

# SALMONELLA SUŞLARINDA ANTİMİKROBİYAL DİRENCİN VE GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU<sup>1</sup>, Özlem TÜNGER<sup>1</sup>, Beril ÖZBAKKALOĞLU<sup>2</sup>,  
Hörlü GAZİ<sup>2</sup>, Kenan DEĞERLİ<sup>2</sup>, Şöhret AYDEMİR<sup>3</sup>

## ÖZET

Ege Bölgesinde izole edilen 41 *Salmonella* suşunda antibiyotiklere direnç NCCLS'in önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile, GSBL üretimi ise çift disk sinerji yöntemi ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ampisiline % 54, kloramfenikole % 41, seftazidime % 27, seftriaksona % 24, amoksisilin-klavulanata % 15, trimetoprim-sulfametoksazole % 5, imipeneme % 2 oranında direnç saptanmıştır. Çoklu antibiyotik dirençli (ampisilin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol direnci) suş saptanmamış ve incelenen suşların tümü siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve sefoksitine duyarlı bulunmuştur. GSBL ürettiği belirlenen dört suşun (% 10) biri *Salmonella enteritidis*, üçü *Salmonella typhimurium* olarak tanımlanmıştır.

## SUMMARY

*Investigation of antimicrobial resistance and extended spectrum beta-lactamase production in Salmonella strains.*

Antimicrobial resistance was evaluated by disk diffusion method according to NCCLS criteria, and ESBL production was analyzed by double disk synergy method in 41 *Salmonella* strains isolated in Aegean region. The resistance ratios were as following; ampicillin 54%, chloramphenicol 41%, ceftazidime 27%, ceftriaxone 24%, amoxicillin-clavulanate 15%, trimethoprim-sulfamethoxazole 5% and imipenem 2%. No species with multiple antibiotic resistance (ampicillin, chloramphenicol, trimethoprim-sulfamethoxazole) were found and all species were sensitive to ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin and cefoxitin. Of four species with ESBL (10%), one was identified as *Salmonella enteritidis* and three as *Salmonella typhimurium*.

## GİRİŞ

*Salmonella* infeksiyonları gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan infeksiyon hastalıklarından biridir. Tüm dünyada her yıl 12-33 milyon tifo olgusunun görüldüğü ve olgularının çoğunun Hint Yarımadası, Güney ve Orta Amerika ve Afrika'da ortaya çıktığı bildirilmektedir (12). Son 10 yılda çoklu antibiyotik dirençli *Salmonella* suşları ile gelişen infeksiyonların tedavisinde yaşanan sorunlar, araştırmaların bu konu üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur.

1- Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Infeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa.

2- Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

3- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

Ülkemizde ulusal bir *Salmonella* referans laboratuvarının bulunmaması nedeni ile etken olan türler ve antibiyotiklere direnç durumları konusunda kesin bilgilere ulaşmak mümkün değildir. Salmonellozun endemik olduğu Güney Doğu Anadolu Bölgesi başta olmak üzere birçok bölgeden bildirilen araştırma sonuçları ülkemizde özellikle *Salmonella typhi* dışındaki serotiplerde ampisilin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazol direncinin diğer antibiyotiklere oranla daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (3,5,11,16). Salmonelloz tedavisinde ilk seçenek olan bu üç antibiyotiğe direnç dışında, *S.enteritidis* ve *S.typhimurium* gibi bazı serotiplerde GSBL enzim üretiminin de gösterilmesi, özellikle çocukluk çağında ve sistemik infeksiyonların tedavisinde sorun yaşanabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın amacı Ege Bölgesinde izole edilen farklı *Salmonella* suşlarının tedavide kullanılacak antibiyotiklere direnç durumunu ve bu suşlarda GSBL enzim üretiminin sıklığını araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada 1996-1999 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteri-yoloji Laboratuvarlarında dışkı örneklerinden soyutlanan 41 *Salmonella* suşu incelenmiştir.

