

# KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERDE BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK GRUPLARINA KARŞI DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Özgür GÜLER, Osman AKTAŞ, Hakan USLU

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

## ÖZET

Beta-laktamaz üreten bakterilerin yöremizdeki prevalansı ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını belirlemek amacıyla klinik örneklerden izole edilen 1911 bakteri (870 *Escherichia coli*, 343 *Enterobacter spp.*, 332 *Pseudomonas spp.*, 166 *Acinetobacter spp.*, 50 MRSA, 50 MSSA, 50 MRKNS ve 50 MSKNS) beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere dirençleri yönünden araştırılmıştır. İn-vitro duyarlılık testi NCCLS'de tanımlanan standartlara göre disk difüzyon yöntemi ile; Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı çift disk sinerji testiyle, induklebilir beta-laktamaz (İBL) varlığı direkt induksiyon testiyle, stafilokoklarda beta-laktamaz varlığı nitrocefim diskleriyle araştırılmıştır. Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz olumluluğu en yüksek *Pseudomonas spp.* (% 22.6)'de bulunmuş, bunu *Acinetobacter spp.* (% 20.5), *Enterobacter spp.* (% 16.3) ve *E.coli* (% 10.5) izlemiştir. Stafilokoklarda ise MRSA (% 70) suşları ilk sırada yer almış, bunu sırasıyla MRKNS (% 64), MSSA (% 42) ve MSKNS (% 34) izlemiştir. Gram negatiflere en etkili antibiyotiklerin karbapenemler, netilmisin ve amikasin olduğu gözlenmiştir. GSBL olumlu *Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter spp.* suşlarının tümü amoksisilin-klavulanat, trimetoprim-sulfametoksazol ve ampisilin-sulbaktam dirençli bulunmuştur. *E.coli* ve *Enterobacter spp.* suşlarının en fazla dirençli olduğu antibiyotiğin amoksisilin-klavulanat olduğu görülmüştür. İBL olumlu *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşları trimetoprim-sulfametoksazole, *Enterobacter* suşları da gentamisin ve trimetoprim-sulfametoksazole yüksek oranda dirençli bulunmuştur. Stafilokoklarda, vankomisin ve teikoplanin direnci saptanmamıştır. Beta-laktamaz üretenlerin üretmeyenlere göre antibiyotiklere daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Beta-laktamaz olumlularda en etkili antibiyotiklerin MRSA ve MRKNS suşları için netilmisin, amikasin ve klindamisin; MSSA ve MSKNS suşları için ampisilin-sulbaktam, sefazolin ve klindamisin olduğu; MRSA ve MRKNS için eritromisin ve tetrasiklinin, MSSA ve MSKNS suşları için penisilin en etkisiz antibiyotikler olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, yöremizde çeşitli infeksiyonlardan izole edilen bakterilerdeki beta-laktamaz prevalansının ve bu bakterilerin çeşitli antibiyotiklere dirençlerinin önemli sayılacak düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** antibiyotik duyarlılığı, beta-laktamazlar, GSBL pozitifliği, İBL pozitifliği

## SUMMARY

### Investigation of Presence of Beta-lactamases and Susceptibilities to Various Antibiotic Groups of Bacteria Isolated from Clinical Samples

The purpose of the present study was to determine the prevalence of beta-lactamase (BL) positive bacteria and their susceptibility to various antimicrobials in our region. Totally 1911 bacteria (870 *Escherichia coli*, 343 *Enterobacter spp.*, 332 *Pseudomonas spp.*, 166 *Acinetobacter spp.*, 50 MRSA, 50 MSSA, 50 MRCNS and 50 MSCNS) isolated from clinical samples were investigated for the existence of beta-lactamases and the resistance to various antimicrobials. In vitro susceptibility testing was performed by disk diffusion method according to NCCLS. Extended-spectrum BL (ESBL) detection in Gram-negative bacilli was performed by the double disk synergy test and inducible BL (IBL) by the direct induction test. BL production in staphylococci was detected with the nitrocephine disks. *Pseudomonas spp.* were found to have highest ratio (22.6 %) for BLs production which is followed by *Acinetobacter spp.* (20.5 %), *Enterobacter spp.* (16.3 %) and *E.coli* (10.5 %) in Gram-negative bacilli. In staphylococci, MRSA isolates were the highest BL producers (70 %) which were followed by MRCNS (64 %), MSSA (42 %) and MSCNS (34 %) strains. The most effective antibiotics were found as carbapenems, netilmicin and amikacin for all bacilli. ESBL-producing *Pseudomonas* and *Acinetobacter* strains were resistant to amoxicillin-clavulanate, trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) and ampicillin-sulbactam. Most of *E.coli* and *Enterobacter spp.* strains were resistant to amoxicillin-clavulanate. IBL-producing *Pseudomonas* and *Acinetobacter* strains were highly resistant to SXT and *Enterobacter spp.* resistant to SXT and gentamicin. There was no resistance against vancomycin and teicoplanin in staphylococci. BL-producing bacteria were found more resistant to the antibiotics than non-producers. In the BL producers, the most effective antibiotics were netilmicin, amikacin and clindamycin for MRSA and MRCNS strains, and ampicillin-sulbactam, cefazolin and clindamycin for MSSA and MSCNS strains. The least effective antibiotics were found as erythromycin and tetracycline for MRSA and MRCNS, and penicillin for MSSA and MSCNS strains.

