

GASTROENTERİTLİ OLGULARDAN İZOLE EDİLEN BAZI PATOJEN ESCHERİCHIA COLİ SEROTİPLERİ

SOME SEROTYPES OF PATHOGEN E. COLI ISOLATED FROM GASTROENTERITIDIS

Yusuf Özbal*

Mustafa Öztürk**

Meral Öner***

Özet : Gastroenteritli 300 çocuktan 16 patojen E. coli serotipleri (0111 : K58, 0128 : K67, 0119 : K69, 0124 : K72, ve 0126 : K71) izole edildi. Sık kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazanan Gram negatif bakterilerden gentamisin'e duyarlı olanların etken olduğu gastroenterit olgularında bu antibiyotiklere olumlu sonuç alındığı saptandı. Daha yoğun NaCl ihtiva eden ortamda, bakterilerin üremelerindeki azalmasına karşın antibiyotik direncinde değişiklik görülmedi.

Summary : Eighteen patogen E. coli serotypes (0111 : K58, 0128 : K67, 0119 : K69, 0124 : K72 and 0126 : K71) were isolated from 300 children with gastroenteritidis. It was found gentamycin was effective in the treatment of gastroenteritidis due to Gram negative bacteria most of which were resistant to the other antibiotics because of over use. Growth curve of bacteria was decreased in media which contained concentrated NaCl but no any differances observed on the sensitivity to antibiotics.

* K.Ü. Gov. Nes. Tıp. Fak. Mik. Bilim Dalı Öğr. Görevlisi, Kayseri

** K.Ü. Gov. Nes. Tıp Fak. Pediatri Bilim Dalı Öğr. Üyesi, Kayseri

*** K.Ü. Gov. Nes. Tıp. Fak. Pediatri Bilim Dalı Asistanı, Kayseri

GİRİŞ

Sanitasyon ve temizliğin yetersiz olduğu bölgelerde bağırsak enfeksiyonları büyük bir sağlık sorunudur. Çocukların ve ailelerinin çok yakındığı ve komplikasyonlarıyla en önemli çocuk ölüm sebeplerinden biridir. Karın ağrısı, bulantı, hafif ateş, ürperme gibi belirtileriyile özellenir. Enterobakterilerle meydana gelen spesifik gastroenteritin yanında, bir çok patojen ve potansiyel patojen bakterilerde spesifik olmayan vakaları oluştururlar. *Escherichia coli* (*E. coli*); çocuk gastroenteritlerine (özellikle *Jepenuma* yerleşince), safra yolları, üriner sistem, solunum yolları enfeksiyonlarına ve K.B.B.'za yerleşerek hastalık yapmaktadır. Ayrıca bakteri antijenleriyle allerji olaylarına bağlı olarak sürgünlerde olabilir. Enterobacteriaceae'nin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi bir problem olmaktadır. İlaçların uygunsuz alınması ve bu grup bakteriler, ilaç direncinin episomal faktör mekanizmasını kullanabilmesi nedeniyle bazı antibiyotiklere karşı dirençli suşları ortaya çıkmaktadır. Toplumumuzda bol antibiyotik kullanılmasına bağlı olarak antibiyotik tesirine maruz kalan bağırsak florasının çoğunluğunu meydana getiren bu bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci önemlidir.

E. coli'nin antijenik analizi **Kauffmann** (10) tarafından yapılmıştır. Lipopolisakkaritlerden oluşan termostabil hücre duvarı (O) antijenleri, kompleks özellikteki K antijenleri (L,A ve B) ve protein tabiatında H antijenleri vardır. (9)

Çocuk kliniğine müracaat eden gastroentritli çocuklardan rektal ekiviyonla alınan numunelerin bakteriyolojik, serolojik tetkikleri yapılmış ve izole edilen patojen *E. coli* serotiplerinin bazı özellikleriyle antibiyotiklere hassasiyetleri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

