

Çocuk Yaş Grubu Akut Enterokolit Olgularında Etken Olarak *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması

Ahmet Arslantürk, Pınar Zarakolu, Engin Güvener

Özet: Bu çalışma, 0-15 yaş grubu enterokolit olgularında Enterohemorajik *E.coli*'nin ilk ve en sık tanımlanan serotipi olan O157:H7'nin varlığını araştırılması amaçlandı. Nisan-Kasım 1995 tarihleri arasında 50 sağlıklı, 566 diyareli hastadan dışkı kültürü olarak *Salmonella*, *Shigella* ve *E.coli* O157:H7 yönünden araştırıldı. *E.coli* O157:H7 için dışkı örnekleri sorbitollü MacConkey agarına ekilerek, sorbitol-negatif kolonilerin biyokimyasal identifikasyonları yapıldıktan sonra *E.coli* O157:H7 antiserunlarıyla aglütinasyon yapıldı. Bütün örneklerin 30 (% 5.3)'ünde enterik patojen saptandı. *Salmonella* serotipleri % 2.4, *Shigella* serotipleri % 2.8 oranında saptanmış iken bir hastadan *E.coli* O157:H7 izole edildi.

Anahtar Sözcükler: *Escherichia coli* O157:H7, enterokolit.

Summary: *Escherichia coli* serotype O157:H7 as a causative agent of acute enterocolitis in pediatric age group. In this study, it was aimed to search the presence of the first and the most common enterohemorrhagic *E.coli*, serotype O157:H7 in the patients with enterocolitis whose ages are between 0 and 15 years. During April-December 1995, the stool cultures of 566 patients with diarrhea and 50 healthy subjects as a control group were examined for *Salmonella*, *Shigella* and *E.coli* O157:H7. For *E.coli* O157:H7, the stool samples were inoculated on sorbitol-MacConkey agar. After biochemical identification of sorbitol-negative colonies, examined for the agglutination with *E.coli* O157 and H7 antisera. We isolated enteric pathogen in the 30 (5.3%) of the samples. While *Salmonella* serotypes were isolated as 2.4%, *Shigella* serotypes were 2.8%. We found *E.coli* O157:H7 only in one patient.

Key Words: *Escherichia coli* O157:H7, enterocolitis.

Giriş

Ülkemizde her yıl bir ile bir buçuk milyon kişi gastroenterite yakalanmakta ve bu hastaların büyük çoğunluğunu çocuklar oluşturmaktadır (1). *Escherichia coli* O157:H7, 1982'de ilk tanımlanmasından bu yana hafif seyreden kendini sınırlayan diyareden, ciddi hemorajik kolite kadar değişen tablolara ve hemolitik üremik sendroma (HUS) neden olduğu anlaşılmıştır. Amerika ve Kanada'da sporadik vakaların yanı sıra besin zehirlenmesi tarzında salgınlardan izole edilmiştir (2).

E.coli O157:H7 serotipinin 0-15 yaş grubu akut gastroenterit olgularında varlığını araştırdığımız çalışmamızda, bu ajanın ülkemizdeki epidemiyolojik yerleşimini anlamak yolunda adım atmayı amaçlamış bulunuyoruz.

Yöntemler

24 Nisan-30 Kasım 1995 tarihleri arasında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesi İshal Merkezi, Dr. Sami Ulus Çocuk Hastanesi ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Polikliniğine diyare şikayeti ile başvuran 0-15 yaş grubu hastalardan alınan 566 adet ve sağlıklı kontrol grubundan alınan 50 adet dışkı örneği, *Salmonella*, *Shigella* ve *E.coli* O157:H7 yönünden kültürleri yapıp incelenmiştir.

Taşıma besiyeri olarak Cary-Blair besiyeri kullanılmıştır (3). Örneklerin *Salmonella* ve *Shigella* için eosin-methylene-blue (EMB) agarı (Oxoid), *Salmonella*-*Shigella* (SS) agarı (Oxoid), *E.coli* O157:H7 için seçici olan sorbitollü MacConkey (SMAC) agarı (Oxoid) plaklarına, ekimleri yapıldı (4,5).

Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, Sıhhiye-Ankara

24 saatlik inkübasyondan sonra SMAC agarı plaklarında izlenen sorbitol-negatif, renksiz koloniler, Klügler'in demirli agarında (KIA) laktöz-pozitif olduğu ve gaz oluşturduğu, indol ve metil-kırmızısı-pozitif, Voges-Proskauer, Simmons sitrat ve üreaz-negatif olduğu saptandıktan sonra *E.coli* olarak tanımlanmıştır. Ardından *E.coli* O157 ve H7 antiserunlarıyla (Difco) lam aglütinasyonu yapılmıştır (4,6).

Çalışmamızda kontrol olarak İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÜKENS)'nden elde edilen *E.coli* O157:H7 (KUEN 1461) suşu kullanılmıştır.

Sonuçlar

24 Nisan-30 Kasım 1995 tarihleri arasında 566 diyareli hastadan alınan dışkı örnekleri *Salmonella*, *Shigella* ve *E.coli* O157:H7 yönünden kültürü yapıp 16'sından (% 2.8) *Shigella*, 13'ünden (% 2.4) *Salmonella* ve birinden (% 0.2) *E.coli* O157:H7 olmak üzere 30 (% 5.3)'undan enterik patojen izole edilmiştir. Çalışmamızda *E.coli* O157:H7 dışında sorbitollü fermante etmeyen fekal flora bakterileriyle de % 10 oranında karşılaşmıştık. Bunların % 6'sı O157:H7 olmayan *E.coli*, % 1.4'ü *Proteus* spp., % 1.1'i *Pseudomonas* spp., % 0.9'u *Shigella sonnei*, % 0.7'si *Morganella morganii* ve % 0.4'ü *Providencia alcalifaciens*'ti.

Çalışmamızda 50 sağlıklı insandan alınan örnekler kontrol grubu olarak çalışılmıştır. Bu grupta *E.coli* O157:H7 serotipine rastlanmamıştır. Kontrol grubundan üç örnekte sorbitol-negatif koloniler görülmüştür. Bunların ikisi *Proteus* spp. ve biri *Pseudomonas* sp. olarak tespit edilmiştir.

İrdeleme

E.coli O157:H7 oldukça geniş kapsamlı klinik manifestasyonlar ve komplikasyonlarla seyredebilir ki, bunlar, kanlı veya

kansız diyare, asemptomatik infeksiyonlar, HUS, trombotik trombositopenik purpura (TTP), üç haftadan fazla sürebilen taşıyıcılık, ekstraintestinal lokalizasyonlar, akut karın tablosu ve ölüm olabilir (3).

Hemorajik kolit veya HUS'lu hastalardan Shiga toksini üreten *E.coli* serotipleri izole edilmiştir (4,7). Toronto'da bir çocuk hastanesinde en az 11 değişik O serogrubu tespit edilmiş ve en çok *E.coli* O157:H7 serotipi izole edilmiştir. Son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan *E.coli* serotipi, *E.coli* O157:H7'dir. İnfeksiyonlar, hem sporadik hem de epidemiler halinde görülebilir. En sık Kuzey Amerika'da rastlanan bu bakterilerin infeksiyon insidansında coğrafi farklar önemli rol oynamaktadır. İnfeksiyonlar genellikle kontamine yiyeceklerin yenmesiyle görülmektedir (4).

Semptomatik hastalığın en yüksek sıklıkla çocuklarda ve yaşlılarda görüldüğü bildirilmektedir. Özellikle kreş ve yuvalardaki salgınlarda küçük çocuklar, bakımevlerindeki salgınlarda ise yaşlı insanlar risk grubunu oluştururlar. Bunların dışındaki risk faktörleri olarak, gastrektomi uygulanmış kişiler ve salgın öncesi antibiyotik kullanılmış olması sayılabilir (3,8,9). Biz de yukarıda belirtilen bilgiler ışığında en çok izole edilen ve çalışılan *E.coli* serotipi olarak *E.coli* O157:H7 serotipini ve risk grubu olarak da 0-15 yaş grubu diyareli çocukları çalışmamıza dahil ettik.

