

# KRONİK TAŞLI KOLESİSTİT ÖN TANILI HASTALARIN SAFRA, SAFRA KESESİ DUVARI, SAFRA TAŞI MİKROORGANİZMALARI VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIĞI

Zeynep GÜLAY\*, Hülya AKHUNLAR\*\*, HÜSEYİN GÜLAY\*\*\*,  
İbrahim ÖZMAN\*\*\*, Nuran YULUĞ\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı\*\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı\*\*\*

## ÖZET

*Kronik taşlı kolesistit ön tanısı alan ve kolesistektomi uygulanan 72 hastanın safra, safra taşı ve safra kesesi duvarı örnekleri mikrobiyolojik açıdan incelendi. Bunun yanısıra, taşların kimyasal içeriği ile infeksiyon ilişkisi de araştırıldı. Hastaların 20 (%27.8)'inde tüm örneklerden (safra, kese duvarı, taş) üreme saptandı. Profilaktik antibiyotik uygulanan iki hastanın sadece taş örneğinde üreme gözlemlendi. Üreyen mikroorganizmalar Escherichia coli (6), Enterococcus spp (6), Enterobacter spp (4), Klebsiella pneumoniae (2), Pseudomonas aeruginosa (2), Salmonella paratyphi B (1), Staphylococcus epidermidis ve Candida spp (1) idi. Mikroorganizmaların çoğu (%86.4) amikasinle duyarlıydı. Bunu sefotaksim ve seftriaksonun eşdeğer oranda izlediği (%81.8) belirtildi. Sonuç olarak, kolesistektomi ameliyatları sırasında alınan safra ve taş örneklerinin mikrobiyolojik incelemeye rutin olarak gönderilmesinin, ameliyat sonrası gelişebilecek bir infeksiyonda etkenin ve antibiyotik duyarlılığının önceden belirlenmesine yardımcı olacağı kanısına ulaştık.*

**Anahtar sözcükler:** Kolelitiazis, safra kültürü, biliyer infeksiyon

## SUMMARY

*Bile, gallstone and gallbladder tissue specimens from 72 patients that had been operated on for chronic cholecystitis due to cholelithiasis were taken for microbiological examination. Chemical composition of the stones were also determined. Cultures from all of the specimens (bile, stone, tissue) were positive in 20 (27.8%) patients. In two patients who received prophylactic antibiotic therapy, only the stone cultures were positive. The microorganisms isolated were, Escherichia coli (6), Enterococcus spp (6), Enterobacter spp (4), Klebsiella pneumoniae (2), Pseudomonas aeruginosa (2), Salmonella paratyphi B (1), Staphylococcus epidermidis and Candida spp (1). Most of the organisms (86.4%) were susceptible to amikacin which was followed by cefotaxime and ceftriaxone (81.8%). In conclusion, routine cultures of bile and stone samples would be useful for the determination of the causative microorganisms in case of infection after cholecystectomy.*

**Key words:** Cholelithiasis, Bile culture, Biliary infections

Safra taşlarının etiopatogenezinde şişmanlık, safra akımının zorlaşması, doğum, safra içeriği, hiperkolesterolemi gibi çeşitli faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (1). Ayrıca, safra kesesi infeksiyonlarının da safra taşı oluşması ve gelişmesinde önemli olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (2-6). Özellikle kalsiyum bilirubinat taşlarının infeksiyon sonrasında geliştiği öne sürülmektedir (2-6). Taşın

safra akımını önleyerek bakterilerin safra yollarına girmesini kolaylaştırdığını belirten yayınlar da vardır (6,7). Taş gelişimi ve infeksiyon arasındaki neden-sonuç ilişkisinin hangi yönde olduğu tartışmalı olmasına rağmen, her ikisinin sıklıkla birlikte bulunabilmesi söz konusudur (6-8). Ameliyat sırasında safra yollarında bakteri bulunmasının ameliyat sonrası infeksiyöz komplikasyonları ar-

tırdığı da bildirilmektedir (3,6). Bunlar nedeni ile kolesistektomi ameliyatları öncesinde kemoproflaksi uygulanmakta ve yaygın olarak da üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılmaktadır (6-8).