1. Bakteri suşları, Besiyerleri ve antibiyogramları :

Çalışmamızda, Gevher Nesibe Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Kliniği'ne Nisan - Kasım, 1978 tarihleri arasında müracaat eden gastroenteritli hastaların gaita kültürlerinden izole edilen suşlar kullanıldı. Gastroenterit teşhisi konulan 300 çocukdan, steril rektal ekiviyonla 0.1 ml absorbe edilerek alınan dışkı, 1 ml glukozlu buyyon içinde süspanse edildi ve vakit kaybetmeden laboratuvarımıza gönderildi. Katı besiyerlerinden % 5 kanlı jeloz (Blood agar base, Difco), Endo (Bac-

to endo agar, Difco) ve Saboruad besiyerleri kullanılarak azaltma metodu ile ekimleri yapıldı. Muayene maddelerinden ayrıca preparasyonlar hazırlanarak Gram boyası ile incelendi. Ekilmiş olan besiyerlerinden kanlı jeloz ve endo dökülmüş Petri kutuları 37°C lik etüvde 24 ve 48 saat bırakıldıktan sonra, Saboruad jelozu ihtiva eden Petri ler 22°C de bir hafta süre ile izlendi.

Antibiyogramlar DST (Oxoid DST agar base) plaklarında yapıldı. Elde edilen suşlar, 21 tip kemoterapötik ve antibiyotiklere (Penicillin 10U, oxacillin 1mcg, urfamycin 30 mcg, ampicillin 10 mcg, rifampicin 30 mcg, erytromycin 15 mcg, pristinamycin 10 mcg, lincomycin 2 mcg, chloramphenicol 30 mcg, tetracyclin 30 mcg, doxycycline 30 mcg, streptomycin 10 mcg, kanamycin 30 mcg, gentamycin 10 mcg, cefazolin 30 mcg, colistin 10 mcg, nalidixic mcg, nitrofurantion 300 mcg, aminosidin 30 mcg, carbenicillin 10 mcg, ve sulfamethaxozale 23.75 mcg + trimethoprin 1.25 mcg) hassasiyetleri disk metodu ile denendi.

2. Aglutinasyon testleri :

Patojen E. coli serotiplerinin identifikasyonunda lam aglutinasyon metodu uygulandı. Fosfat-tampon-tuz (FTS) solusyonu içinde 10^9 bakteri/ml konsantrasyonlarında hazırlanan bakteri süspansiyonu bir damlası üzerine bir damla standart serumlardan (E. coli OK antiserumları, Difco) ayrı ayrı damlatılarak hafifce karıştırıldı ve 1-2 dakika bekletildi. Pozitif reaksiyon veren serotipleri ayrıldı. Ayrıca K aglutinasyonu için % 0.5 formalin ilave edilerek ve O aglutinasyonu için 100°C de bir saat ısıtılarak 37°C lik etüvde bir gece inkübasyonları sonunda hazırlanan kültür süspansiyonlarından aynı yöntemle aglutinasyonları yapıldı.

3. Değişik tuz konsantrasyonlarında E. coli suşlarının üremeleri :

İzole edilen patojen E. coli suşları, yüksek konsantrasyonda NaCl bulunan vasatlar içinde üretildikten sonra antibiyotiklere karşı duyarlılıklarında herhangi bir değişme olup olmadığı incelendi. Bunun için % 1, % 5, % 10, % 20 NaCl ihtiva eden buyyon hazırlandı ve 10 ml lik besiyerlerinde 10^8 bakteri/ml bakteri süspansiyonlarından 0.1 ml ilave edilerek bir gece etüvde tutuldu. Kültürlerden 10^{-3} dilisyonlar hazırlanarak 0.1 ml alınıp Petri kutularındaki jelozlara ekimleri yapıldı. Oluşan koloniler 18, 24 ve 36 saat sonra sayıldı. Bir gece

inkübasyondan sonra % 5 NaCl lü buyyonda üreyen E. coli suşlarının karakterlerindeki değişikliği ve antibiyotiklere duyarlılıkları disk metodu uygulanılarak incelendi.

BULGULAR

1. Patojen E. coli serotipleri ve antibitotiklere karşı duyarlılıkları :

İncelenen 300 gaitada 213 E. coli 67 diğer mikroorganizmalar (proteus, klebsiella, ve achromobakter cinsinden bakteriler, pseudomonas aeuroginosa, alfa ve beta hemolitik streptekoklar, stafilokok albus, hemolitikus ve non-hemolitikus, Gram pozitif çomak, stafilokok aureus ve candida albicans) üredi. Dokuz numunede az koloni izlendiği için patojen bakteri üremediği kabul edildi. Ayrıca iki muayene maddesi de steril bulundu. E. coli üreyen 213 kültürün 159 unda bir çeşit (E. coli), 39 unda iki çeşit (bir i E. coli) ve 15 inin kültüründe ise üç çeşit (biri E. coli) mikroorganizma izole edildi. Üretilen 213 (% 71) E. coli'nin 24 ü (% 8) hemolitik E. coli (Patojen E. coli serotip antiserumlarıyla aglutinasyon vermeyen suşlar) ve 18 i (% 6) patojen E. coli serotiplerine ait özel antiserumlarıyla lam aglutinasyonunda pozitif reaksiyon veren suşlar olarak identifiye edildi. Patojen serotiplerden 7 adet O111 : K58, 5 adet O128 : K67, 3 adet O119 : K69, 2 adet O124 : K72 ve 1 adet O126 : K71 saptandı.

