklılıklar göstermektedir (7). Bunlardan kloramfenikol, Ampisilin ya da TMP-SMX'e karşı dirençli olan suşların oranındaki yükselme ise klinik açıdan daha büyük bir öneme sahiptir. Son zamanlarda çok sayıda antibiyotiğe karşı dirençli suşların artması nedeniyle bu bakterilere karşı in-vivo ve in-vitro bakterisidal

etkileri saptanmış yeni kinolonlar ve III. jenerasyon sefalosporinler de kullanıma girmiştir (8).

Çalışma, yörede Salmonelloz etkeni olan *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere karşı dirençlilik oranlarını saptamak, kullanıma yeni girmiş antibiyotiklerin izole edilen suşlar üzerine in-vitro etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Ağustos 1995 ile Ekim 1997 tarihleri arasında çeşitli klinik ve poliklinik hastalarından alınarak Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 61 hastaya ait 66 örnek üzerinde yapılmıştır. Bu 61 hastanın 39'unu (%63.9) erkek, 22'sini (%36.1) ise kadın hastalar oluşturmuştur. Alınan örneklerinin % 5 Koyun Kanlı Agar, MacConkey, EMB ve SS Agar besiyerlerine ekimleri yapılmış, ayrıca kan ve BOS örnekleri kan kültür besiyerlerine alınarak uygun ısılarda (kan ve BOS kültürleri Bactec 9120'de) inkübe edilmiştir. Gaita örnekleri ise önce Selenit F buyyona alınarak 37 °C'de 6-8 saat inkübe edilmiş, daha sonra yukarıda adı geçen besiyerlerine pasajlanmıştır. İzole edilen suşlara önce klasik yöntemler (Oksidaz, TSI Agar, Urea Agar, Sitrat agar, LIA, IMVIC ve ONPG) uygulanarak cins düzeyinde isimlendirme yapılmış, daha sonra polivalan ve monovalan antiserumlar kullanılarak kesin identifikasyonları yapılmıştır.

İdentifiye edilen bu suşlar üzerinde çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkilerinin araştırılması amacıyla mikrodilüsyon yöntemi ile (Becton-Dickinson, Sceptor) antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışma 61 hastanın çeşitli örneklerinden izole edilen 66 *Salmonella* serotipi üzerinde yapılmıştır. Bu 61 hastanın 39'unu (%63.9) erkek, 22'sini (%36.1) ise kadın hastalar oluşturmuştur. Bu 66 örneğin 38'i (% 57.6) Pediatri, 18'i (% 27.3) Enfeksiyon Hastalıkları, 5'i (%7.6) İç hastalıkları, 5'i (%7.5) ise Genel cerrahi, Ortopedi, Göğüs Hastalıkları, Üroloji ile Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniklerinden gönderilmiştir. Bu hastalardan alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 56'sı (% 84.9) gaitadan , 4'ü (% 6.1) idrardan, 3'ü (%4.5) kandan, 2'si (%3) abse materyalinden, 1'i (%1.5) ise BOS'dan olmak üzere 61 hastaya ait 66 örnekten *Salmonella* bakterileri izole edilmiştir. İzole edilen serotiplerin, monovalan ve polivalan antiserumlarla karşılaştırılması sonucunda serotiplerin 36'sının (% 54.5) *S. paratyphi B*, 17'sinin (% 25.8) *S. paratyphi A*, 9'unun (% 13.6) *S. typhimurium*, 4'ünün (% 6.1) ise *S. arizona* olduğu saptanmıştır.

Salmonella serotipleri üzerinde 14 antibiyotikle yapılan antimikrobiyal hassasiyet test sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İzole edilen *salmonella* suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile çeşitli antibiyotiklere dirençlilik oranları(%)

Antibiyotik	Dirençli suş sayısı (n=66)	Dirençli suşların oranı (%)
Ampisilin	22	33.3
Ampisilin - sulbaktam	19	28.8
Amoksisilin - klavulanat	18	27.3
Tikarsilin	26	39.4
Tikarsilin - klavulanat	5	7.6
İmipenem	8	12.1
Seftriakson	15	22.7
Sefotaksim	12	18.2
Sefoperazon	11	16.7
Seftazidim	5	7.6
Siprofloksasin	2	3.0
Trimetoprim- sulfametoksazol	22	33.3
Tetrasiklin	7	10.6
Kloramfenikol	5	7.6

