

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Shigella Türlerinde Antimikrobiyal Direnç Değişimi: Sekiz Yıllık İzlem

Antimicrobial Resistance in Shigella Species: Eight Year Follow-Up

İhsan Hakkı Çiftçi, Orhan Cem Aktepe, Mustafa Altındış,
Zafer Çetinkaya, Gülşah Aşık, Kübra Çalışkan

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Afyonkarahisar

ÖZET

Amaç: Şigelloz gelişmekte olan ülkelerde gençler ve yaşlılarda önemli bir sağlık problemidir. Antimikrobik dirençteki global değişim nedeniyle bu etkenlerin direnç eğilimlerinin izlenmesi önemlidir. Bu çalışmada, ilaç direncindeki artış nedeniyle Afyon bölgesinde izole edilen *Shigella* izolatlarının dağılımı ve direnç durumunun ortaya konması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 2002-2009 yılları arasında toplanan *Shigella* suşlarının dağılımı ve antimikrobiyal direnci analiz edilmiştir.

Bulgular: En yaygın tür *Shigella flexneri* (%48.7) olup onu *Shigella dysenteriae* (%26) takip etmiştir. *Shigella* suşlarının 93'ünde (%63.7) çoklu direnç saptanmıştır. Ampisilin için yüksek direnç (%63.7) bulunmuş onu trimetoprim-sulfametoksazol (%23.3) ve tetrasiklin (%12.3) takip etmiştir.

Sonuç: Yöremizde yaygın kullanılan ilaçlara direnç göreceli olarak düşük olmakla beraber çoklu direnç oranının yüksek bulunması ciddi bir problem olarak algılanmalıdır. Şigelloz şüpheli vakaların tedavisinde uygun empirik antimikrobik ilaçların seçimi için direnç patenlerinin izlenmesi gereklidir.

Anahtar Kelimeler: *Shigella*, antimikrobik direnç

SUMMARY

Objective: Shigellosis is a major health problem in developing countries, especially in children and elderly. Surveillance of antimicrobial resistance trends is essential owing to the global change of antimicrobial resistance in such isolates. Due to the increasing trends in drug resistance, this study was aimed to monitor local resistance patterns and distribution of *Shigella* isolates in Afyonkarahisar, Turkey.

Material and Methods: In this study, *Shigella* isolates collected from 2002 to 2009 were analyzed in terms of species distribution and antimicrobial susceptibility.

Results: The most common species of *Shigella* isolates was *Shigella flexneri* (48.7%), followed by *Shigella dysenteriae* (26%). Multidrug-resistance pattern was observed in 93 *Shigella* isolates (63.7%). The highest rate of resistance was detected against ampicillin (63.7%), followed by trimethoprim-sulfamethoxazole (23.3%) and tetracycline (12.3%).

Conclusion: The data showed that resistance to commonly-used drugs was relatively low among *Shigella* isolates in our region. However, high rates of multidrug-resistant *Shigella* deserves attention. Continuous monitorization of resistance is necessary for the choice of appropriate empirical antimicrobial drugs in the therapy of suspected cases of shigellosis.

Key Words: *Shigella*, antimicrobial resistance

GİRİŞ

Gastroenteritler ve ishal gelişmekte olan ülkelerde, mortalite ve morbiditenin temel nedenleri arasında gösterilmektedir (1). Bu kapsamda yer alan şigeloz, fekal oral geçişli ve beyin ödemi ve keratit gibi ciddi komplikasyonlarla seyredilen bir hastalıktır (2,3). Epidemiyolojik veriler ışığında dünyada her yıl yaklaşık olarak 140 milyon şigeloz vakasının görüldüğü ve bunların 600 000 kadarının da ölümcül seyrettiği tahmin edilmektedir (4). Özellikle Asya ve Afrika gibi hastalığın endemik olarak görüldüğü bölgelerde yapılan çalışmalarda, tedavide sıklıkla kullanılan ampisilin, trimethoprim-sulfametoksazol ve nalidiksik asit gibi değişik antibiyotiklere karşı çoklu direncin arttığı gösterilmiştir (5,6).