Çalışmamızda, kronik taşlı kolesistit ön tanısı ile ameliyat edilen hastaların safra, safra taşı ve kese duvarı örnekleri mikrobiyolojik açıdan incelenerek safra infeksiyonlarının sıklığı, etken mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları araştırıldı. Bunun yanı sıra, taşların kimyasal içeriği ile infeksiyon ilişkisi de incelendi.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Bakteriyolojik İncelemeler

Kronik taşlı kolesistit ön tanısıyla kolesistektomi uygulanan 72 hastadan alınan, safra, safra taşı ve kese duvarından olmak üzere toplam 216 örnek bakteriyolojik açıdan incelendi. Safra, kanlı agar ve eozin metilen mavisi (EMB) agar besiyerlerine, diğer örnekler Beyin Kalp İnfüzyon (BKİ) buyyununa ekildi. Besiyerleri, aerobik ve anaerobik şartlar sağlanarak 37°C'de inkübe edildi. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık görülmesi üreme belirtisi olarak kabul edildi ve yukarıda sayılan katı besiyerlerine pasaj yapıldı. Aerop kültürler 48 saat, anaerop kültürler ise 14 gün izlenerek bu sürelerin sonunda yine katı besiyerlerine pasaj yapıldı. Üreyen mikroorganizmaların identifikasyonunda Gram boyanma ve morfoloji ile biyokimyasal özel -

liklerinden faydalanıldı (9).

Antibiyotik duyarlılığın saptanmasında standart disk diffüzyon yöntemi uygulandı (10).

### Taşların Kimyasal Analizi:

Üreme saptanan taş örnekleri kimyasal içerik açısından incelendi. Taşlar deiyonize su ile yıkandıktan sonra, kurutuldu. Kloroform/metanol/HCl (200: 100: 3) karışımında 30 dakika tutulduktan sonra, sıvı fazda kolesterol ve bilirubin tayini yapıldı. Kolesterol, kolesterol oksidaz metodu ile çalışan bir kit (Boehringer Mannheim, Mannheim, Almanya) kullanılarak değerlendirildi (11). Bilirubin, asit diazofsülfaktan metodu ile kolorimetrik olarak ölçüldü (12). Total kalsiyum ölçümü için O-cresolphtalein kiti (Boehringer Mannheim, Mannheim, Almanya) kullanıldı (13)

### İstatistiksel İnceleme:

Bulguların istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde Fisher'in kesin Ki-kare ( $X^2$ ) testi kullanıldı (14).

## BULGULAR

### Mikrobiyolojik İncelemeler:

Yetmişiki hastadan kolesistektomi sırasında alınan safra taşı ve safra kesesi duvarı örneği mikrobiyolojik açıdan incelendi. Hastaların 20 (%27.8)'inde tüm örneklerden (safra, safra taşı ve kese duvarı) üreme saptanırken, profilaktik antibiyotik uygulanan iki hastanın

**Tablo I.** Safra, safra taşı ve kese duvarı örneklerinde izole edilen mikroorganizmalar.

Mikroorganizma	Safra	Kese duvarı	Safra taşı
<i>Escherichia coli</i>	6	6	6
<i>Enterococcus spp.</i>	6	6	6
<i>Enterobacter spp.</i>	3	3	4*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2*
<i>Salmonella paratyphi B</i>	1	1	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>			
(+ <i>Candida spp.</i> )	1	1	1

\*. Sadece taş örneğinde üreme olmuştur.

sadece taş örneğinde üreme gözlemlendi. Bulgular Tablo I'de özetlendi.

Üreyen mikroorganizmalar sırası ile *Escherichia coli* (6), *Enterococcus spp.* (6), *Enterobacter spp.* (4), *Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae* (2), *Pseudomonas aeruginosa* (2), *Salmonella paratyphi B* (1), *Staphylococcus epidermidis* (1), *Candida (C albicans dışı)* (1), idi. Son iki mikroorganizma diyabetli bir hastanın örneklerinden birlikte izole edildi. Dört taş örneğinde saptanan *Enterobacter türlerinin* dağılımı, *E. aerogenes* (2), *E. cloacae* (1), *E. agglomerans* (1) şeklindeydi.

Proflaktik antibiyotik uygulanan iki hastanın taş örneklerinden *Enterobacter aerogenes* (1) ve *Pseudomonas aeruginosa* (1) üretildi.

Taşın safra yollarındaki lokalizasyonuna göre üreyen mikroorganizmaların dağılımı Tablo II'de gösterildi.

**Tablo II.** Safra taşı lokalizasyonu ve üreyen mikroorganizmaların dağılımı.

Mikroorganizma	Safra Kesesi Taşı (70)	Koledok Kanalı Taşı (2)	Toplam
<i>Escherichia coli</i>	5	1	6
<i>Enterococcus spp.</i>	6	-	6
<i>Enterobacter spp.</i>	3	1	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	-	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-	2
<i>Salmonella paratyphi B</i>	1	-	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (+ <i>Candida spp.</i> )	1	-	1
<b>Toplam</b>	20 (%28.6)	2 (%100)*	22

[n]: Örnek sayısı, (%): Üreme yüzdesi, \*:  $p < 0.05$ ,  $\chi^2$

### Antibiyotik Duyarlılıkları

Üreyen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Tablo III'de gösterildi. Mikroorganizmaların çoğu (%86.4) amikasine duyarlıydı. Bunu sefotaksim ve seftriaksonun eşdeğer oranda izlediği belirlendi (81.8). *Staphylococcus epidermidis* ve enterokok suşlarının tümü vankomisine duyarlı idi.