TARTIŞMA

Kloramfenikol, ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol ve III. jenerasyon sefalosporinler tifo tedavisinde etkin olduğu bilinen antibiyotiklerdir. Bunlardan özellikle ilk üçüne karşı giderek artan oranda direnç gelişiminin görülmesi tedavide kullanılacak antibiyotik seçimini zorlaştırmaktadır. (7). Ayrıca *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere karşı dirençlilik durumlarında bölgesel farklılıklar görülmektedir (7). Mc Donald ve ark. (7)'nin ABD' de 1979-1980 ve 1984-1985 yılları arasında yaptıkları çalışmalarında aynı coğrafik bölgelerden izole edilen *Salmonella*'ların antimikrobiyallere karşı dirençlilik oranlarında farklılıklar gözlemişlerdir. Bu çalışmada, 13 farklı antibiyotiğin 1 ya da daha fazlasına dirençli suşların oranının % 16'dan % 24'e yükseldiği de saptanmıştır. İngiltere'de yapılan yeni bir çalışmada (9), Hindistan ve Batı Afrika'dan izole edilen 2356 *S. typhi* suşundan sadece 11 (% 0.47)'inin kloramfenikole dirençli olduğu saptanmıştır. Kloramfenikole dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlarda bu

antibiyotiklere alternatif olarak ampisilin ya da amoksisilin önerilmektedir (10). Hem kloramfenikol, hem de ampisiline dirençli suşlarda ise trimetoprim-sulfametoksazol tedavisi yapılması gerektiği bildirilmektedir (11). Yurtiçi ve yurtdışında yapılan benzer araştırmalardan alınan sonuçlar Tablo 3’de toplu olarak verilmektedir.

Tablo 3. Yurtiçi ve yurtdışında yapılan benzer çalışmalarda alınan sonuçlar*

No:	Araştırmacı	Kaynak No	Bölge	AMP	SXT	KF	CTX	CİP
1	Özgüneş	12	İstanbul	27.6	19.1	31.9	-	4.2
2	Şengöz	13	İstanbul	55.3	-	-	-	-
3	Dinçer	14	İstanbul	100.0	50.0	55.0	-	-
4	Nazlıcan	15	İstanbul	50.0	-	16.6	-	-
5	Akşit	16	Eskişehir	14.5	14.5	49.1	-	-
6	Willke	17	Ankara	28.6	42.9	33.0	-	-
7	Gedikoğlu	18	Bursa	95.8	88.8	94.3	-	-
8	Çolak	19	Eskişehir	7.7	14.3	17.8	-	-
9	Hoşoğlu	20	Diyarbakır	15.3	20.0	0	17.5	3.1
10	Erkmen	21	İstanbul	42.3	30.7	30.7	34.6	0
11	Berktaş	22	Gaziantep	14.3	31.5	8.3	0	0
12	Kılıç	23	Eskişehir	-	-	-	-	-
13	Urbarlı	24	İzmir	50.0	-	-	-	0
14	Serdaroğlu	25	İzmir	93.2	-	95.4	56.1	-
15	Tuncer	26	Konya	96.2	98.1	94.2	-	0
16	McDonalds	7	ABD	9.0	7.0	2.0	-	-
17	Rowe	9	Asya-Afrika	-	-	0.5	-	-
18	Raminer	27	Avrupa	-	-	-	-	5.3
19	Hoban	28	USA	20.0	-	-	-	0
20	ÇALIŞMA		Van	33.3	33.3	7.6	18.2	3.0

* Sonuçlar % direnç olarak verilmiştir.

Bu 3 ajana karşı direnç gelişmiş suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde ise özellikle sefotaksim, seftriakson ve sefoperazon gibi III. kuşak sefalosporinler önerilmektedir (29). Yapılan bir çalışmada bu ajanların kür oranları sırasıyla % 85, % 92 ve % 97 olarak verilmiştir (29). Tifo tedavisinde II. generasyon sefalosporinlerin etkisi azdır ve kullanılmamalıdır (30).