E.coli O157:H7 infeksiyonlarına rastlanma oranları çeşitli çalışmalarda değişiklik göstermektedir. Marshall ve arkadaşları (4), altı aylık çalışma süresinde 2164 dışkı kültürünü inceleyip sekiz hastadan alınan 10 örnekten (% 0.5) *E.coli* O157:H7 izole etmişlerdir. Bu hastaların dördü 15 yaşın altında bulunmştür. Calgary'de yapılan bir çalışmada ise 125 kanlı diyareli hastanın 19'unda (% 15) *E.coli* O157:H7 tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada kanlı ve kansız diyaresi olan 5228 hastanın 116'sından (% 2.2) izole edilmiştir (4,10). Bizim çalışmamızda kanlı ve kansız diyaresi olan 0-15 yaş grubu toplam 566 hastanın birinden (% 0.18) *E.coli* O157:H7 izole edilmiştir.

1985-86 yılları arasında Washington'un Puget Sand bölgesinde yapılan geniş çaplı bir çalışmada 6845 örnek incelenmiş, % 5.8'inde enterik patojen izole edilmiştir. Patojenler sırasıyla: *Campylobacter* (% 3.0), *Salmonella* (% 1.7), *Shigella* (% 0.6) ve *E.coli* O157:H7 (% 0.4) şeklinde sıralanmıştır. Toplam izolasyonların % 60'ını Haziran-Eylül döneminde elde edilen izolasyonlar oluşturmuştür (11).

British Columbia'daki çocuklardan alınan 1425 dışkı örneğiyle yapılan çalışmada *E.coli* O157:H7, *Campylobacter* spp.'den sonra ikinci sırada bulunmuştür (3). Pai ve arkadaşlarının (12) Alberta'da 5415 dışkı örneği ile yaptıkları çalışmada, *E.coli* O157:H7, 130 (% 2.4) izolatla *Salmonella*'dan sonra ikinci sırada ve Haziran-Eylül döneminde en yüksek sıklıkta bulunmuştür.

Bizim çalışmamızdan önce ülkemizde *E.coli* O157:H7 ile birçok çalışma yapılmıştır (13-19). Bu çalışmalardan sadece Kayseri'de Şen ve arkadaşları (13)'nin yaptığı altı aylık bir çalışma süresince 510 hasta örneğinin üçünden (% 0.58) izolasyon bildirilmiştir. Bu üç izolasyon da 15 yaşından küçük çocuklardan yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda enterik patojen izolasyonumuz % 5.3 olup çeşitli çalışmalarla paralellik göstermektedir (11). Bu izolasyonların % 73'ü diğer yayınlarda olduğu gibi Haziran-Eylül dönemindedir. İzolasyon oranları % 2.8 oranında *Shigella*, % 2.4 *Salmonella* ve % 0.2 *E.coli* O157:H7'dir. *E.coli*'ler 24 saat içinde % 93-95 oranında sorbitolü fermante eder veya hiç fermante etmez (10,20-22) Böylece *E.coli* O157:H7'nin diğer *E.coli*'lerden kolayca ayırt edilmesi başarılmıştır. Hastalığın akut döneminde *E.coli* O157:H7 sıkça dışkı ile dışarı atılır. SMAC agarında hızlı ve kuvvetli üreme bunu kanıtlamaktadır.

Akut dönemde yapılan kültürlerde saf veya az miktarda flora ile karışık olarak gözlenir (22). Bizim izolasyonumuz da kültürde çok az miktarda flora ile birliktelik göstermektedir.