### Taşların Kimyasal Analizi:

Üreme saptanan taş örnekleri kimyasal içerik açısından incelendiğinde, çoğunluğunun (%72.8) kolesterol ve kalsiyum bilirubinatın çeşitli oranlarda birlikte bulunduğu "bileşik taşlar" olduğu saptandı. Koledok taşı örneklerinden biri (%4.5), kuru ağırlığının %80'ni üzerinde kolesterol içerdiği için kolesterol taşı olarak sınıflandırıldı. Diğer taş örnekleri ise (%22.7), %30'un üzerindeki bilirubin ve kalsiyum içerikleri nedeniyle kalsiyum bilirubinat taşı olarak değerlendirildi.

**Tablo III.** Safra, taş ve kese duvarından izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları (% olarak)

Izolat (n)	AK	G	MEZ	OFX	AMC	VA	E	CZ	CEC	CTX	CRO	SXT	ATM	C	ME
<i>Escherichia coli</i> (6)	100.0	83.3	83.3	100.0	83.3	-	-	33.3	83.3	100.0	100.0	50.0	100.0	-	-
<i>Enterococcus</i> spp. (6)	83.3	83.3	-	0.0	100.0	100.0	33.3	33.3	-	33.3	33.3	16.7	-	-	-
<i>Enterobacter</i> spp. (4)	100.0	50.0	100.0	100.0	50.0	-	-	0.0	25.0	100.0	100.0	25.0	50.0	-	-
<i>Klebsiella</i> <i>Pneumoniae</i> (2)	50.0	50.0	0.0	100.0	50.0	-	-	0.0	50.0	100.0	100.0	0.0	50.0	-	-
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> (2)	50.0	0.0	50.0	100.0	0.0	-	-	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	50.0	-	-
<i>Salmonella</i> <i>paratyphi B</i> (1)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	-
<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i> (1)	100.0	100.0	-	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	-	-	100.0
Toplam (22) (10) %	(19) 86.4	(16) 72.8	(11) 73.3*	(16) 72.8	(16) 72.8	(7) 100.0*	(3) 42.8*	(5) 22.7	(10) 45.0	(18) 81.8	(18) 81.8	(6) 27.2	(11) 73.3*	(0) 0.0*	(1) 100.0*

(n) : Suş sayısı, - : Değerlendirilmedi, \* : Denenen türler açısından yüzde. (AK): Amikasin.

G : Gentamisin, MEZ: Mezlosilin, OFX: Ofloksasin, AMC: Amoksisilin klavulanat,

VA : Vankomisin, E: Eritromisin, CZ: Sefazolin, CEC: Sefaklor, CTX: Sefotaksim,

CRO : Seftriakson, SXT: Trimetoprim sulfametaksazol, ATM: Aztreonam, C: Kloramfenikol,

ME : Metisillin.

## TARTIŞMA

Kolesistektomi ameliyatları sırasında safra yollarında bakteri bulunmasının ameliyat sonrası komplikasyonları artırdığı bilinmektedir (3,6). Maki ve arkadaşları (2), bakteriyel infeksiyonların pigment taşlarının oluşumunda rol oynadığını ileri sürmüşler, Cetta (4,15) ise safra taşının bakteriyel infeksiyonu takip ettiğini göstermişlerdir. Bakteriyel kökenli enzimler kalsiyum bilirubinat kristallerinin çökmesini, dolayısıyla taş gelişimini hızlandırmaktadır (2,4,5). Ayrıca, taş yüzeyinin özelliği nedeni ile bakterinin tutunması ve biyofilm oluşturulabilmesi de kolaylaşmaktadır (16). Safra taşları ve safra yollarında bakteri kolonizasyonu arasındaki neden-sonuç ilişkisi halen tartışılmaktadır. Ancak ikisinin bir arada bulunduğu da gösterilmektedir (3,6,7). Çeşitli araştırmalarda, kronik taşlı kolesistit tanısı konan hastaların safra kültürlerinde %22.9-%30 oranında üreme olduğu saptanmıştır (4,5). Olaya akut kolanjit eklenmesi ile bu oran %50'nin üzerine çıkmaktadır (6). Koledok taşları ile birlikte infeksiyonlar daha yüksek oranda saptanmaktadır (3,5,6).

