

SALMONELLA TYPHIMURIUM İZOLATLARININ ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİKLERE İN VİTRO DİRENCİ*

IN VITRO ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF SALMONELLA TYPHIMURIUM ISOLATES

Pınar ZARAKOLU**, Nilgün KARABIÇAK**
Özgür ÖNCÜL**, Engin GÜVENER**

Özet: 1993-1994 yıllarında dışkı (77 adet) ve kan (10 adet) kültürü izolatları olan *Salmonella typhimurium* suşlarının çeşitli antimikrobiklere direnç durumu in vitro olarak mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Mikrodilüsyon yönteminde NCCLS standard M7-A2 önerilerine uyularak MİK50, MİK90 değerleri, direnç yüzdeleri saptanmıştır. Ampisilin, sefalotin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametaksazole (TMP-SXT) dirençli; sefoksitin, seftriakson, imipenem, siprofloksasin, ofloksasine duyarlı olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Salmonella typhimurium*, antibiyotik direnci.

Summary: In this study, the in vitro antimicrobial resistance of *Salmonella typhimurium* strains isolated from stool (77) and blood (10) cultures in 1993-1994 was investigated. The antimicrobial susceptibility test method was microdilution and done according to the recommendations of NCCLS M7-A2 1990 standard, the MIC50 and MIC90 values and percentages of resistance were determined. They were resistant to ampicillin, cephalothin, chloramphenicol and trimethoprim + sulfamethoxazole and susceptible to cefoxitin, ceftriaxone, imipenem, ciprofloxacin, ofloxacin.

Key words: *Salmonella typhimurium*, antibiotic resistance.

G İ R İ Ş

Salmonella infeksiyonları, tüm dünyada görülmekle birlikte daha çok sosyo-ekonomik seviyesi düşük, sağlık koşulları yetersiz ülkelerde çoğunlukla sporadik, zaman zaman küçük epidemiler yapan infeksiyonlardır¹.

* V. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde sunulmuştur. (4-6 Eylül 1995, İstanbul)

** Refik Saydam Hızlısıhha Merkezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara.

İlk kez 1958 yılında Huey ve Edwards'ın tetrasikline dirençli *Salmonella typhimurium*'u tanımlaması ile *Salmonella*'larda antibiyotik direnci bildirilmiştir, 1967 ve 1975 yılları arasında *Salmonella typhi* dışı suşlarda çoklu antibiyotik direnci tanımlanmıştır². O yıllardan günümüze, yurt içinde ve dışında bu konuyla ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır²⁻⁶.

Bu çalışmada, 87 adet *S.typhimurium* suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle çeşitli antimikrobiklere direncini in vitro olarak değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

1993-1994 yıllarında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli hastanelerden ulaşan 77 adet dışkı ve 10 adet kan materyalinden izole edilmiş 87 adet *S.typhimurium* suşu standart yöntemlerle idantifiye edilerek NCCLS protokolünün (Approved Standard M7-A2 1990) önerdiği mikrodilüsyon yöntemiyle minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) değerleri saptanmıştır. Besiyeri olarak Mueller Hinton Broth (MHB) kullanılmıştır. Antibiyotikler Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğünden hammadde olarak toz halde, potens değerleri ile birlikte elde edilmiştir. Stok solüsyonu 1280 µg/ml antibiyotik içerecek şekilde hazırlanıp, -70°C'de bir ay saklanmıştır. Test günü MHB ile dilüe edilerek aynı günde kullanılmıştır. İnokulum taze kültürden hazırlanıp, inkübasyon sonrası Mac Farland 0.5'e ayarlanmış, dilüsyon sonrası 1×10^6 cfu/ml'ye ulaşılmıştır.