**Bakterilerin izolasyonu:** Dışkı örnekleri selenit F buyyon, EMB agar (Oxoid) ve SS agar (Oxoid) ekilmiş, besiyerleri 35°C'de aerop koşullarda 18 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra kuşku koloniler biyokimyasal incelemeye alınmış ve API-ID32E (Bio-Mérieux) identifikasyon kitleri ile tanımlanmıştır. *Salmonella* olarak tanımlanan bakterilerin serotiplendirmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Enterobakteri Laboratuvarında özgül antiserumlar kullanılarak yapılmıştır.

**Antibiyotiklere direncin aranması:** Antibiyotiklere direncin saptanmasında NCCLS'in önerilerine uyularak Mueller-Hinton agarda (Oxoid) disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (15). Standart antibiyotik diskleri (Oxoid) kullanılarak ampisilin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol, amoksisilin-klavulanat, sefoksitin, seftazidim, seftiakson, imipenem, siprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasin direnci araştırılmıştır. Orta duyarlı izolatlar dirençli olarak kabul edilmiştir.

**GSBL aranması:** Bakterilerde GSBL üretimi çift disk sinerji yöntemi ile incelenmiştir (1). Bu amaçla Mueller-Hinton agara McFarland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan yüzeyel ekimler yapılmış ve besiyerinin merkezine amoksisilin-klavulanat diski ve çevresine de disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim diski yerleştirilmiştir. Besiyerleri 35°C'de 18 saat inkübe edildikten sonra, seftazidim diskinin amoksisilin-klavulanat diskine bakan tarafında inhibisyon zon çapında genişleme olması GSBL aktivitesi olarak değerlendirilmiştir. Zon çaplarının diskler arasındaki sinerji belirlenemeyecek kadar dar olduğu durumlarda, diskler arasındaki uzaklık 20 mm'ye indirilerek test tekrar edilmiştir.

**İstatistiksel değerlendirme:** Elde edilen veriler bilgisayarda SPSS programında değerlendirilmiş, analizlerde Fisher'in kesin ki kare testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

İncelenen 41 *Salmonella* suşunun 23'ü (% 56) *S.enteritidis*, 13'ü (% 32) *S.typhimurium*, ikisi (% 5) *S.hadar*, biri (% 2) *S.typhi*, biri (% 2) *S.cholerasuis* ve biri (% 2) *S.paratyphi A* olarak tanımlanmıştır.

Toplam 41 suşun antibiyotiklere direnç oranları ampisiline % 54, kloramfenikole % 41, seftazidime % 27, seftriaksona % 24, amoksisilin-klavulanata % 15, trimetoprim-sulfametoksazole % 5, imipeneme % 2 olarak belirlenmiştir. İncelenen suşların tümü siprofloksasin, levofloksasin ve sefoksitine duyarlı bulunmuştur. İzole edilen bir *S.typhi* suşu, test edilen bütün antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. İmipeneme direnç ise sadece bir *S.typhimurium* suşunda saptanmıştır.

Araştırmada incelenen *S.typhimurium* ve *S.enteritidis* serotipleri dışındaki serotipler az sayıda olduğundan, serotipler ile antibiyotiklere direnç sıklığı yalnızca *S.typhimurium* ve *S.enteritidis* arasında araştırılmıştır. Bu iki serotip arasında amoksisilin-klavulanat, ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol ve imipeneme direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ancak *S.typhimurium* suşlarında kloramfenikol, seftazidim ve seftriakson direnci *S.enteritidis* suşlarına oranla daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo ).

Tablo. Salmonella suşlarında antibiyotiklere direnç oranları.\*\*\*

Antibiyotik	S.enteritidis (n: 23)				S.typhimurium (n: 13)			
	Duyarlı		Dirençli		Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
AMC	20	87	3	13	10	77	3	23
AMP	13	57	10	43	3	23	10	77
IMP	23	100	0	0	12	92	1	8
SXT	22	96	1	4	13	100	0	0
C	16	70	7	30	4	31	9	69
CRO	20	87	3	13	6	46	7	54
CAZ	20	87	3	13	5	38	8	62

\* AMC: Amoksisilin-klavulanat, AMP: Ampisilin, IMP: İmipenem, SXT: Sulfametoksazol-trimetoprim, C: Kloramfenikol, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim.