Çalışmamızda, kronik taşlı kolesistit ön tanısı ile kolesistektomi uygulanan 72 hastanın safra, taş ve kese duvarı örneklerinde %28.5 oranında üreme görülmüştür (Tablo I). Taş lokalizasyonuna göre üreme değerlendirildiğinde koledok taşlarında üreme oranını %100, safra kesesi taşlarında ise %28.6 olduğu görülmektedir (Tablo II,  $p<0.05$ ). Diğer çalışmalarla uyumlu olarak izole edilen

mikroorganizmalar arasında ilk sırada *Escherichia coli* gelmektedir (3-6). *Enterococcus* türleri de bu mikroorganizma ile eşdeğer oranda üretilmiştir. Bunları, *Enterobacteriace* ailesinin diğer üyeleri ile *Pseudomonas aeruginosa* izlemektedir. Diyabetik bir hastanın örneklerinden *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida* birlikte izole edilmiştir. Safra yollarında *Candida* kolonizasyonuna oldukça az rastlanmaktadır. Ancak, diyabetiklerde infeksiyon etkeni olabildiği bildirilmiştir (17). Ayrıca, bir hastanın örneklerinde *Salmonella paratyphi* B izole edilmiştir. Bu durum, *Salmonella* taşıyıcılığı ile safra kesesi hastalıkları arasındaki ilişkiyi göstermektedir (18-20). Bu nedenle, kolelitiazis ön tanısı ile uygulanan kolesistektomiler sonrası safra ve taş örneklerinin mikrobiyolojik incelemeye gönderilmesinin asemptomatik taşıyıcıların tespit edilmesinde yararlı olduğu düşünülebilir.

Örnekler alınmadan önce antibiyotik uygulanan iki hastada, safra ve kese duvarında üreme olmadığı halde taş örneklerinde üreme saptanması, taş yüzeyinde bulunan bakterilerin antibiyotik etkisinden korunduğunu göstermektedir.

Safra taşı ve safra infeksiyonlarının sıklıkla birlikte bulunabilmesi nedeni ile kolesistektomi ameliyatları öncesinde hastalara profilaktik antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır (7). Kullanım kolaylığı ve geniş etki spektrumları nedeni ile, bu amaçla en sık üçüncü kuşak sefalosporinler seçilmektedir. Çalışmamızda izole edilen mikroorganizmaların çoğunun (%86.4) amikasinle duyarlı olduğu, bunu

sefotaksim ve seftriaksonun eşdeğer oranda izlediği (%81.8) görülmektedir. Saptadığımız bakteriler arasında *Enterococcus spp.* önde gelmektedir. Özellikle sefotaksim gibi 7-metoksiminoyan zinciri içeren sefalosporinlerin ortamda kan veya serum bulunması ile antienterokokkal etkinliğinin arttığına bildirilmesine rağmen, *Enterococcus* türlerine karşı yalnız betalaktam antibiyotiklerle uygulanan tedaviler genellikle başarısız olmaktadır (21-23). Enterokokkal infeksiyonların tedavisinde sıklıkla betalaktam antibiyotiklerle aminoglikozid kombinasyonu uygulanması önerilmektedir (22,23). Son yıllarda, *Enterococcus* türlerinin vankomisine dirençliliğinde artış olduğu bildirilmektedir (24,25). Ancak izole ettiğimiz enterokok suşları arasında vankomisin dirençliliğine rastlanmamıştır.

Çeşitli çalışmalarda, infeksiyöz kökenli taşların kalsiyum bilirubinatat taşları olduğu bildirilmektedir (2-6,15). Bu taşların matrisinde karışık olarak çeşitli enterik bakterilerin ve enterokokların bulunduğu gösterilmiştir

(2,4,26). Speer ve arkadaşları (16), bakterilerin kolesterol taşlarının yüzeylerine de tutunduğunu ve kolesterol kristallerini bir arada tutan amorf bir yapı içerisinde yer aldıklarını göstermişlerdir. Çalışmamızda, üreme saptanan örneklerdeki taşların genellikle (%72.7) pigment ve kolesterolü değişik oranlarda içeren "bileşik yapı" taşlar olduğu görüldü. Kalsiyum bilirubinatat taşlarının olgularımızda elde edilen taş örnekleri arasındaki sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Kronik taşlı kolesistit olgularının yaklaşık üçte birinde üreme saptanması ve bakterilerin safra taşı gelişiminde önemli rolleri bulunması litotripsi ve litolitik tedavi sonrasında sık rekürrens oluşmasını da açıklayabilir.