Mikropleytlerin hazırlanmasında, steril U tabanlı mikropleytlar kullanılmıştır. 50 µl'lik pipetle, tüm çukurlara MHB konulduktan sonra, her sıranın ilk çukuruna 50 µl antibiyotik stok solüsyonunun 4/5 oranında dilüe edilmiş solüsyonu konulmuş, ilk çukur 1024 µg/ml olup, iki katı dilüsyonları yapılmıştır. İnokulum ilavesi ile antibiyotik konsantrasyonları 256-0.125 arası ayarlanmıştır. İnokulum son konsantrasyonu 5×10^5 cfu/ml'dir. Bu mikropleytlar 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir⁷. Gözle görülebilir şekilde organizmanın üremesini engelleyen en düşük konsantrasyon MIK değeri olarak kabul edilmiştir. MIK50 değeri, incelenen bakteri popülasyonunun % 50'sini inhibe eden, MIK90 değeri ise % 90'ını inhibe eden konsantrasyon değerleridir. Standart antimikrobiğin MIK değeri incelenmekte olan antimikrobiğin MIK değeri ile karşılaştırılarak antimikrobiğin bu suş üzerindeki etkinliği hakkında yargıya varılmaktadır⁸.

NCCLS'in önerdiği breakpoint değerleri kullanılmıştır. Duyarlı ve orta derecede duyarlı suşlar birlikte değerlendirilmiştir. Kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

B U L G U L A R

87 adet *S.typhimurium* suşunun çeşitli antibiyotiklere direnç durumunun araştırıldığı çalışmada MIK50, MIK90 değerleri ve direnç yüzdeleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1
S.typhimurium İzolatlarının Çeşitli Antimikrobiklere Direnç Durumu

S.typhimurium, suş sayısı = 87				
	Sınırlar (µg/ml)	MIK50 (µg/ml)	MIK90 (µg/ml)	Direnç yüzdesi (%)
Ampisilin	> 256-0.125	256	>256	56
Sefalotin	> 256-0.125	64	>256	57
Sefoksitin	> 256-0.125	2	16	6
Seftriakson	> 256-0.125	16	256	24
Kloramfenikol	> 256-0.125	> 256	> 256	100
İmipenem	4-0.125	< 0.125	0.5	0
TMP-SXT	> 256-0.125	32	256	90
Siprofloksasin	2-0.125	< 0.125	< 0.125	0
Ofloksasin	4-0.125	< 0.125	0.250	0

T A R T I Ş M A

Salmonella paratifo infeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmekle birlikte özellikle ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık problemlerinden birini oluşturmaktadır. Sıklıkla gastroenterit formunda seyreden bu infeksiyonlarda, Türkiye genelinde en sık izole edilen suş S.typhimurium'dur¹. Barsak dışı yerleşme özelliği, yenidoğan infeksiyonlarındaki önemi ve çoklu antibiyotik direnci nedeniyle tifo dışı Salmonelloz etkenleri içinde S.typhimurium'un özel bir önemi vardır^{2,4-6}.

Çalışmamızda S.typhimurium suşlarının klasik tedavi ajanlarından kloramfenikol, trimetoprim-sülfametaksazol (TMP-SXT) ve ampisiline dirençli olduğu saptanmıştır. Salmonellozlarda tedavi amacıyla kullanılan kemoterapötiklere karşı hızla direnç geliştiği gözlenmektedir. Bu durum insan ve hayvanlarda yaygın olarak antimikrobiyal ajanların kullanımına bağlanmaktadır. İn vitro iki veya daha fazla antibiyotiğe dirençli suşlar çoklu dirençli olarak tanımlanmaktadır². Çalışmamızda 87 adet S.typhimurium izolatının 52'si (% 60) kloramfenikol, ampisilin ve TMP-SXT'e dirençli bulunmuştur. Özenci ve arkadaşları 1989 yılında yaptıkları çalışmada % 100⁹, Sümerkan ve arkadaşları 1992 yılında % 60¹⁰, Malorini ve arkadaşları 1993 yılında % 27² oranında çoklu dirençli S.typhimurium suşları bildirmişlerdir. S.typhimurium suşlarındaki bu çoklu antibiyotik direnci ampisilin, kloramfenikol ve sülfonamidlerde R plazmidlerine bağlanmaktadır¹¹.