These results showed that BLs prevalence and antibiotic resistance are serious problems in our region.

**Keywords:** antimicrobial susceptibility, beta-lactamases, ESBL production, IBL-production

**Yazışma adresi:** Osman Aktaş, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

GSM: (0532) 739 38 88

e-posta: osaktas@atauni.edu.tr

Alındığı tarih: 04.04.2008, revizyon kabulü: 27.05.2008

## GİRİŞ

İnsanlarla mikroorganizmalar arasındaki savaşta bakterilerin silahlarından biri geliştirdikleri direnç mekanizmalarıdır. Bu direnç mekanizmalarından biri olan beta-laktamaz enzimleri bu çalışmanın öznesini oluşturmaktadır. Beta-laktamazlar (BL), beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasındaki amid bağlarını parçalayarak antibakteriyel etkisini ortadan kaldıran enzimlerdir. Bugüne kadar farklı özellikleri olan 400'den fazla BL tanımlanmıştır. Gram olumlu bakteriler arasında, stafilokok ve enterokoklar BL sentezleyen klinik önemi olan mikroorganizmalardır. Gram olumsuz bakteriler içerisinde ise *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. gibi *Enterobacteriaceae* ailesine ait türler ve *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* spp. gibi fermentasyon yapmayan bakteriler en sık BL üreten mikroorganizmalar arasında yer almaktadır<sup>(6,10,22)</sup>.

Gram olumsuz bakterilerin çoğunda normalde düşük düzeyde üretilen BL'ler, ortamda bir indükleyici bulunması halinde sentezlerinin uyarılması, indükleyici ajan ortadan kalktığında sentezin tekrar bazal seviyeye inmesi nedeniyle, indüklenabilir beta-laktamazlar (İBL) olarak adlandırılırlar. İBL'ler yüksek düzeyde üretildiklerinde karbapenemler hariç tüm beta-laktamları parçalayabilme özelliğindedirler<sup>(12)</sup>.

BL dayanıklı genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin 1980'li yıllarda geliştirilmesinden kısa bir süre sonra nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında plazmid kontrolünde olan çeşitli BL'ler tanımlanmıştır. Bu enzimlere "genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)" adı verilmiştir<sup>(21)</sup>. GSBL'ler; penisilinler, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksım, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi sefalosporinleri hidrolize ederken, karbapenemlere, sefamisinlere ve beta-laktamaz inhibitörü içeren kombinasyonlara etki edemezler<sup>(15,21)</sup>.

Nitrosefin kromojenik bir sefalosporindir. *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, enterokoklar ve anaerobik mikroorganizmalardaki BL üretimini hızlı bir şekilde test etmede ve stafilokoklar tarafından üretilen penisilinazlar

da dahil olmak üzere BL taramalarında kullanılan önemli bir ayıraçtır.

Bakteriler oldukça farklı mekanizmalarla BL yapma yeteneği kazanmakta ve bu bakterilerin yaptığı infeksiyonlarda, tedavide kullanılabilecek antibiyotikleri kısıtlamaktadır. Bu çalışma bir yıllık süreç içerisinde çeşitli kültür örneklerinden izole edilen BL olumlu bakteri türlerinin yöremizdeki prevalansını ve bu bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık durumlarını tespit etmek amacıyla planlanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların; laboratuvar koşullarının yetersizliğinde, BL varlığının tespiti için yeterli zamanın olmadığı acil olguların ampirik tedavisinde hangi antibiyotiklerin tercih edilmesi gerektiğini hatırlatmada katkıda bulunacağı düşünülmüştür.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına, farklı klinik ve polikliniklerden gönderilen örneklerden Mart 2005-Mart 2006 tarihleri arasında üretilen 1911 bakteri konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır. Suşların her biri ayrı hastalara aittir.