Akut gastroenteritlerde şigeloz en sık görülen etken olmamakla birlikte, gastrointestinal enfeksiyonlardan sorumlu bakteriyel patojenler arasında bölgemizde de önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada; özellikle yaz aylarında sıklıkla izole edilen *Shigella* türlerinin sekiz yıllık dağılımı ve çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, 2002-2009 tarihleri arasında tüm yaş gruplarından ve değişik kliniklerden Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 4183 dışkı örneği incelenmiştir. Laboratuvara gelen örnekler bekletilmeden eozin metilen blue (EMB) ve salmonella shigella (SS) agara ekilmiştir. Bunun yanı sıra örnekler selenit F sıvı besiyeri ile zenginleştirilerek izolasyon şansı artırılmıştır. Besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben değerlendirilmiş ve rutin mikrobiyolojik yöntemler yardımıyla işleme alınmıştır. Besiyerlerindeki

şeffaf, laktoz negatif koloniler konvansiyonel yöntemlerle *Shigella* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen ve biyokimyasal parametrelere göre tanımlanan suşlar Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nde tür spesifik anti-serumları kullanılarak lam aglütinasyon yöntemi ile tiplendirilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemi ile yapılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Besiyeri olarak müller-hinton agar (Oxoid, UK) kullanılırken antibiyotik duyarlılık testlerinde ampisilin (AMP), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), kloramfenikol (C), tetrasiklin (TE) ve siprofloksasin (CIP) diskleri (Oxoid, UK) kullanılmıştır. Kalite kontrol amacıyla standart suş olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmış, istatistiksel çalışmalar SPSS for Windows V.13.0 istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda bakteriyel gastroenterit şüphesiyle laboratuvarımıza gönderilen 4183 gaita örneğinde *Shigella* türleri için izolasyon oranı %3.5 (146 örnek) olarak saptandı. *Shigella* suşları arasında en sık rastlanan tür %48.6 (71 suş) oranında *S. flexneri* iken bunu %26 (38 suş) oranında *S. dysenteriae*, %18.5 (27 suş) oranında *S. boydii* ve %6.8 (10 suş) oranında *S. sonnei* takip etti. Türlerin yıllara göre dağılımları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tüm suşların antibiyotik dirençleri değerlendirildiğinde; %63.7'sinin (93 suş) en az bir antibiyotiğe, %21.9'unun (32 suş) iki antibiyotiğe, %13'ünün (19 suş) üç antibiyotiğe ve %2.1'inin de (3 suş) dört antibiyotiğe dirençli olduğu saptandı. *Shigella* suşlarının antimikrobiyal ajanlara direnç paternleri incelendiğinde; AMP'e direncin %63.7 (93 suş) oranıyla en yüksek oldu-

Tablo 1. İzole edilen türlerin yıllara göre dağılımı

Türler	Yıllar								Toplam	
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	n	%
<i>S. flexneri</i>	21	15	9	6	7	7	4	2	71	48.7
<i>S. dysenteria</i>	2	5	16	5	5	2	1	2	38	26.0
<i>S. boydii</i>	2	-	3	8	5	3	3	3	27	18.5
<i>S. sonnei</i>	3	1	1	1	-	3	1	-	10	6.8
Toplam	28	21	29	20	17	15	9	7	146	100

ğu, bunu azalan oranlarla SXT %23.3 (34 suş), TE %12.3 (18 suş), C %8.9 (13 suş) ve CIP'in % 4 (6 suş) takip ettiği gözlemlendi. *Shigella* türleri için elde edilen antimikrobiyal ajanlara direnç oranlarının dağılımları Tablo 2'de özetlendi.

Çalışmamızda 2004 yılında bir salgın sonucu meydana geldiği düşünülen *S. dysenteria* suşlarının sayısındaki artış ile paralel olarak direnç paternlerinde değişimler gözlemlendi. Aynı dönemde ilk kez CIP direnci taşıyan bir *S. sonnei* suşu izole edildi. İzolatların antibiyotik dirençlerinin yıllara göre dağılımı Tablo 3' de özetlendi.