Dışkıda sorbitolü fermante etmeyen bakterilerin görülme olasılığı % 10-15'tir (22,23). *E.coli* O157:H7 dışındaki sorbitol-negatif enterik flora bakterileri, *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp. ve ayrıca O157:H7 olmayan *E.coli* ile *Aeromonas* spp.'tir (4). March ve Ratnam (22), yaptıkları bir çalışmada sorbitol-negatif bakterileri % 15 oranında saptamışlardır. Bunların % 6'sı O157:H7 olmayan *E.coli*, % 44'ü *Proteus* spp., % 2'si *Morganella* spp., % 3'ü ise *Pseudomonas* spp. ve diğer koliform bakteriler olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda sorbitolü fermante etmeyen fekal flora bakterilerini oranında % 10 bulduk. Bunların % 6'sı O157:H7 olmayan *E.coli*, % 1.4'ü *Proteus* spp., % 1.1'i *Pseudomonas* spp., %0.9'u *Shigella sonnei*, %0.7'si *Morganella morganii* ve %0.4 *Providencia alcalifaciens*'ti.

Hastalık semptomları başlayan kişilerden kültür için geç örnek alınması *E.coli* O157:H7 izolasyon oranını azaltır. Semptomların başladığı altı gün içinde örnek alınıp çalışmaların yapılması izolasyon şansını artırmaktadır (3,20,22). Bizim çalıştığımız hastaların bazısı uzun süreden beri hastanede yatan veya diyare başladıktan altı gün sonra polikliniğe başvuran vakalardı. Bunun yanında diğer hastalarımızdan diyare başlangıcını takiben ilk altı gün içinde örnek alınmıştır.

Sorbitol-negatif *E.coli* kolonilerinin serolojik identifikasyonu ticari olarak hazır bulunan *E.coli* O157 ve H7 antiserumları ile yapılmaktadır (3). Bir hastamızdan izole ettiğimiz sorbitol-negatif *E.coli*, O157 ve H7 antiserumlarıyla aglütinasyon vermiş ve bu suş *E.coli* O157:H7 olarak tanımlanmıştır. Sorbitol-negatif *E.coli*'lerin çoğu O157 ve H7 antiserumlarıyla aglütinasyon vermemiştir. *E.coli* O157:H7 identifikasyonu için SMAC agarıyla birlikte O ve H antiserumlarının kullanılmasının önemi ortadadır.

E.coli O157:H7'nin neden olduğu salgınlardan infekte çiğ süt ve kontamine etlerin yenmesiyle yayıldığı gösterilmiştir (4,10,24,25) Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sığırların *E.coli* O157:H7 için rezervuar oldukları saptanmıştır. Ülkemizde izolasyonların kaynağı saptanamamış olup sığır ve diğer hayvanlardaki *E.coli* O157:H7 varlığına ait hiçbir yayın tarafımızdan bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda ve ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda *E.coli* O157:H7 izolasyonunun çok düşük olması, sığırlardaki *E.coli* O157:H7 prevalansının çok düşük veya hiç olmamasından kaynaklanabilir.

Ülkemizde yapılan birçok çalışmada *E.coli* O157:H7 serotipinin az veya hiç izole edilememesinin nedeni, çalışmalarda yer alan hasta sayısının düşüklüğü ve semptomatik hastaların azlığı olabilir. Bu yüzden daha uzun sürelerde ve daha yüksek hasta sayısına ulaşılacak çalışmaların organize edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak HUS, TTP ve özellikle kanlı diyaresi olan hastalar *E.coli* O157:H7 yönünden araştırılmalıdır. Bu amaca yönelik olarak SMAC agarı ile spesifik O ve H antiserumlarının kullanılmasının uygun olduğu düşünülmektedir. İnfeksiyonun durumunu belirlemek için geniş çaplı ve uzun süreli çalışmalar devam etmelidir.