**GSBL ve İBL varlığının araştırılması:** GSBL varlığının araştırılmasında çift disk sinerji yöntemi, İBL varlığının araştırılmasında ise "direkt indüksiyon testi" uygulanmıştır. Bunun için Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine McFarland 0.5 standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu yayılmış, GSBL varlığı araştırılırken plağın ortasına amoksisilin-klavulanat diski, çevreye ise merkezden merkeze uzaklığı 25 mm olacak şekilde seftazidim, sefotaksim, seftriakson ve aztreonam diskleri yerleştirilmiştir. 37°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra çevredeki disklerden herhangi birinin inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanat diskinde doğru belirgin bir şekilde genişlemesi olumlu sonuç olarak değerlendirilmiştir. İnhibisyon zonunun çok dar veya geniş olduğu durumlarda diskler arası mesafe 20 mm ve 30 mm olarak ayarlanıp test tekrar edilmiştir<sup>(11)</sup>.

İBL varlığı araştırılırken de ortaya sefoksitin, bundan merkezden merkeze 25 mm uzaklıkta olacak şekilde sefoperazon, seftazidim, sefotaksim, aztreonam, imipenem diskleri (imipenem diski sefotaksim ve sefoperazon diskleri arasında ve merkezden merkeze uzaklıkları 25 mm olacak şekilde) yerleştirilmiş, bu antibiyotiklerden sefoksitin ve imipenem indükleyici ajan olarak kullanılmıştır. 37°C'de 18-20 saat inkübasyondan sonra sefoperazon, seftazidim, sefotaksim, aztreonam disklerinin sefoksitin ya da imipeneme bakan yüzlerinde inhibisyon zonlarının 4 mm ve üzerine daralması İBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir<sup>(1,16)</sup>.

**Stafilokoklardaki beta-laktamaz varlığının araştırılması:** Mikroskop lamının üzerine bir damla saf su damlatılıp buraya nitrosefin (cefinaşe) diski yerleştirilmiştir. Diskin üzerine özeyle bir stafilokok kolonisi sürülüp diskteki renk değişikliği 5. dakika ve 1. saatte gözlenmiştir. Sarıdan kırmızıya olan renk değişikliği olumlu sonuç olarak değerlendirilirken, diskte hiç renk değişikliği olmaması, yani diskten sarı renkte kalması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir.

**Antibiyotik duyarlılık testleri:** Bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları NCCLS tarafından tanımlanan standartlara göre Mueller-Hinton agar'da disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır<sup>(17)</sup>.

**İstatistiksel analiz:** Veriler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Kategorik değişkenlerin analizinde X<sup>2</sup> (ki-kare) testi kullanılmış, elde edilen p<0.05 değerler önemli kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmamızda idrar, kan, yara, kulak, BOS, trakeal aspirat, perikardial sıvı, periton sıvısı, ejakulat, vagen sürüntüsü, bronş lavajı sıvısı ve parasentez sıvısı kültürlerinden izole edilen 1911 bakteri BL üretimi ve antibiyotiklere dirençleri yönünden incelenmiştir. Gram olumsuz çomakların toplam 104'ünde İBL, 143'ünde

GSBL ve 9'unda da hem İBL hem de GSBL olumluluğu saptanmıştır. Gram olumsuz bakteriler içerisinde beta-laktamaz olumluluğu en yüksek oranda tespit edilen bakteriler *Pseudomonas* spp. suşları olmuş bunları *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp. ve *E.coli* suşları izlemiştir. İstatistiksel olarak da *Pseudomonas* spp. (X<sup>2</sup>: 16.893; p<0.0001) ve *Acinetobacter* spp. suşlarının (X<sup>2</sup>: 9.533; p<0.0020) *E.coli* suşlarına göre çok anlamlı derecede yüksek oranda BL ürettikleri saptanmıştır. Bu bakterilerdeki BL üretim özellikleri tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1:** Gram olumsuz bakterilerde saptanan BL tiplerinin dağılımı [n(%)].

Bakteriler (n)	GSBL +	İBL +	GSBL ve İBL +	Toplam
<i>Pseudomonas</i> spp. (n: 332)	9 (2.7)	61 (18.4)	5 (1.5)	75 (22.6)
<i>Acinetobacter</i> spp. (n: 166)	8 (4.8)	25 (15.1)	1 (0.6)	34 (20.5)
<i>Enterobacter</i> spp. (n: 343)	35 (10.2)	18 (5.2)	3 (0.9)	56 (16.3)
<i>E. coli</i> (n: 870)	91 (10.5)	-	-	91 (10.5)

Toplam 200 stafilokok suşunun 105 (% 52.5)'inde nitrosefin diskleriyle BL olumluluğu saptanmıştır. Stafilokoklardaki nitrosefin olumluluğu ise en yüksek olarak metisiline dirençli stafilokok suşlarında tespit edilmiştir. Metisiline dirençli bulunan stafilokokların (67 suş) metisiline duyarlı olanlara (38 suş) göre BL olumluluk oranları arasındaki fark istatistiksel olarak da çok anlamlı bulunmuştur (X<sup>2</sup>: 15.719, p<0.0001). Stafilokoklarda saptanan BL oranları tablo 2'de görülmektedir.

