5. Ulusal
Klinik Mikrobiyoloji
Kongresi-2015
18-22 Kasım 2015
21.11.2015
08:36:49

DIŞKI ÖRNEKLERİNDE SHIGA TOKSİN OLUŞTURAN *E. COLI*'LERİN SEROTİP, VİRÜLANS GENLERİ VE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Revasiye GÜLEŞEN
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı
Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı
Ankara-TÜRKİYE

AMAÇ

- Shiga toksin oluşturan *E. coli* (STEC) enfeksiyonları
  - hafif ishal
  - hemorajik kolit
  - hemolitik üremik sendrom (HÜS)

AMAÇ

- Haziran 2011 - Mayıs 2014 sonuna kadar kanlı ishal ve/veya HÜS'u olan hastalardan gönderilen dışkı örneklerinden izole edilen STEC suşlarının:
  - serotiplerine göre dağılımları
  - virülans genleri
  - antibiyotiklere direnç durumları

YÖNTEM

❑ Örneklerin toplanması

- ❑ Sulu veya bol kanlı ancak fekal lökosit içermeyen dışkılama ile karakterli ishal tablosu olan ve/veya

- ❑ HÜS bulguları
  - ❑ Mikroanjiyopatik hemolitik anemi
  - ❑ Trombositopeni (≤ 150 000 /mm^3)
  - ❑ Renal disfonksiyon

YÖNTEM

- **Bakteriyel kültür:**
  - *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio cholerae* O1–O139, STEC, *Campylobacter* spp ve *Aeromonas* spp
    - %5 koyun kanlı,
    - *Salmonella-Shigella*,
    - Eosin Methylene Blue (EMB),
    - Xylose Lysine Deoxycholate (XLD),
    - Thiosulfate-Citrate-Bile-Salt-Sucrose,
    - Sefiksim tellüritli ve sefiksim tellürit içermeyen sorbitol Mac Conkey (SMAC)
    - Butzler agar
  - Standart biyokimyasal testlerle izolasyon ve identifikasyon

YÖNTEM

- **Shiga toksin ELISA:**
  - Dışkı örnekleri ve biyokimyasal testlerde *E. coli* ile uyumlu
  - 3-10 adet koloni triptik soy sıvı besiyerinde (TSB) 37◦C'de çalkalamalı su banyosunda, 18-24 saat
  - ELISA testi (Remel ProSpecT™ Shiga toxin *E. coli* microplate ELISA kit; Remel, Inc., Lexena, KS)

YÖNTEM

- **DNA ekstraksiyonu ve PCR**
  - STEC
    - shiga toksin 1*(stx*1)
    - shiga toksin 2 (*stx*2)
    - intimin *(eae)*
    - enterohemolizin (*hlyA)*
    - agregatif aderan fimbrianın kodlanmasını kontrol eden *(aggR)*

YÖNTEM

❑ Serotiplendirme:

- ❑Toksijenik olup *E. coli* ile uygun
  - ❑polivalan ve monovalan *E. coli* O ve H antiserumları (Statens Serum Institut antiserumları, Danimarka)

YÖNTEM

- **Antimikrobiyal duyarlılık testleri**
  - Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)
  - Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi
  - Mueller-Hinton besiyerinde (Oxoid; İngiltere)
  - Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922

Antibiyotikler	
Ampisilin (AMP)	Sefotaksim (CTX)
Kloamfenikol (C)	Seftriakson (CRO)
Tetrasiklin (TE)	Trimetoprim (W)
Trimetoprim/sülfa metaksazol (SXT)	Sülfonamid (S3)
Siprofloksasin (CIP)	Streptomisin (S)
Nalidiksik asit (NA)	İmipenem (IMP)
Seftazidim (CAZ)	Meropenem(MEM)

BULGULAR

- Toplam **395** dışkı örneği
  - **Kültür pozitifliği % 6.6** (n=26)
  - **Shiga toksin pozitifliği % 7.1** (n=28)