Sonuç olarak, kolesistektomi ameliyatları sırasında safra ve taş örneklerinin mikrobiyolojik incelemeye rutin olarak gönderilmesi, ameliyat sonrası gelişebilecek bir infeksiyonda etkenin ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesine yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Pereira SP, Hussaini SH, Dowling H. Gallstones. Current Opinion in Gastroenterology 1993; 9: 800-809.
2. Maki T, Matsushiro T, Suzuki N. Clarification of the nomenclature of pigment gallstones. Am J Surgery 1982; 144: 302-305.
3. Smith AL, Stewart L, Fine R et al. Gallstone disease, the clinical manifestations of infectious stones. Arch Surg 1989; 124: 629-633.
4. Cetta F. The role of bacteria in pigment gallstone disease. Ann Surg 1991; 213: 315-326.
5. Kaufman H.S, Magnuson T.H, Lillemo KD, et al. The role of bacteria in gallbladder and common duct stone formation. Ann Surg 1989; 209: 584-592.
6. Pitt HA, Postier RG, Cameron JL. Biliary bacteria, significance and alterations after antibiotic therapy. Arch Surg 1982; 117: 445-449.

7. Reeves-Darby VG, Soloway DR. Biliary infections. Current opinion in Gastroenterology 1993; 9: 817-820.
8. Orda R, Berger SA, Shnoker LA, Gorea A. Penetration of ceftriaxone and cefaperazone into bile and gallbladder tissue in patients with acute cholecystitis. Dig Dis Sci 1992; 37: 1691-1693.
9. Baron EJ, Finegold SM. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. Eighth edition. St Louis, CV Mosby Company 1990; 323-407.
10. Barry AL, Thornsberry C. Susceptibility tests: diffusion test procedures. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). Manual of Clinical Microbiology, Fifth edition. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991; 1117-1125.
11. Roda A, Testi D, Sama G, et al. Enzymatic determination of cholesterol in bile. Clin Chim Acta 1975; 64: 337-341.
12. Wahlefeld AW, Herz S, Bernt E. Modification of the Malloy-Evelyn method for a simple reliable determination of total bilirubin in serum. Scand J Clin Lab Invest 1972; 126 (Suppl): 11-12.
13. Barkun AN, Valette PJ, Mantet JC, et al. Physicochemical determinants of in vitro shock wave biliary lithotripsy. Gastroenterology 1991; 100: 222-227.
14. Sübbüloğlu K. İstatistik. Birinci basım. Ankara, Matis Yayınları, 1978: 157-176.
15. Cetta FM. Bile infection documented as initial event in the pathogenesis of brown pigment billiary stones. Hepatology 1986; 6: 482-489.
16. Speer AG, Cotton PB, Costerton JW, et al. Bacteria adhere to cholesterol gallstones. Gastroenterology 1989; 94: A 593.
17. Radin DR, Johnson MB. Candida cholangitis in a diabetic woman. Am J Roentgenol 1992; 158: 1029-1030.
18. Gülay Z, Gülay H, Yuluğ N. Safra kesesi taşları ve Salmonella taşıyıcılığı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1994; 8: 102-104.
19. Hook EW. Salmonella species (including typhoid fever). In: Mandell GR, Douglas G, Bennett JE (ed). Principles and Practice of Infectious Diseases. Third edition. New York Churchill Livingstone, 1990; 1700-1718.
20. Lai CW, Chan ECY, Chan ARP, et al. Common bile duct stones; a cause of chronic salmonellosis. Am J Gastroenterology 1992; 87: 1198-1199.
21. Buschelman BJ, Jones RN, Bale MJ: Effects of blood medium supplements on activities of newer cephalosporins tested against enterococci. J Clin Microbiol 1994; 32: 565-567.
22. Facklam RR, Washington JA. Streptococcus and related catalase-negative gram positive cocci. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). Manual of Clinical Microbiology, fifth edition. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991; 238-257.
23. Musher DM. Enterococcus species and group D streptococci. In Mandell G, Douglas G, Bennett J (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Third edition, New York, Churchill Livingstone, 1990; 1550-1554.
24. Uttley AAC, Colins CH, Nasdoo J, Gage RC. Vancomycin resistant enterococci. Lancet 1988; 57-58.
25. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanism of glycopeptide resistance in Enterococci. Antimicrobial Agents Chemother 1993; 37: 1563-1571.
26. Leung JWC, Sung JY, Costerton JW. Bacterial and electron microscopy examination of brown pigment stones. J Clin Microbiol 1989; 27: 915-921.