Tablo 2. Antibiyotik direncinin türlere göre dağılımı

Antibiyotikler	<i>S. flexneri</i> (71)		<i>S. dysenteria</i> (38)		<i>S. boydii</i> (27)		<i>S. sonnei</i> (10)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AMP (93)	47	66	24	63	17	63	5	50
SXT (34)	22	31	5	13	3	11	4	40
TE (18)	15	21	1	3	1	4	1	10
C (13)	7	10	4	11	2	7	-	-
CIP (6)	3	4	-	-	2	7	1	10

Tablo 3. Antibiyotik direncinin yıllara göre değişimi

Yıllar (n)	AMP		SXT		TE		C		CIP	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2002 (28)	21	75	11	39	5	18	-	-	-	-
2003 (21)	15	71	6	29	5	24	4	27	-	-
2004 (29)	20	69	2	7	2	7	2	7	1	3
2005 (20)	14	70	5	25	3	15	2	10	2	10
2006 (17)	8	47	2	12	1	6	1	6	-	-
2007 (15)	5	33	6	40	2	13	1	7	1	7
2008 (9)	4	44	-	-	-	-	1	11	1	11
2009 (7)	6	86	2	29	-	-	2	28	1	14
Toplam (146)	93	63.7	34	23.3	18	12.3	13	8.9	6	4

Ancak 2006 yılından itibaren izolasyon oranlarında dikkat çekici bir azalma göze çarpmaktadır. Bu durumun otoritelerin sorunun varlığı hakkında bilgilendirilip su ve kanalizasyon şebekesinde iyileştirme yapımlarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Shigella suşlarının dağılımını bildiren çalışmalara bakıldığında, meydana gelen salgınlara ilişkili olarak farklı zamanlar için farklı sonuçlar elde edilebildiği görülmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda tür dağılımının *S. flexneri* için %24.8-70, *S. sonnei* için %21.0-75, *S. dysenteriae* için %13.0-32.1, *S. boydii* için %3.0-9 şeklinde olduğu görülmektedir (13-15). Nepal ve Etyopya gibi gelişmekte olan ülkelere ait *S. flexneri* oranları sırasıyla %67.5'i ve %54 olarak verilmektedir (16,17). Çalışmamızda türlerin dağılımı %48.6 *S. flexneri*, %26 *S. dysenteriae*, %18.5 *S. boydii* ve %6.8 *S. sonnei* şeklinde olmuştur. Ek olarak 2002, 2003 ve 2007 yıllarında *S. flexneri*'nin, 2004 yılında *S. dysenteriae*'nin en sık izole edilen tür olduğu, sonraki yıllarda *S. flexneri* ve *S. boydii* arasında bir denge olduğu izlenmektedir. Elde edilen veriler gelişme konusunda sıkıntılar yaşayan ülkelere oranla daha olumlu bir görüntü sergilemiş ve ülkemizde yapılan çalışmalarla benzeştiği gözlenmiştir.

Gastrointestinal enfeksiyonlardan sorumlu etkenler arasında önemli yer tutan *Shigella* türlerinde direnç hem dünyada hem de Türkiye'de giderek artmaktadır. Hatta Kore, Fransa ve Arjantin gibi pek çok ülkeden *Shigella* suşları ile ilgili farklı genotipik altyapıya sahip genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığı bildirilmiştir (18-20). Yapılan birçok çalışmada ampirik tedavide sık kullanılan antibiyotik çeşitlerine bağlı olarak enfeksiyon etkeni mikroorganizmaların ve dirençlerinin farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Dünya çapında elde edilen veriler

analiz edildiğinde, antibiyotik dirençlerindeki coğrafi farklılıkların ülkeler ve hatta ülkelerin değişik bölgelerindeki antibiyotik reçetesi yazma alışkanlıkları ile bağlantılı olabileceği ifade edilmektedir (21). Kuzucu ve arkadaşları (22) 103 *Shigella* suşu ile yaptıkları çalışmada SXT direncini %49.5, AMP direncini %47.5 olarak saptamışlardır. Aslan ve arkadaşları (23) *S. flexneri* suşlarında AMP'e %72.8, SXT'e %38.9; *S. sonnei* suşlarında AMP'e %8.3, SXT'e %69.4; *S. dysenteriae*'de AMP'e %33.3, SXT'e %50; *S. boydii*'de AMP'e %50, SXT'e %49.5 oranında direnç bildirmişlerdir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da *S. flexneri* suşları için %66 AMP ve %31 SXT direnci; *S. dysenteriae* suşları için %63 AMP ve %13 SXT direnci; *S. boydii* suşları için %63 AMP ve %11 SXT direnci ve *S. sonnei* suşları için de %50 AMP ve %40 SXT direnci saptanmıştır.