İzole edilen E. coli suşlarının kemoterapötiklere hassasiyetleri tablo 1 de gösterilmiştir. Elde edilen suşlara en fazla etkili antibiyotikler başta gentamisin olmak üzere sırasıyla nitrofurantion, rifampisin, cefazolin, nalidixic acid bulundu. Patojen olan 18 suşun antibiyogramlarında yine aynı tip antibiyotiklere hassas olduğu görüldü .

2. NaCl ün E. coli suşlarının üremesinde etkileri :

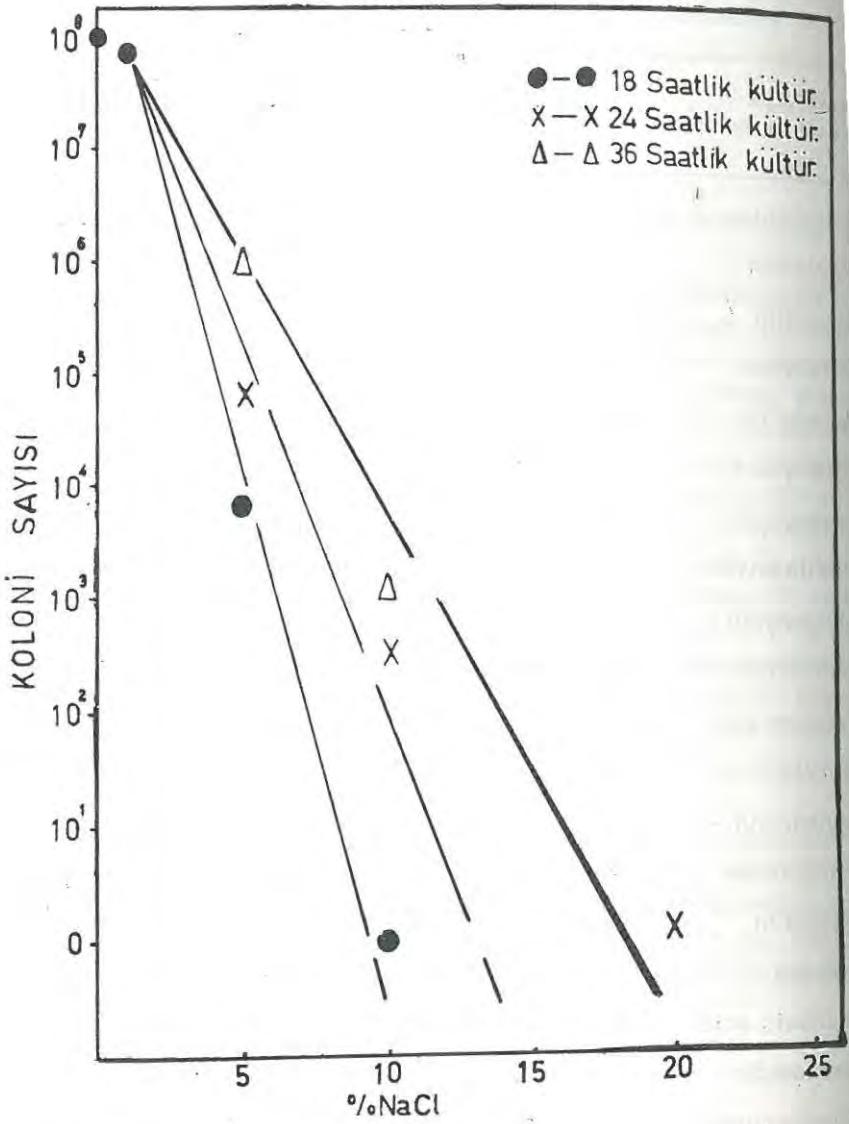
Artan elektrolit taşıyan besiyerlerinde üreyen bakterilerde mükoïd bir üreme izlendi. Ortamdaki tuz oranı % 1 - 5 arasında, E. coli suşlarının üremelerinde fazla bir sapma olmadığı tesbit edildi. Üremede değişim, % 10 NaCl konsantrasyonundan sonra iyice azaldı. Kullanılan 18 suşun hepsinde, % 20 NaCl ihtiva eden kültürlerin 18 saatlik inkübasyonunun sonunda üreme kabiliyetlerini kaybettikleri izlendi (Şekil 1). Tuz yoğunluğu arttıkça bakteri üreme oranında bir değişme

TABLO I : E. coli suşlarının antibiyotiklere karşı durumları.