- Shiga toksin pozitif bulunan hasta örneklerinde
  - **%50** oranında **kız ve erkek hasta** eşitliği

- **Medyan yaş** (yaş dağılımları 9 ay-76 yaş arası)
  - **Beş** olarak bulunmuştur. **%42'si iki yaş ve altında**

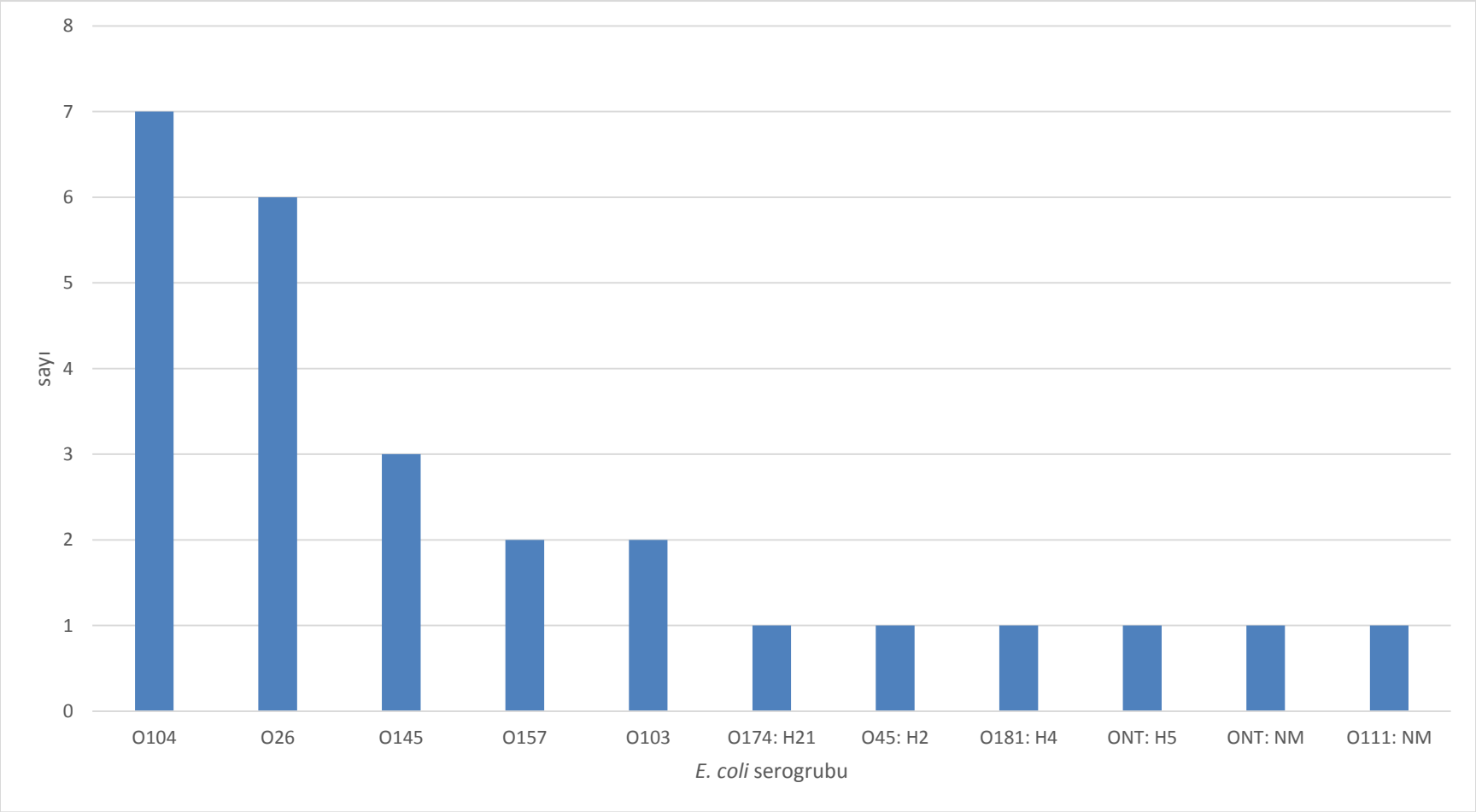
- **%61'i yaz ayları** (Temmuz ve Ağustos)