Çoklu direnç konusuna vurgu yapan Aysev ve arkadaşları (24) *Shigella* suşlarında TE, SXT, AMP, C, CIP, streptomisin (S), nalidiksik asid (NA), sefalotin (CF), ampicillin-sulbaktam (SAM) ve seftriakson (CXT) duyarlılığı araştırmış ve suşların % 56'sının en az üç antibiyotiğe dirençli olduğunu göstermiştir. Pullukçu ve arkadaşları (25) 439 *Shigella* suşunun 86'sının çoklu ilaç direncine sahip olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda en az bir antibiyotiğe dirençli suşların oranı %48.6 olarak saptanmıştır. Birden çok antibiyotiğe direnç gösteren suşlar incelendiğinde çalışmamızda %19.9 oranında iki antibiyotiğe, %12.3 oranında üç antibiyotiğe ve %1.4 oranında da dört antibiyotiğe direnç bulunmuştur. Ayrıca Tablo 3'deki veriler ışığında çoklu direncin her geçen yıl arttığı gözlenmiştir. Zira 2002 yılında sadece AMP, SXT ve TE'e dirençli suşlar izole edilirken; 2004 yılında bu panele C direnci de eklenmiştir. Çoklu direnç içeren suşlarda ilk kez 2004 yılında CIP di-

renci saptanmıştır. Çoklu direnç problemi açısından yapılan değerlendirmede; elde edilen verilerin ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda elde edilen verilerden daha düşük düzeyde olduğu gözlenmiş ve bu sonuçlar bölgemiz açısından olumlu bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *Shigella* suşlarında kinolonlar için %4-12 arasında direnç oranları bildirilmiştir (26). Çalışmamız verilerine göre bölgemizde ilk kez 2004 yılında saptanan ve toplamda 6 (%4) suшта görülen kinolon direnci ülkemiz ortalamasına yakındır.

Bölgemiz antibiyotik kullanım politikaları gereği ampirik tedavilerde yıllık verilere dayalı antibiyotik seçimleri sonucunda, eski yıllarda ilk seçenek olan SXT ve AMP'ne direncin yüksek olduğu görülmektedir. Son yıllarda enfeksiyonların tedavisinde kinolonların öncelikli seçenek olduğu düşünülecek olursa önümüzdeki dönemde kinolon direncinde bir artış gözlenebilir. Bu nedenle tedavi öncesi antibiyotik duyarlılık testleri yapılmalı, dirençli suşlar dikkatle takip edilmeli ve moleküler analizleri de içeren epidemiyolojik çalışmalarla enfeksiyon kaynakları tespit edilerek eradikasyon için gerekli planlamalar yapılmalıdır.

İletişim / Correspondence

İhsan Hakkı Çiftçi
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir Yolu 03100 Afyonkarahisar
Tel: 0505 274 7077
e-mail: ihciftci@hotmail.com