Antibiyotik ve Kemoterapötikler	213 E. coli suşunun antibiyogramları			18 patojen E. coli serotiplerinin antibiyogramları		
	H	AH	D	H	AH	D
Penicillin	—	—	—	—	—	—
Oxacillin	0	0	213	—	—	—
Urfamycin	36	75	102	0(0)	0(0)	18(18)
Ampicillin	38	73	102	2(0)	6(2)	10(16)
Rifampicin	118	47	48	7(7)	9(5)	2(6)
Erytromycin	19	59	135	0(0)	3(3)	15(15)
Pristinamycin	9	31	173	0(0)	0(6)	18(12)
Lincomycin	0	13	200	0(0)	0(6)	18(12)
Chloramphenicol	60	33	120	2(2)	7(6)	9(10)
Tetracycline	17	16	180	2(0)	0(2)	16(16)
Doxycycline	66	51	96	—	—	—
Kanamycin	83	51	79	3(2)	3(3)	12(13)
Gentamycin	174	39	0	12(4)	6(4)	0(0)
Cefazolin	105	59	49	2(3)	7(4)	9(11)
Colistin	48	60	105	2(2)	7(7)	9(9)
Nalidixic acid	100	45	68	3(3)	8(8)	7(7)
Aminosidin	27	64	122	0(0)	0(0)	18(18)
Nitrofurantion	134	31	48	5(3)	7(9)	6(6)
Carbenicillin	24	42	147	0(0)	0(0)	18(18)
Sulfa.+ trimeth.	98	66	49	0(0)	0(0)	18(18)

() Parantez içindeki değerler : % 5 NaCl lu besiyerlerinde üretildikten sonra yapılan antibiyogramları göstermektedir.

H : Hassas, AH : Az hassas, D : Dirençli



Şekil 1. Patojen E. coli suşlarının değişik NaCl yoğunluğunda üremeleri.

olduğu ve inkübasyon süresinin uzaması halinde fazla tuz yoğunluğundaki üreme olasılığı dikkati çekmektedir. Yoğun NaCl lü buyyonda üreyebilen patojen E. coli serotiplerinin antibiyogramları tablo 1 de özetlendiği gibi antibiyotiklerin etkilerinde bir değişme görülmedi.

TARTIŞMA

Sıklıkla çocuklarda tesbit edilmesine rağmen her yaşta gastroenterit görülmesi ve bunu hazırlayan sebepler pek çoktur. Çocuk sürgünleri ile ilgili araştırmaların neticesinde çeşitli E. coli serotipleri izole edilmiş, özellikle iç Anadolu bölgesi (Ankara) için geçerli çalışma 1966 yılında **Akman** (1) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada 400 köken incelenmiş ve 0111 : K58, 0119 : K69, 055 : K59, 026 : K60, 086 : K61, 0125 : K70, 0127 : G8, 0128 : K67, 0126 : K71 ve 0124 : K72 serotipler izole edilerek bunların % 68.5 i 1-6 aylık çocuklarda Nisan-Ekim aylar arasında tesbit edilmiştir. Yurdumuzda; 055 : K59 ve 0111 : K58 (3), 0126 : K60 ve 086 : K61 (6), 0119 : K69 ve 0125 : K70 (8), 0124 : K72 (1), 0126 : K71 (5) serotiplerinin sıklıkla bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışma, **Akman**'ın raporunu desteklemesi bakımından önemlidir.

NaCl yoğunluğu arttığı zaman üreme hızlarındaki azalma görülmesi Ögütmen ve Yaylalı'nın (11) çalışmalarını da doğrulamaktadır. Ancak yüksek tuz konsantrasyonunda üreyen serotiplerin antibiyotiklere hassasiyetleri yönünden değişiklik görülmemektedir. Bu rapor, Kayseri yöresindeki çocuklarda gastroenterit amili olan patojen E. coli serotiplerini saptayarak antibiyotiklere hassasiyetlerini ve tuz konsantrasyonunun artımında üreyen suşların aynı antibiyotiklere direnç kazanmadığını ve gentamisin uygulanmasının gerektiğini belirtmektedir.