\*\* Suşların tümü sefoksitin, siprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasine duyarlı bulunmuştur.

İncelenen 41 suşun dördünde (% 10) GSBL üretimi saptanmıştır. GSBL üreten suşların biri *S.enteritidis* (23 suştan 1'i, % 4) üçü *S.typhimurium* (13 suştan 3'ü, % 23) olarak belirlenmiştir.

*S.typhimurium* suşlarında GSBL üretimi daha yüksek oranda bulunsa da, suş sayısının azlığı nedeniyle, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). GSBL üreten suşlar sefoksitin dışında test edilen sefalosporinlere dirençli bulunmuştur. GSBL ürettiği saptanan *S.typhimurium* suşlarından biri aynı zamanda imipeneme de direnç göstermiştir.

## TARTIŞMA

Türkiye'de endemik bir hastalık olan salmonelloz önemli bir halk sağlığı sorunudur. Yeterli bildirim yapılmaması ve ulusal bir referans merkezinin bulunmaması nedeni ile infeksiyonun epidemiyolojisine ait sağlıklı veriler elde edilememektedir. Ülkemizde etken olan *Salmonella* serotiplerini belirlemek için yapılan araştırmalar, Türkiye'de en yaygın serotiplerin *S.typhimurium* (% 48) ve *S.enteritidis* (% 41) olduğunu göstermektedir (6). Bu araştırmada da etken olarak belirlenen ilk iki serotip *S.enteritidis* (% 56) ve *S.typhimurium*'dur (% 32).

*S.typhi* dışındaki *Salmonella* serotiplerinde antibiyotiklere direnç dünya çapında artış göstermektedir. Bu sorunun en önemli nedeni ateşli olguların ampirik tedavisinde antibiyotiklerin yaygın kullanımı ve hayvanlarda antibiyotiklerin büyüme faktörü olarak subterapötik dozlarda uygulanmasıdır (12,21). Afrika, Asya ve Güney Amerika'da tedavide ilk seçenek ilaçlardan olan ampisilin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazole % 50'nin üzerinde direnç oranları bildirilmiştir (12). Ülkemizde değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda serotiplere göre antibiyotik direnç oranlarında farklılıklar gözlenmiştir (3,5,11,16). *S.typhi* dışındaki *Salmonella* serotiplerinde ampisilin direnci % 51-100, kloramfenikol direnci % 5-68, trimetoprim-sulfametoksazol direnci % 9-50 ve amoksisilin klavulanat direnci % 47-50 olarak bildirilmiştir (3,5,11,16). Bu çalışmada ampisiline % 54, kloramfenikole % 41, trimetoprim-sulfametoksazole % 5, amoksisilin-klavulanata % 15 oranlarında direnç saptanmıştır. Ampisilin ve kloramfenikol direncinin yüksek oranlarda görülmesi, tedavide üçüncü kuşak sefalosporinlerin ve kinolonların kullanımını ön plana çıkarmaktadır. Ülkemizde *S.typhi* dışındaki *Salmonella* serotiplerinde üçüncü kuşak sefalosporinlere % 9-61'e varan değişik direnç oranları gösterilmiştir (3,5,10,11). Bu çalışmada da seftazidime % 27, seftriaksona % 24 oranlarında direnç saptanmıştır. Üçüncü kuşak sefalosporin direncinin plazmid kaynaklı geniş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesine bağlı olduğu ve bakteriler arasında geçiş gösterebildiği bildirilmektedir (2,12,19,20). Son yıllarda karbapenemlere dirençli suşlar da bildirilmiştir (4). Bu çalışmada da üçüncü kuşak sefalosporin direnci olan suşlarda GSBL enzim aktivitesi ve bu suşlardan birinde imipeneme direnç olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde bu antibiyotiklerin rasyonel olmayan yaygın kullanımı dirençli suşların daha da artmasına neden olacaktır.