Çalışmamızda S.typhimurium suşları ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı, birinci kuşağa dirençli bulunmuştur. Sefalotine % 57, sefoksitine % 8, seftriaksona % 24 oranında direnç saptanmıştır. Ülkemizde üçüncü kuşak sefalosporine direnç oranı % 10-40 olarak bildirilmektedir. Yurtiçi ve dışındaki pek çok çalışmayla uyumlu olarak çalışmamızda da imipenem, siprofloksasin ve ofloksasine dirençli suş saptanmıştır^{3,11-13}.

Sonuç olarak komplike olmayan Salmonella gastroenteritlerinde antimikrobiyal tedavi önerilmemekte, hastaneye yatacak kadar ağır seyreden olgularda, enterik ateş, bakteriyemi, metastatik piyojenik infeksiyon durumlarında antibiyotik tedavisi gerekmektedir. Bu durumda etkenin izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi, özellikle çoklu dirence sahip suşlarda tedavide zorunlu olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Töreci K, Anđ Ö: Türkiye'de saptanmış olan Salmonella serovarları ve Salmonellozların genel değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1991, 21(1): 1-18.
2. Maiorini E, Lopez EL, Morrow AL, et al: Multiply resistant nontyphoidal Salmonella gastroenteritis in children. Pediatr Infect Dis J 1993, 12: 139-144.
3. Vanhoof R, Hubrechts JM, Roebben E, et al: The comparative activity of Pefloxacin, Enoxacin, Ciprofloxacin and 13 other antimicrobial agents against enteropathogenic microorganisms. Infection 1986, 14: 294-298.
4. Lamb VA, Mayball CG, Spadora AC, et al: Outbreak of Salmonella typhimurium gastroenteritis due to an imported strain resistant to Ampicillin, Chloramphenicol, and Trimethoprim-Sulfamethoxazole in a nursery. J of Clin Microbiol 1984, 20: 1076-1079.
5. Gedikođlu S, Göral G, Helvacı S, Kılıçtırgay K. Salmonella typhimurium infeksiyonlarının Bursa yöresindeki durumu. Mikrobiyol Bült 1990, 24: 95-102.
6. Ulutan F, Sultan N, Davutođlu E, Usta D: Salmonella typhimurium ile meydana gelen toplu besin zehirlenmesi. Mikrobiyol Bült 1988, 22: 95-100.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standart M7-A2. NCCL, Villanova, PA, 1990.
8. Tilton RC, Howard BC: Antimicrobial susceptibility testing. p. 121-153. In Carson D (ed), Clinical and Pathogenic Microbiology, 1987. The C.V. Mosby Company. St Louis. Washington DC. Toronto.
9. Özenci H, Aksoycan N ve ark.: Hastane infeksiyonuna neden olan S.typhimurium suşlarında infeksiyon kaynağı ve antibiyotiklere direnç durumlarının incelenmesi. Ankem Derg 1989, 2: 175.
10. Sümerkan B, İnan M, Çađlayangil A: Klinik örneklerden izole edilen Salmonellaların in vitro antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bült 1994, 28: 21-26.
11. Wilke A, Altay G, Erdem B: Salmonella cinsi bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. Mikrobiyol Bült 1988, 22: 17-24.
12. Usluer G, Başbüyük N ve ark.: Hastane veya hastane dışı infeksiyonlara neden olan bazı gram negatif bakterilerin çeşitli antimikrobiklere duyarlılıkları. Mikrobiyol Bült 1993, 27: 221-227.
13. Baykan M, Baysal B ve ark.: Salmonella paratyphi B suşlarının çeşitli antimikrobiklere duyarlılıkları. Ankem Derg 1992, 6: 161.