BULGULAR

- STEC suşları
  - **10 farklı serogrup**
  - **14 farklı serotipe**
  - **%92.3'ü O157 dışı STEC**

Serotipler	
O 104: H4 (7)	O 45: H2 (1)
O26: NM (4)	O181: H 4 (1)
O145: NM (3)	ONT: H5 (1)
O157: H7 (2)	ONT: NM (1)
O103 (1)	O26: H6 (1)
O103 : H2 (1)	O26: H12 (1)
O174: H21 (1)	O111: NM (1)

BULGULAR


8
7
6
5
4
3
2
1
0
sayı
O104
O26
O145
O157
O103
O174: H21
O45: H2
O181: H4
ONT: H5
ONT: NM
O111: NM
E. coli serogrubu

BULGULAR

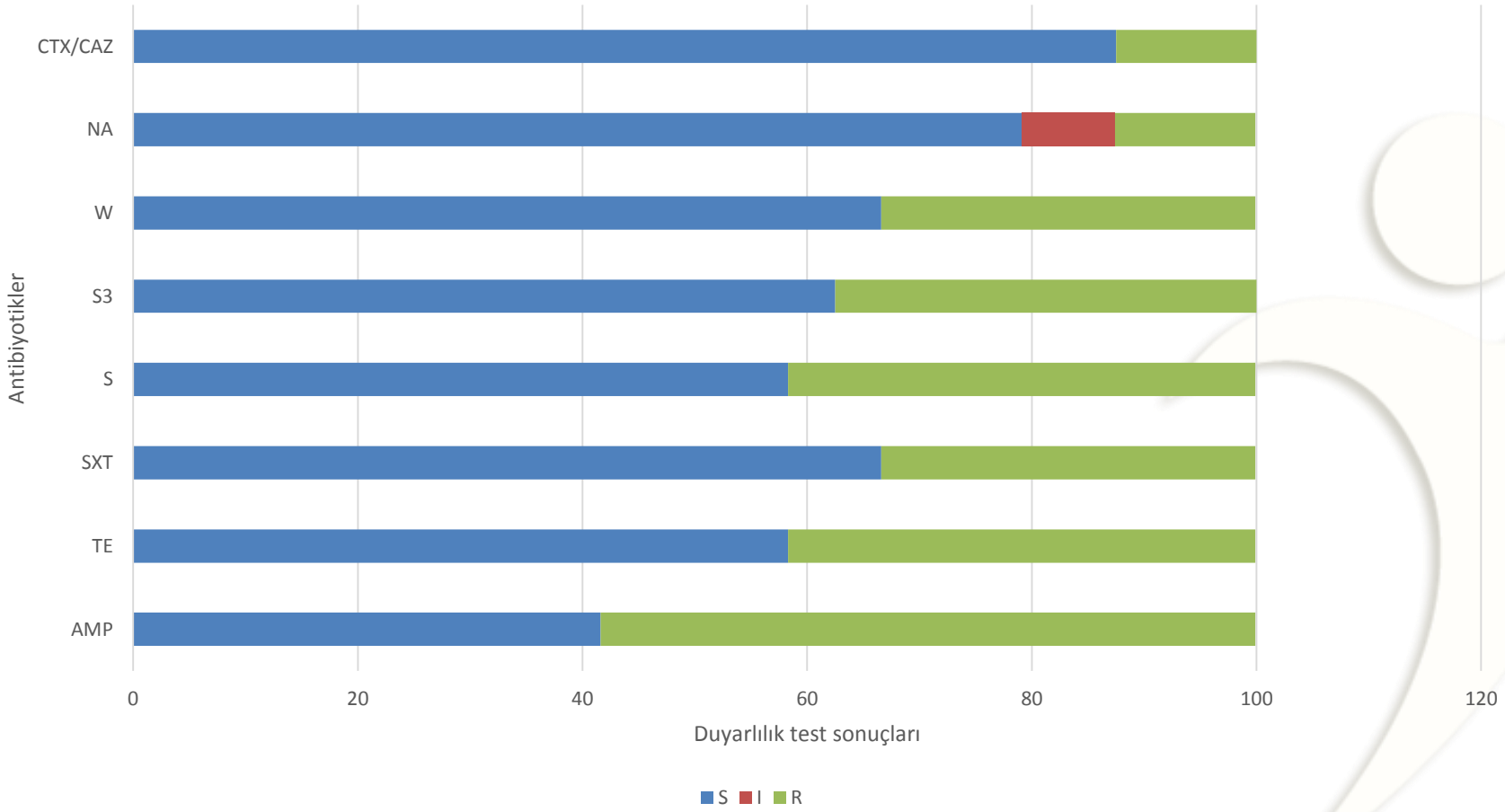
- STEC suşlarının
  - %**64.3**'ünde sadece ***stx*2,**
  - %21.4'ünde sadece *stx*1,
  - %14.3'ünde *stx*1 ve *stx*2'in birlikte pozitif
  - %50'sinde *hlyA* ve *eae* genleri
- O104: H4 suşlarının hepsinde *stx*2 ve *aggR* genleri pozitif, *eae* ve *hlyA* genleri negatif