Son yıllarda tifo tedavisinde gittikçe daha fazla değer kazanan diğer bir antibiyotik de Siprofloksasindir (27). Bu antibiyotikğin özellikle rekürren *Salmonella*

sepsislerinin tedavisinde ve kronik taşıyıcılardan *S. typhi*'nin eradike edilmesinde etkin olduğu bildirilmektedir. Bunların dışında daha bir çok antibiyotik in-vitro olarak *Salmonella* suşları üzerine etkili görünmelerine rağmen *Salmonella* suşlarının bu antibiyotiklere in-vivo yanıtları zayıftır ve *Salmonellalara* bağlı infeksiyonların tedavisinde kullanılmaları önerilmemektedir (4).

The salmonella serotypes isolated from Van region and their resistance to antibiotics

Abstract: In our study the effects of 14 antibiotics on 66 Salmonella serotypes isolated from various clinical specimens were examined.

The bacteria were isolated by culturing the stool, urine, blood, pus and CSF samples on suitable media, were typed by comparison first with polyvalent Salmonella antisera and thereafter with monovalent Salmonella antisera. Fiftysix (84.9%) of 66 Salmonella serotypes were isolated from stool, 4 (6.1%) from urine, 3 (4.5%) from blood, 2 (3.0%) from pus and 1(1.5%) from CSF. The distribution of the serotypes were as follows ; 36 (54.5%) S. paratyphi B, 17 (25.8%) S. paratyphi A, 9 (13.6%) S. typhimurium and 4 (6.1%) S. arizona. An antibiotic susceptibility test with microdilution technique was performed to search the effects of 14 antibiotics on bacteria.

Two (3%) Salmonella serotypes were resistant to ciprofloxacin, 5 (7.6%) were resistant to chloramphenicol and ceftazidime, 8 (12.1%) were resistant to imipenem and 10%-33.3% of Salmonella serotypes were found to be resistant to other antibiotics.

Key Words : Salmonella species, antibiotic resistance, microdilution method.

KAYNAKLAR

1. Erdem B: Enterobacteriaceae, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editör: Ustaçelebi Ş. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999, 471- 515.
2. Koneman EW, Allen DS, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia, JB Lippincott Company, 1992, pp:105-184.
3. Aserkoff B, Schroeder S A, Brechman P S: Salmonellosis in the United States-A five year review. Am J Epidemiol 92:13, 1970.
4. Hook E W: Salmonella species (including typhoid fever), In::Principle and Practice of Infectious Diseases, Edited by Mandell LG, Douglas RG, Bennett JE. 3rd Edition, New-York, Livingstone, 1990, pp:1700-1716.
5. Hook E W: Typhoid and its serology. Br Med J 1:389, 1978.
6. Stuart B M, Pullen R L: Typhoid : Clinical analysis of three hundred and sixty cases. Arch Intern Med 78:629, 1946.
7. MacDonald K L, Cohen M L, Hargrett-Bean NT: Changes in antimicrobial resistance of Salmonella isolated from humans in the United States. JAMA 1496-1499, 1987.
8. Bryan J P, Rocha H, Scheld W M: Problems in salmonellosis: Rationale for clinical trials with newer b-lactam agents and quinolones. Rev Infect Dis 8:189-207,1986.
9. Rowe B, Threlfall EJ, Ward LR: Does chloramphenicol remain the drug of choice for typhoid?. Epidemiol Infect 98:379-389, 1987.
10. McHugh GL, Hopkins CC, Moellering RC: Salmonella typhimurium resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin. Lancet 1:235, 1975.
11. Snyder M J, Perroni J, Gonzales O, et al: Trimethoprim-sulfamethoxazole in the treatment of typhoid and paratyphoid fevers. J Infect Dis. 1973;128:734.
12. Özgüneş N, Üçışık A C, Yazıcı S, Gündeş S, Ceylan N: 1992-1993 yıllarında enfeksiyon hastalıkları kliniğinde izole edilen *Salmonella* suşları ve antibiyotik duyarlılıkları. XXVI. Türk Mikrobiyol Kon, Kongre Özet Kitabı s:44, Antalya, 11-15 Nisan 1994.
13. Şengöz G, Nazlıcan Ö, Yaldız F, Mamçu D, Yetişkul F: Gaita kültüründen izole edilen *Salmonella* suşlarının ampisilin ve ampisilin-sulbaktam rezistansının incelenmesi. XXVI. Türk Mikrobiyol Kon, Kongre Özet Kitabı s:43, Antalya 11-15 Nisan 1994.
14. Dinçer N, Öner Y A, Büget E, Anğ Ö: Değişik gruplardan 80 adet *Salmonella* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. XXVI. Türk Mikrobiyol Kon, Kongre Özet Kitabı s:41, Antalya, 11-15 Nisan 1994.
15. Nazlıcan Ö, Şengöz G, Öztürk A, Yaldız F, Tözalgan Ü, Temizkan T: Nisan/Aralık 1993 tarihleri arasında hemokültürlerden izole edilen *Salmonella* suşlarının değerlendirilmesi. XXVI. Türk Mikrobiyol Kon, Kongre Özet Kitabı s:40, Antalya, 11-15 Nisan 1994.
16. Akşit F, Akgün Y: *Salmonellaların* en çok kullanılan ve yurdumuzda henüz kullanılmayan bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. Mikrobiyol Bült 15:49-53, 1981.
17. Willke A, Altay G, Erdem B: *Salmonella* cinsi bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. Mikrobiyol Bült 22:17-24, 1988.
18. Gedikoğlu S, Göral G, Helvacı S, Kılıçturgay K: *Salmonella typhimurium* enfeksiyonlarının Bursa yöresindeki durumu. Mikrobiyol Bült 24:95-102, 1990.
19. Çolak H, Usluer G: *Salmonella typhi* enfeksiyonlarının tedavisinde ampicilline, chloramphenicol ve trimetoprim-sulfametoxazole (TMP-SMZ)'ün klinik uygulamada karşılaştırılması. Mikrobiyol Bült 21:20-26, 1987.
20. Hoşoğlu S, Ayaz C, Geyik M F, Özen A, Kökoğlu Ö F: *Salmonella typhi* suşlarında antibiyotik duyarlılığı. 3. Antimikrobik kemoterapi günleri: Klinik-Laboratuvar