Türlere göre antibiyotik direnç oranı karşılaştırıldığında, *S.typhimurium* suşlarında kloramfenikol ve üçüncü kuşak sefalosporin direnci *S.enteritidis*'e oranla daha yüksek bulunmuştur (Tablo ). Bu sonuçlar farklı bölgelerden bildirilen araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (5,16). Çoklu antibiyotiğe dirençli *S.typhimurium* suşları ülkemizde olduğu gibi İngiltere, Fransa gibi Avrupa ülkeleri dahil olmak üzere birçok ülkeden önemli bir sağlık sorunu olarak bildirilmektedir (12,13,17,23). Ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sulfonamid ve tetrasikline dirençli *S.typhimurium* faj tip 104 (DT 104) olarak bilinen suşun İngiltere'de insanlardan en sık izole edilen ikinci kuş olduğu bildirilmektedir (12). ABD'de beş antibiyotiğe birden direnç gösteren *S.typhimurium* DT104 suşunun, 1979-1980 yıllarında % 1 sıklıkta iken, 1996 yılında % 34 sıklığa ulaştığı bildirilmiştir (12). Ülkemizde bu faj tipine ait verilere ulaşamadık. *S.typhi* suşlarında ise çoklu antibiyotik direnci kavramı ampisilin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazol direncini ifade etmektedir. İlk kez 1989 yılında tanımlanan bu direnç paternini taşıyan *S.typhi* suşları gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada zaman zaman salgınlara yol açmaktadır. Türkiye'de etken olan *S.typhi* suşları üzerinde yapılan çalışmalarda tek antibiyotik direnci ile ilgili veriler bildirildiğinden, üçlü direnç paterninin sıklığına ait bilgiler elde edilememiştir. Bu çalışmada incelenen tek suş ise test edilen bütün antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Enterik ateşin endemik olduğu Diyarbakır yöresinden bildirilen iki ayrı çalışmada incelenen *S.typhi* suşlarında kloramfenikole direnç saptanmazken ampisiline % 8-15, trimetoprim-sulfametoksazole % 21 direnç bildirilmiştir (7,9).

*Salmonella* suşlarında görülen çoklu antibiyotik direnci tedavide kinolonları ilk seçenek konumuna taşımaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de kinolon direnci diğer antibiyotiklere oranla çok düşük düzeydedir. Ancak kinolonların yaygın kullanımı ve veteriner hekimlikte de kullanıma girmesi ile kinolona dirençli suşlar bildirilmeye başlamıştır (13,14,18,22). İngiltere'de enrofloksasinin 1993 yılında veteriner hekimlikte kullanıma girmesinden sonra *Salmonella* suşlarında kinolon direncinin üç yıl içinde % 0'dan

% 14'e çıktığı bildirilmiştir (8). Bu çalışmada incelenen suşların tümü kinolonlara duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak bölgemizde etken olan *Salmonella* suşlarında çoklu antibiyotik direncinin tehdit edici boyutlarda olmadığı, ancak üçüncü kuşak sefalosporin direncinin yüksek bulunması nedeni ile sistemik infeksiyonların tedavisinde sorun yaşanabileceği ve tedaviye kinolonların iyi birer alternatif olabileceği düşünülmüştür.