Kaynaklar

1. Jousilahti P, Madkur SM, Lambrechts T, Sherwin E. Diarrheal disease morbidity and home treatment practices in Egypt. *Public Health* 1997; 111:5-10.
2. Kunak B, Şenbil N, Memioğlu N, Yönel A. Brain edema during shigella infection. *Türkiye Klinikleri Pediatri* 1997; 6:181-3.
3. Karel F, Yalçın E, Karaaslan A, Tekeli A. Shigella keratitis. *Türkiye Klinikleri Oftalmoloji* 1997; 6:196-8.
4. World Health Organization. Diarrheal disease due to shigella disease. In: Vaccines, immunization and biologicals. Geneva: Bull World Health Organ, 1998:1-5.
5. Bennish ML, Salam MA, Hossain MA, Myaux J, Khan EH, Chakraborty J. Antimicrobial resistance to *Shigella* isolates in Bangladesh 1983-1990: increasing frequency of strains multiply resistant to ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and nalidixic acid. *Clin Infect Dis* 1992; 14:1055-60.
6. Bogaerts J, Verhaegen J, Munyabikali JP, Mukantabana B, Lemmens P, Vandeven J. Antimicrobial resistance and serotypes of *Shigella* isolates in Kigali, Rwanda (1983 to 1993): increasing frequency of multiple resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 28:165-71.
7. Huttly SR, Morris SS, Pisani V. Prevention of diarrhea in young children in developing countries. *Bull World Health Organ* 1997; 75:163-74.
8. Curtis V, Cairncross S, Yonli R. Domestic hygiene and diarrhea pinpointing the problem. *Trop Med Int Health* 2000; 5:22-32.
9. Ashkenazi S, May-Zahav M, Sulkes J, Zilberberg R, Samra Z. Increasing antimicrobial resistance of *Shigella* isolates in Israel during the period 1984 to 1992. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:819-23.
10. Suarez ME, Carvajal L, Culasso C, Paredes M. Antimicrobial resistance of *Shigella* species in Cordoba-Argentina, during the period 1990-1997. *Rev Panam Salud Publica* 2000; 7:113-7.
11. Öngen B. Causative agent of diarrhea in Turkey. *AN-KEM Derg* 2006; 20:122-34.
12. Orrett FA. Prevalence of *Shigella* serogroups and their antimicrobial resistance patterns in Southern Trinidad. *J Health Popul Nut* 2008; 26:456-62.
13. Önder EO, 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.

14. Aysev AD, Guriz H. Drug resistance of *Shigella* strains isolated in Ankara, Turkey, 1993-1996. Scand J Infect Dis 1998; 30:351-3.
15. Korten V, Mert A, Övünç K, Ceyhan M, Acar S, Ulas T. *Shigella* serotypes and drug resistance patterns of strains isolated in Etimesgut Turkey, in 1987. Mikrobiyol Bul 1988; 22:89-94.
16. Wilson G, Easow JM, Mukhopadhyay C, Shivananda PG. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Shigella* from patients with acute gastroenteritis in western Nepal. Indian J Med Res 2006; 123:145-50.
17. Asrat D. *Shigella* and *Salmonella* serogroups and their antibiotic susceptibility patterns in Ethiopia. East Mediterr Health J 2008;14:760-7.
18. Pai H, Choi E, Lee H, Hong J, Jacoby GA. Identification of CTX-M-14 extended spectrum-lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. J Clin Microbiol 2001; 39:3747-9.
19. Fortineau N, Naas T, Gaillot O, Nordmann P. SHV-type extended-spectrum -lactamase in a *Shigella flexneri* clinical isolate. J Antimicrob Chemother 2001; 47:685-8.
20. Andres P, Petroni A, Faccone D, et al. Extended-spectrum-lactamases in *Shigella flexneri* from Argentina: first report of TOHO-1 outside Japan. Int J Ant Agents 2005; 25:501-7.
21. Şenses Z, Baysallar M, Aydoğan H, Güçlü ÜA. Antimicrobial resistance of *Salmonella* and *Shigella* species isolated from blood and feces samples. Gülhane Tıp Derg 2007; 49:141-6.
22. Kuzucu Ç, Baktır E, Acar N. Antibiotic susceptibilities of *Salmonella* and *Shigella* strains isolated between 1998-1999. Türk Hij Den Biol Derg 2001; 58:11-4.
23. Aslan H, Kılıç D, Acar N, Kurt H, Tekeli E: Antimicrobial susceptibility for various antimicrobial agents of *Shigella* species. İnfek Derg 1998; 12:177-9.
24. Aysev AD, Güriz H. Drug resistance of *Shigella* strains isolated in Ankara Turkey, 1993-1996. Scand J Infect Dis 1998; 30:351-3.
25. Pullukçu H, Aydemir Ş, Sipahi OR, Yamazhan T, Tünger A. Species distribution and antibacterial resistance patterns of 439 *Shigella* species. Strains Isolated from Stool Cultures Between 1999-2006, ANKEM Derg 2007; 21:137-41.
26. Büke Ç, Karakartal G, Tünger A. *Salmonella* and *Shigella* prevalence, and their antimicrobial susceptibility in gastroenteritis events in 1996-1998 Summer season. İnfek Derg 1999; 13:355-7.