ANKEM Derg 14 (No. 4): 551-554 (2000)

PLASTİK CERRAHİDE KULLANILAN SÜLÜK (HIRUDO MEDICINALIS)'LERDEN İZOLE EDİLEN AEROMONAS HYDROPHILA'LARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI*

Cafer EROĞLU[1], Murat HÖKELEK[2], Ethem GÜNEREN[3], Mustafa SÜNBÜL[1], Seyhan AYDOĞAN[1], O. Ata UYSAL[3]

ÖZET

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, fleblerde venöz konjesyonu önlemek amacıyla kullanılan tıbbi sülük *Hirudo medicinalis,* endosimbiyotik olarak taşıdığı *Aeromonas* cinsinden bakteriler nedeniyle, tedavi sırasında % 20 oranında infektif komplikasyonlar oluşturabilmektedir. Çalışmada bu infeksiyonların profilaksi ve tedavilerinde kullanılacak antibiyotikleri belirlemek amacıyla sülüklerden izole edilen *Aeromonas hydrophila*'ların antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılmıştır.

Altmışüç sülüğün yüzey, ağız ve barsak kültürlerinden klasik yöntemlerle 38 *A.hydrophila* izole edilmiştir. Standart disk difüzyon yöntemi kullanılarak bu bakterilerin tamamının ampisiline dirençli, kotrimoksazol, gentamisin, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefotaksim, imipenem ve siprofloksasine duyarlı olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak insanlarda sülük uygulama endikasyonlarında, verilecek profilaktik antibiyotikler seçilirken, olası etkenlerin ve direnç oranlarının bilinmesi yararlı olur.

SUMMARY

Antibiotic susceptibility of Aeromonas hydrophilia strains isolated from leeches (Hirudo medicinalis) which is used in plastic surgery.

Medicinal leech *(Hirudo medicinalis)* is used to drain venous congestion in compromised flaps in plastic surgery. Leech therapy has 20 percent infectious complications in clinical applications because of endosymbiosis between *H.medicinalis* and *Aeromonas* spp. In this study, antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* strains isolated from leeches was determined to find out the appropriate antibiotics to be used in therapy and prophylaxies of infectious complications.

Thirty-eight *A.hydrophila* were isolated from surface, mouth and intestine of 63 *H.medicinalis.* All isolates were found to be resistant to ampicillin and susceptible to co-trimoxazole, gentamicin, piperacillin/tazobactam, ceftazidime, cefotaxime, imipenem and ciprofloxacin by standard disk diffusion test.

In conclusion, to have knowledge about the probable etiology and their antibiotic susceptibility to choose the appropriate prophilactic antibiotic when leeches be used was regarded useful.

---

* 15. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (5-10 Haziran 2000, Antalya).

1- Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, 2- Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 3- Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, Samsun.

GİRİŞ

Tarih boyunca değişik amaçlarla uygulanan sülük tedavisinin plastik ve rekonstrüktif cerrahide bilimsel olarak kullanılmasına 1980'li yıllarda başlanmıştır. Günümüzde özellikle fleblerde venöz konjesyonu önlemek amacıyla kullanılmaktadır (1,6,10,14).

Sülükler, sindirim enzimleri olmadığından emdikleri kanın parçalanabilmesi için endosimbiyotik olarak *Aeromonas*'lar gibi çeşitli bakterileri taşırlar (1,4,11,13,15). Bu nedenle *Hirudo medicinalis* uygulandığında özellikle *Aeromonas hydrophila*'ya bağlı % 20 oranında sepsis, pnömoni ve yumuşak doku infeksiyonları görülür. *H.medicinalis*'in yüzey, ağız ve barsaklarında bulunan bakterilerin temizlenmesi bu komplikasyonları önleyebilir. Fakat barsaktaki bakteriler tam olarak elimine edilememiştir. Bundan dolayı klinikte sülük kullanıldığında hastalara profilaktik antibiyotik verme zorunluluğu ortaya çıkmaktadır (2,5,6,9,10,16).

Bu çalışmada sülüklere bağlı infeksiyonların profilaksi ve tedavilerinde kullanılacak antibiyotiklerin belirlenmesi için sülüklerden izole edilen *A.hydrophila* suşlarının 13 antibiyotiğe karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Sülükler: Samsun çevresinden toplanan ortalama ağırlıkları 2.2 g (1.1-3.9) olan 63 *H.medicinalis* çalışmaya alınmış, steril gazlı bezle üzerindeki su alındıktan sonra eter anestezisi ile uyutulmuştur. Sülüklerin yüzeyleri kanlı agar (KA), ampisilinli kanlı agar (AKA) ve eozin metilen blue (EMB) agar besiyerlerine sürülmüştür. Daha sonra dorsal yüzeyleri alta gelecek şekilde steril bir alana toplu iğne ile fikse edilmiştir. Üstte kalan karın yüzeylerine povidon iyot sürülerek bir dakika tutulduktan sonra alkolle silinmiştir. Sülüğün karın yüzeyinde sagital bir kesi yapıldıktan sonra ekivyonla ağız ve barsak kültürleri alınmıştır.