- uygulamaları ve yenilikler. Serbest Bildiri Özetleri, Poster No: 41, Kuşadası, 16-22 Mayıs 1997.
21. Erkmen T, Dinç E, Ağaç E, Çetmeli G, Özgüneş N: *Salmonella* suşlarının antimikrobiklere direnci. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kong, Program ve Özet Kitabı, Poster No: 10:P-42, Antalya, 7-10 Mayıs 1996.
 22. Berktaş M, Balcı İ, Güngör S, Fidan B: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Salmonella* cinsi bakterilerin antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları. Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fak. Derg 6(2):188-195, 1995.
 23. Kılıç Z, Kalyoncu C, Durmuş S, Akşit MA, Akgün Y, Akşit F. 1978-1983 Yılları arasında çocuklarda görülen Salmonellozları dağılımı ve tiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bült* 1987;21:103-9.
 24. Urbarlı A, Özgenç O, İnan N, Esen N, Gelen F. *Salmonella* ve *Shigella* suşlarının agar dilüsyon yöntemi ile kinolon ve ampisilin duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 11:271-4, 1997.
 25. Serdaroğlu E, Ersoy B, Atlıhan F, Aydoğan A, Serçin B : *Salmonella* infeksiyonlu 127 olgunun değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg* 10:333-6, 1996.
 26. Tuncer İ, Baysal B, Günaydın M, Saniç A, Baykan M. Dışkı örneklerinden izole edilen *Salmonella typhimurium* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnci. *ANKEM Derg* 4:537-40, 1990.
 27. Raminer C A, Bran J L, Meja C R: Open, prospective study of the clinical efficacy of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 28:128-132, 1985.
 28. Hoban D, Jones RN : The North American Component (USA-Canada) of an International Comparative MIC Trial Monitoring Ofloxacin Resistance. *Drugs* 45:167, 1993.
 29. Soe G B, Overturf G D: Treatment of typhoid fever and othed systemic salmonellosis with cefotaxime, ceftriaxone, cefoperazone, and other newer cephalosporins. *Rev Infect Dis* 9:719-736, 1987.
 30. Uwaydah M, Nassar N T, Harakeh H: Treatment of typhoid fever with cefamandole. *Antimicrob Agents Chemother* 26:426-427, 1984.