#### KAYNAKLAR

- 1- Bal Ç:  $\beta$ -laktamaz testleri ve rutinde kullanımları, "Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı" kitabında s. 101, Turgut Yayıncılık Tic. A.Ş., İstanbul (1998).
- 2- Blahova J, Lesicka HM, Kralikova, K, Krcmery V, Krcmeryova T, Kubonova K: Further occurrence of extended spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella* enteritidis, *J Chemother* 10: 291 (1998).
- 3- Büke AÇ, Karakartal G, Tünger A, Kamçıoğlu S, Nafile B: 1996-1998 yılları yaz dönemindeki ishallerde *Salmonella* ve *Shigella* prevalansı ve antimikrobik duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 13: 355 (1999).
- 4- Digranes A, Solberg CO, Sjursen H, Skovlund E, Sander J: Antibiotic susceptibility of blood culture isolates of Enterobacteriaceae from six Norwegian hospitals 1991-1992, *APMIS* 105: 854 (1997).
- 5- Dinçer N, Öner YA, Büget E, Anđ Ö: Değişik gruplardan 80 adet *Salmonella* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 25: 37 (1995).
- 6- Erdem B: 1995-1997 yıllarında serotiplendirilen *Salmonella*'lar, *İnfeksiyon Derg* 12: 313 (1998).
- 7- Ersan S, Ersan G, Güriz H: Diyarbakır yöresinde bir yıl içinde saptanan 88 enterik ateş olgusunun irdelenmesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 29: 69 (1999).
- 8- Frost JA, Kelleher A, Rowe B: Increasing ciprofloxacin resistance in *Salmonellas* in England and Wales 1991-1994, *J Antimicrob Chemother* 37: 85 (1996).
- 9- Hoşoğlu S, Ayaz C, Geyik MF, Özen A, Kökoğlu ÖF: *Salmonella typhi* suşlarında antibiyotik duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg* 12: 187 (1998).
- 10- Kapuağası A, Kapuağası A, Türkyılmaz R, Apaydın N: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Salmonella* suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 13: 12 (1999).
- 11- Kılıç D, Arslan H, Kurt H, Balık İ, Meço O: *Salmonella* grubu bakterilerin in vitro antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, *İnfeksiyon Derg* 12: 191 (1998).
- 12- Miller SI, Pegues DA: *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*, "GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5. baskı" kitabında s. 2344, Churchill Livingstone, Pennsylvania (2000).
- 13- Molbak K, Baggesen DL, Aarestrup FM, Ebbesen JM, Engberg J, Frydendahl K, Gerner-Smith P, Petersen AM, Wegener HC: An outbreak of multiresistant, quinolone resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104, *N Engl J Med* 341: 1420 (1999).
- 14- Murdoch DA, Banatvala NA, Bone A, Shoismatulloev BI, Ward LR, Threlfall EJ: Epidemic ciprofloxacin resistant *Salmonella typhi* in Tajikistan, *Lancet* 351: 339 (1998).
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Ninth Informational Supplement, M2-A6, NCCLS, Wayne, Pa (1999).

- 16- Otkun MT, Özkan E, Öztürk D, Dünder V, Tuğrul M: 1995-1997 yıllarında dışkıdan izole edilen Salmonella serotiplerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 12: 181 (1998).
- 17- Poirel L, Guibert M, Bellais S, Naas T, Nordmann P: Integron and carbenicillinase mediated reduced susceptibility to amoxicillin clavulanic acid in isolates of multidrug resistant Salmonella enterica serotype typhimurium DT104 from French patients, *Antimicrob Agents Chemother* 43: 1098 (1999).
- 18- Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ: Ciprofloxacin resistant Salmonella typhi in the UK, *Lancet* 346: 1302 (1995).
- 19- Shannon K, French G: Multiple antibiotic resistant Salmonella, *Lancet* 352: 490 (1998).
- 20- Vahaboğlu H, Dodanlı S, Eroğlu C, Öztürk R, Söyletir G, Yıldırım İ, Avkan V: Characterization of multiple antibiotic resistant Salmonella typhimurium strains: Molecular epidemiology of PER-1 producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone, *J Clin Microbiol* 34: 2942 (1996).
- 21- Van den Bogaard AE, Stobberingh EE: Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health, *Drugs* 58: 589 (1999).
- 22- Wain J, Hoa NTT, Chinh NT, Vinh H, Everett MJ, Diep TS, Day NPJ, Solomon T, White NJ, Piddock LJV, Parry CM: Quinolone resistant Salmonella typhi in Viet Nam. Molecular basis of resistance and clinical response to treatment, *Clin Infect Dis* 25: 1404 (1997).
- 23- Yıldırım T, Yazgan A, Özcengiz G: Multiple drug resistance patterns and plasmid profiles of non-typhi Salmonellae in Turkey, *Epidemiol Infect* 121: 303 (1998).