BULGULAR

- Karbapenemlere duyarlı ve ESBL negatif
- En az bir ilaca direnç %62.5
  - AMP %58
  - TE ve S %41
  - S3 %37
  - SXTve W %33
  - NA ve CTX / CAZ %12
- Üç ve daha fazla ilaca direnç %54.2

- *En sık direnç görülen antibiyotik kombinasyonu*
  - **AMP+ TE+ S+ S3**

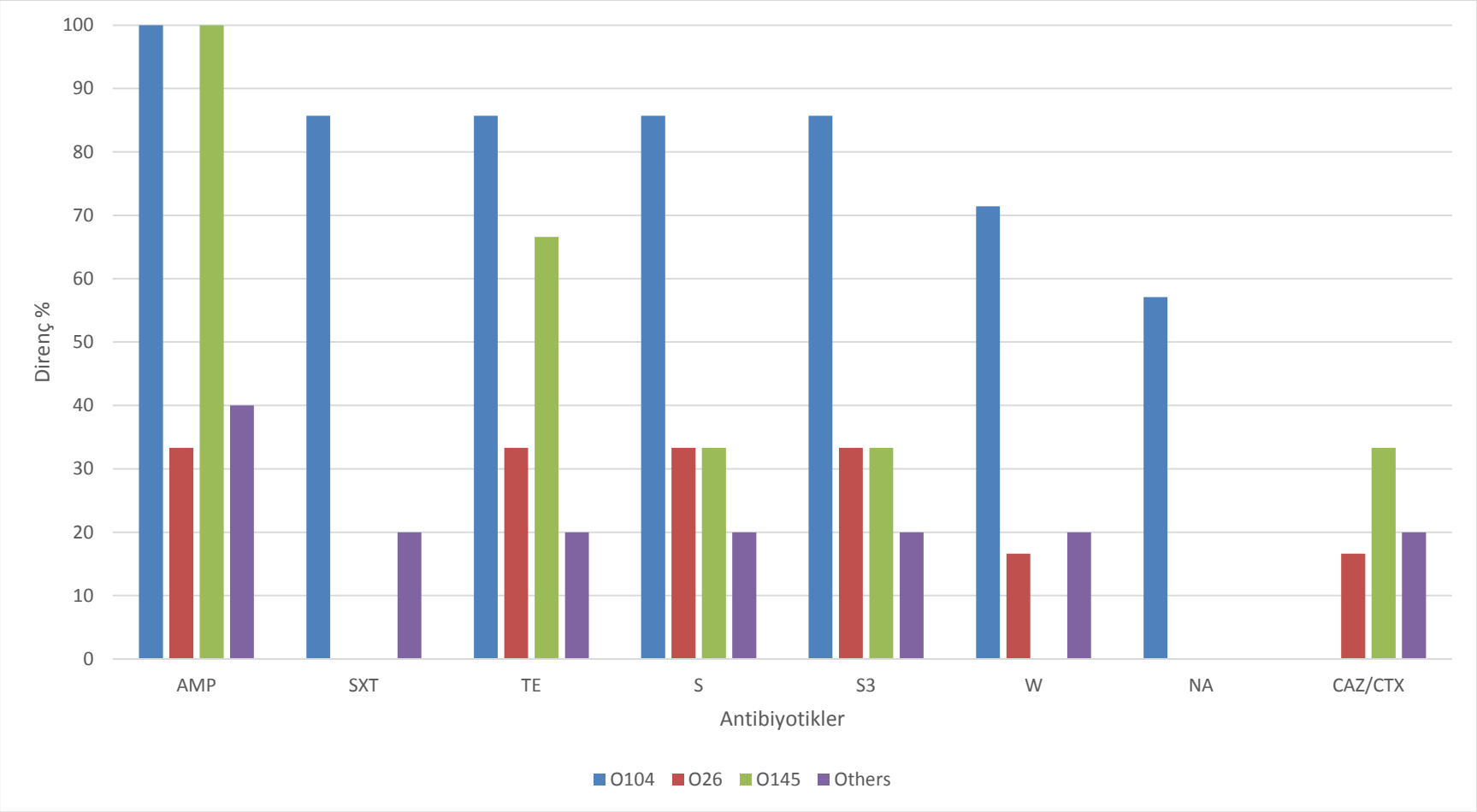
BULGULAR


CTX/CAZ
NA
W
S3
S
SXT
TE
AMP
Antibiyotikler
0
20
40
60
80
100
120
Duyarlılık test sonuçları
S
I
R

BULGULAR

- O104: H4
  - altısında çoklu ilaç direnci (ampisilin, tetrasiklin, trimetoprim - sülfametoksazol, streptomisin, sülfonamid)
- O157 ve O103 serogrubundaki suşlar test edilen tüm antimikrobiyal ajanlara duyarlı

BULGULAR


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Direnç %
AMP
SXT
TE
S
S3
W
NA
CAZ/CTX
Antibiyotikler
O104
O26
O145
Others

SONUÇ

- STEC enfeksiyonları,
  - Çocukluk yaş grubunda önemli bir halk sağlığı problemi
  - Laboratuvar tanı kapasitesindeki yetersizlik ve bildirim eksikliği hastalığın gerçek prevalansının tahmin edilmesini zorlaştırmakta

SONUÇ

- STEC serotiplerinin bilinmesi ülkemizdeki laboratuvar algoritmasına yön vermesi açısından önemlidir.

- Bu çalışmada izole edilen STEC suşlarının büyük çoğunluğunu O157 dışı STEC suşudur.

- O157 dışı serotiplerin daha fazla saptanması; ülkemizde insan, hayvan ve gıdalarda, STEC açısından daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

- STEC tedavisinde antibiyotiklerin kullanımı önerilmemekte
- Tek ilaca %62.5'lik direnç
- AMP, TE, S3, S, SXT, W direnci de yüksektir.
- Özellikle O104: H4 serotipinde çoklu direnç
- Nalidiksik asite direnç flurokinolonlara karşı direnç için bir tehdit

SONUÇ

- Akut diyareli çocuklarda (HÜS olsun veya olmasın)
  - **Özellikle kanlı ishal** varlığında STEC araştırılmalıdır.
  - **Hızlı, doğru, duyarlı ve ucuz tanı yöntemleri**
  - **Tanıda gen varlıkları araştırıldıktan sonra, toksin tespiti ve kültür yöntemlerinin** yapılması

- TEŞEKKÜRLER