Kaynaklar

1. Kanra G. Akut gastrointestinal infeksiyonlar. In: Kanra G, Akalın HE, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları*. 2. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1993:127-51
2. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 60-98
3. Griffin PM, Ostroff SM, Tauxe RV, et al. Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. *Ann Intern Med* 1988;

- 109:705-12
4. Marshall WF, McIlmans CA, Yu PKW, Allerberger FW, Van Scoy RE, Anhalt JP. Results of a 6-month survey of stool cultures for Escherichia coli O157:H7. *Mayo Clin Proc* 1990; 65:787-92
 5. Lopez EL, Diaz M, Grinstein S, et al. Hemolytic uremic syndrome and diarrhea in Argentine children: the role of Shiga-like toxins. *J Infect Dis* 1989; 160: 469-75
 6. Farmer III JJ, Davis BR. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening for detecting Escherichia coli O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 620-5
 7. Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS, Lior H. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing Escherichia coli. *J Infect Dis* 1985; 151: 775-82
 8. Carter AO, Borczyk AA, Carlson JAK, et al. A severe outbreak of Escherichia coli O157:H7-associated hemorrhagic colitis in a nursing home. *N Engl J Med* 1987; 317: 1496-500
 9. Spika JS, parsons JE, Nordenberg D, Wells JG, Gunn RA, Blake PA. Hemolytic uremic syndrome and diarrhea associated with Escherichia coli O157:H7 in a day care center. *J Pediatr* 1986; 109: 287-91
 10. Pai CH, Gordon R, Sims HV, Bryan LE. Sporadic cases of hemorrhagic colitis associated with Escherichia coli O157:H7. *Ann Intern Med* 1984; 101: 738-42
 11. MacDonald KL, O'Leary MJ, Cohen ML, et al. Escherichia coli O157:H7, an emerging gastrointestinal pathogen. *JAMA* 1988; 259: 3567-70
 12. Pai CH, Ahmed N, Lior H, Cohnson WM, Sims HV, Woods DE. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing Escherichia coli: a two-year prospective study. *J Infect Dis* 1988; 157: 1054-7
 13. Şen İ, Kılıç H, Sümerkan B. Gastroenteritli olgularda enterohemorragik E. coli O157:H7 serotipi araştırılması. [Özet]. In: XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (11-15 Nisan 1994, Antalya) Kongre Özet Kitabı. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1994; 28
 14. Şalcıoğlu M. Diyarli ve normal kişilerde kültür yöntemiyle O157 sero grubundan EHEC aranması. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, 1991
 15. Erensoy S, Tokbaş A. İzmir'deki sürgün olgularında Escherichia coli O157:H7 araştırılması. *İnfeksi Derg* 1992; 6: 285-6
 16. Haşcelik G, Akan Ö, Baykal M, Büyükgebiz B. Akut gastroenteritlerde Campylobacter ve enterohemorragik E.coli'nin yeri. *Ankem Derg* 1990; 4: 257
 17. Halepliler S, Babür C. Gastroenteritli çocuk ve erişkin yaş gruplarında Escherichia coli O157:H7 serotipi (EHEC) araştırılması. *Türk Hij Biyol Derg* 1993; 50: 9-15
 18. Akça Ö, Aktaş F, Ulutan F. Gastroenteritli hastalarda enterik patojen olan E.coli O157: H7'nin araştırılması (Özet). In: Willke A, Ünal S, Doğanay M, eds. 7. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (11-15 Eylül 1994, Ürgüp) Program ve Kongre Tutanakları Kitabı. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 1994; 317
 19. Yener V. Enterit olgularında Escherichia coli O157:H7 serotipinin insidansı. Uzmanlık Tezi. Ankara: Ankara Numune Hastanesi, 1995
 20. Remis RS, MacDonald KL, Riley LW, et al. Sporadic cases of hemorrhagic colitis associated with Escherichia coli O157:H7. *Ann Intern Med* 1984; 101: 624-6
 21. Wells JG, Davis BR, Wachsmuth IK, et al. Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare Escherichia coli serotype. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 512-20
 22. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of Escherichia coli O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 867-72
 23. Walker CW, Upson R, Rewarren A. Haemorrhagic colitis: detection of verotoxin producing Escherichia coli O157 in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Pathol* 1988; 41: 80-4
 24. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. *N Engl J Med* 1983; 308: 681-5
 25. Ryan CA, Tauxe RV, Hisek GW, et al. Escherichia coli O157:H7 diarrhea in a nursing home: clinical and epidemiological findings. *J Infect Dis* 1986; 154: 631-7