Kültür ve antibiyogram: KA, AKA ve EMB agar besiyerlerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilen kültürlerden klasik yöntemlerle 38 *A.hydrophila* izole edilmiştir. İzolatların identifikasyonları API 20 NE (bioMerieux, France) ile de doğrulanmıştır. Üreyen *Aeromonas* türlerine National Committee Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'ın *Enterobactericeae* için yaptığı öneriler doğrultusunda Mueller Hinton besiyeri kullanılarak standart disk diffüzyon testi yapılmıştır.

BULGULAR

Altmış üç sülüğün 15'inin yüzeyinden, 2'sinin ağzından, 21'inin barsaklarından toplam 38 *A.hydrophila* suşu üretilmiştir. İzole edilen diğer bakteriler çalışma kapsamına alınmamıştır.

İzole edilen 38 *A.hydrophila* suşunun tamamı ampisiline dirençli, kotrimoksazol, gentamisin, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefotaksim, imipeneme duyarlı bulunmuştur. Ampisilin/sulbaktama % 16, sefazoline % 63, amoksisilin/klavulanik aside % 82, kloramfenikole % 87, sefiksime % 89 oranında duyarlılık saptanmıştır. İmipenem ve sefoksitin ile yapılan indüksiyon deneyinde suşların % 11'inde indüklenebilir beta-laktamaz saptanmıştır.

TARTIŞMA

Sülükler eskiden beri farklı amaçlarla, tedavide kullanılmaktadır. Günümüzde bilimsel olarak rekonstrüktif mikrocerrahi alanında serbest flep ve replantasyonların venöz konjes-

yonunu azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (1,6,10,14).

Değişik çalışmalarda sülüklerin barsak ve yüzeylerinde bakteriyel, viral ve fungal etkenleri taşıdıkları gösterilmiştir (4,9,11,13,16). Bu mikrofloranın en baskın bakterilerinin endosimbiyotik olarak bulunan *Aeromonas*'lar olduğu ortaya konmuştur. İnsanda sülük kullanılmasına bağlı olarak % 20'lere ulaştığı kaydedilen infeksiyon oranı, hayvan çalışmalarında daha yüksektir. Sülük tedavisi sonrası daha çok *A.hydrophila*'ya bağlı infeksiyonların ortaya çıkması, floranın asıl bakterisi olması ve patojeniteyle açıklanabilir (1,2,6,10,13,14).

Sülüklerin uygulandıkları yüzeyde dişleri ile deriyi delerek bütünlüğünü bozmaları floralarındaki bakterilerin konağa invaze olmalarını ve infeksiyon oluşturmalarını kolaylaştırmaktadır. Sülükler uygulandıkları bölgeye yapışıp kan emmese bile çalışmamızda *A.hydrophila*'ların % 39.5'inin yüzeylerden izole edilmesi sülüğün uygulandığı yara bölgesini yüksek oranda kontamine edebileceğini göstermektedir (14).

Görüldüğü gibi *A.hydrophila*'ların yarıdan fazlası da barsaktan izole edilmiştir. Bu nedenle eğer sülükler tedavide kullanılacaksa yüzeyleri, barsakları ve ağızları olabildiğince bakterilerden arındırılmalıdır. Fakat henüz sülüğü tümüyle sterilize edebilecek bir yöntem bildirilmemiştir. Bu nedenle sülük tedavisi öncesi ve sonrası uygun antibiyotiklerle profilaksi uygulanmalıdır (9,16). Karbapenemlerin, kinolonların ve 3. jenerasyon sefalosporinlerin profilakside kullanılması uygun olmayacağından *A.hydrophila* infeksiyonlarının önlenmesi için çalışmamız sonuçlarına göre kotrimoksazol, gentamisin veya piperasilin/tazobaktam kullanılması uygun olabilir (2,9).

Klinik materyallerden izole edilen *A.hydrophila*'ların çoğu indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) oluşturmaktadır (7,8,12). İBL oluşturan suşlar aminopenisilinlere ve bunların beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlarına, birinci kuşak sefalosporinlere dirençlidir. Sülük kaynaklı infeksiyonların tedavisinde bu durumun göz önünde bulundurulması uygun bir yaklaşım olabilir (7).