Bakterilerde mutasyonel dirençten farklı bir multiple-direnç olduğu daha önce saptanılmıştır (12). Dünyanın çeşitli ülkelerinde bulaşıcı tipde antibiyotik direncin süratle ilerlemesiyle çalışmalar yapılmıştır (2,4). Direnç faktörü ihtiva eden E. coli, diğer Gram negatif bakterileri bulaştırmaktadır. Seksüel faktör, direnç faktörü ve kolisinojen faktör ekstrakromozomik olup bakteriden bakteriye her biri tek başına geçebilmekte veya direnç faktörü ile kolisinojen faktörü bulunduğu takdirde hibridler oluşturarak alıcıya geçebilmektedir. Bu nedenle direnç faktörü taşıyan ve antibiyotiklere dirençli olan suşların çoğunun kolisinojen olduğu konjugasyon esnasında birlikde diğer bakteriye geçtikleri bildirilmiştir (7). Evvelce birçok antibiyotiğe duyarlı olan E. coli suşlarının direnç kazandıkları ve bu oranda da hastalık etkeni olarak karşılaşılmaktadır. Çocuk ishallerinde E. coli'lerin küçümsenmeyecek bir amil olduğu aşikârdır. Gastroenteritli çocuklardan izole edilen bu patojen serotipler, gentamisin ve tablo I de belirtildiği gibi bir kaç antibiyotik dışında diğer bütün kemoterapötiklere dirençli olduğu kanıtlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Akman, M.: Ankara'da enteropatogenik *Escherichia coli* tiplerinin dağılımı. Çocuklarda izole ettiğimiz 400 suşun analizi. Çocuk Sağl. ve Hast. Derg., 9 : 142, 1966.
2. Akman, M.: Türkiye'de izole edilmiş olan *Shigella* suşlarında bulaşıcı tipde antibiyotik direnç (R-faktörü) varlığı. Mikrobiyoloji Bülteni, 6 : 21, 1971.
3. Aksoycan, N.: Ankara'da çocuk gastroenteritlerinden tecrit edilen *E. coli* cinsleri hakkında. Ank. Üniv. Tıp Fak. Mec., 9 : 136, 1956.
4. Buke, M. ve Serter, D.: Hastalık etkeni olarak izole edilen patojen *E. coli* suşunun kolisinojen özelliği ve 7 tip kolisine karşı duyarlılıklarının araştırılması. XVI. Türk Mik. Kong. İzmir, Ekim, 1974.
5. Cicioğlu, R.: Ankara'da muhtelif kaynaklarda izole edilen patojen *Escherichia coli* suşlarının biyolojik ve serolojik vasıfları. Türk İj. Tec. Biyol. Derg., 26 : 40, 1966.
6. Demirbağ, B. ve Yalçınkaya, P.: Süt çocuğu ishalleri. Pediatri, 2 : 39, 1959.
7. Frenderiq, P. and Delhalla, E.: Recombinasion entre facteurs et facteurs coliginogenes, Ann. Inst. Pasteur, 122 : 909, 1972.
8. Gülmezoğlu, E.: Çocuk ishallerinde enteropatogenik *E. coli* identifikasyonunda flöresan antikor tekniğinin kullanılması. Çocuk Sağl. ve Hast. Derg., 6 : 206, 1963.
9. Holmgren, J., Eggertsen, G., Hanson, L.A. and Lincoln, K.: Immunodiffusion studies an *Escherichia coli*. I. Identification of O, K and H Antigens in an O6 strain. Acta. Path. Microbios. Scand., 76 : 304, 1969.
10. Kauffmann, F.: The bacteriology of enterobacteriaceae. Munksgaard, Copenhagen, 1966.
11. Öğütmen, R. ve Yaylalı, Z.: *E. coli* suşlarının biyokimyasal özelliklerinde NaCl ün değişik yoğunlukdaki solusyonlarının etkileri üzerinde bir çalışma. XV. Türk Mik. Kong. Ankara, 1972,
12. Watanabe, T.: Infectious drug resistance in enteric bacteria New Eng. J. Med., 275 : 888, 1966.