Ampisilin ve ampisilin/sulbaktama karşı olan yüksek direnç bu antibiyotiklerin profilakside kullanılmalarını sınırlamaktadır. Bu yüksek direnç Koehler ve Ashdown (8)'ın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Burgos ve ark. (3)'nın yaptıkları çalışmada amoksisilin/klavulanik asit direnci yaklaşık % 55 iken, çalışmamızda bu direnç % 18 olarak bulunmuştur. Direncin düşüklüğü suşların klinik izolat olmamaları ve farklı beta-laktamaz tiplerini taşımaları ile açıklanabilir (3,8).

Sonuç olarak insanlarda sülük uygulama endikasyonlarında, profilaktik antibiyotikler seçilirken, *A.hydrophila* suşlarının antibiyotiklere dirençlerinin belirlenmesi akılcı bir yaklaşım olacaktır.

KAYNAKLAR

1- Bickel KD, Lineaweaver WC, Follansbee S, Feibe R, Jackson R, Buncke HJ: Intestinal flora of the medicinal leech Hirudinaria manillensis, *J Reconstr Microsurg 10:*83 (1994).

2- Braga A, Lineaweaver WC, Whitney TM, Follansbee S, Buncke HJ: Sensitivities of Aeromonas hydrophila cultured from medicinal leeches to oral antibiotics, *J Reconstr Microsurg 6:*135 (1990).

3- Burgos A, Quindos G, Martinez R, Rojo P, Cisterna R: In vitro susceptibility of Aeromonas caviae, Aeromonas hydrophila and Aeromonas sobria to fifteen antibacterial agents, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis 9:*413 (1990).

4- de Chalain TMB: Exploring the use of the medicinal leech: a clinical risk-benefit analysis, *J Reconstr Microsurg 12:*165 (1996).

5- Hermansdorfer J, Follansbee S, Lineaweaver WS, Valauri FA, Buncke HJ: Antibiotic sensitivities of Aeromonas hydrophila cultured from medicinal leeches, *Br J Plast Surg 41:*649 (1988).

6- Jankauskas S, Cohen KI, Grabb WC: Basic technique of plastic surgery, "Smith JW, Aston SJ (eds): *Grabb and Smith's Plastic Surgery,* 4. baskı" kitabında s. 56, Little Brown, Boston (1991).

7- Ko WC, Wu WM, Chang TC, Yan JJ, Ju JJ: Inducible β-lactam resistance in Aeromonas hydrophila: Therapeutic challenge for antimicrobial therapy, *J Clin Microbiol 36:*3188 (1998).

8- Koehler JM, Ashdown LR: In vitro susceptibilities of tropical strains of Aeromonas species from Queensland, Australia, to 22 antimicrobial agents, *Antimicrob Agents Chemother 37:*905 (1993).

9- Lineaweaver WC, Furnas H, Follansbee S, Buncke GH, Whitney TM, Canales F, Bruneteau R, Buncke HJ: Postprandial Aeromonas hydrophila cultures and antibiotic levels of enteric aspirates from medicinal leeches applied to patients receiving antibiotics, *Ann Plast Surg 29:*245 (1992).

10- Lineaweaver WC, Hill MK, Buncke GM, Follansbee S, Buncke HJ, Wong RK, Manders EK, Grotting JC, Anthony J, Mathes SJ: Aeromonas hydrophila infections following use of medicinal leeches in replantation and flap surgery, *Ann Plast Surg 29:*238 (1992).

11- Mackay DR, Manders EK, Saggers GC, Banducci DR, Prinsloo J, Klugman K: Aeromonas species isolated from medicinal leeches, *Ann Plast Surg 42:*275 (1999).

12- Morton V: β-lactamase induction test for Gram-negative bacilli, "Isenberg HD (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook"* kitabında s. 5.7, ASM, Washington DC (1992).

13- Nonomura H, Kato N, Ohno Y, Itokazu M, Matsunaga T, Watanabe K: Indigenous bacterial flora of medicinal leeches and their susceptibilities to 15 antimicrobial agents, *J Med Microbiol 45:*490 (1996).

14- Sawyer RT: *Leech Biology and Behaviour,* s. 1065, Oxford University Press, Oxford (1986).

15- Snower DP, Ruef C, Kuritza AP, Edberg SC: Aeromonas hydrophila infection associated with the use of medicinal leeches, *J Clin Microbiol 27:*1421 (1989).

16- Wilken GB, Appleton CC: Bacteriological investigation of the occurrence and antibiotic sensitivities of the intestine-flora of the potential southern African medicinal leech, Asiaticobdella buntonensis (Hirudinidae), *J Hosp Infect 23:*223 (1993).