**Tablo 2:** BL olumlulu ve olumsuz stafilokok suşlarının dağılımı [n(%)].

Bakteriler (n)	BL olumlu	BL olumsuz
MRSA (n: 50)	35 (70)	15 (30)
MRKNS (n: 50)	32 (64)	18 (36)
MSSA (n: 50)	21 (42)	29 (58)
MSKNS (n: 50)	17 (34)	33 (66)

Beta-laktamaz olumlu bakterilerin 294 (% 85.7)'ü klinik kaynaklı, 49 (% 14.3)'u poliklinik kaynaklı kültürlerden üretilmiştir.

GSBL ve İBL varlığı tespit edilen Gram olumsuz bakterilerin tamamında en etkili antibiyotik imipenem olduğu tespit edilmiştir. Tablo 3'te İBL, tablo 4'te de GSBL olumlu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık oranları verilmiştir.

**Tablo 3:** İBL olumlu bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranları [n(%)].

Antibiyotik	Enterobacter spp. (n: 18)	Pseudomonas spp. (n: 61)	Acinetobacter spp. (n: 61)
Amikasin	15 (83)	42 (69)	15 (60)
Gentamisin	9 (50)	35 (57)	11 (44)
Netilmisin	15 (83)	49 (80)	18 (72)
Siprofloksasin	14 (78)	34 (56)	17 (68)
Ofloksasin	13 (72)	36 (59)	16 (64)
Trimetoprim-sulfametoksazol	9 (50)	3 (5)	4 (16)
İmipenem	16 (89)	58 (95)	23 (92)
Meropenem	15 (83)	56 (92)	22 (88)

Stafilokok suşlarında, vankomisin ve teikoplanin direnci saptanmamıştır. Nitrosefin olumlu *S.aureus* suşlarında olumsuz olanlara göre anti-

**Tablo 4:** GSBL olumlu bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranları [n(%)].

Antibiyotik	E.coli (n: 91)	Enterobacter spp. (n: 35)	Pseudomonas spp. (n: 9)	Acinetobacter spp. (n: 8)
Amikasin	80 (88)	26 (74)	4 (44)	2 (25)
Gentamisin	54 (59)	14 (40)	2 (22)	2 (25)
Netilmisin	83 (91)	21 (60)	5 (56)	3 (38)
Siprofloksasin	53 (58)	24 (69)	2 (22)	3 (38)
Ofloksasin	57 (63)	23 (66)	3 (33)	3 (38)
Ampisilin-sulbaktam	40 (44)	5 (14)	0	0
Sefoperazon-sulbaktam	75 (82)	24 (69)	2 (22)	4 (50)
Amoksisilin-klavulanat	26 (29)	3 (9)	0	0
Trimetoprim-sulfametoksazol	29 (32)	6 (17)	0	0
İmipenem	90 (99)	33 (94)	8 (89)	7 (88)
Meropenem	88 (97)	31 (89)	7 (78)	6 (75)
Piperasilin-tazobaktam	80 (88)	28 (80)	4 (44)	5 (63)

**Tablo 5:** Nitrosefin testine göre *S.aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları [n(%)].

Antibiyotik	MRSA		MRSA	
	NS + (n:35)	NS - (n:15)	NS + (n:21)	NS - (n:29)
Amikasin	22 (63)	12 (80)	14 (67)	27 (93)
Gentamisin	16 (46)	5 (33)	17 (81)	26 (90)
Netilmisin	24 (69)	10 (67)	16 (76)	28 (97)
Siprofloksasin	12 (34)	8 (53)	16 (76)	28 (97)
Ofloksasin	13 (37)	9 (60)	17 (80)	27 (93)
Ampisilin-sulbaktam	0	0	19 (90)	29 (100)
Sefazolin	0	0	17 (81)	8 (97)
Penisilin	0	0	1 (5)	7 (24)
Trimetoprim-sulfametoksazol	15 (43)	10 (67)	16 (76)	27 (93)
Klindamisin	17 (49)	9 (60)	16 (76)	27 (93)
Eritromisin	7 (20)	6 (40)	17 (80)	27 (93)
Tetrasiklin	10 (29)	5 (33)	17 (81)	27 (93)

\* NS +: Nitrosefin olumlu, NS - : Nitrosefin olumsuz.

biyotiklere daha yüksek oranlarda direnç görülmüştür. Amikasin, netilmisin ve siprofloksasine karşı nitrosefin olumlu ve olumsuz MSSA suşlarının duyarlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) anlamlı bulunmuşken diğer antibiyotiklere karşı böyle bir fark bulunmamıştır. Nitrosefin testine göre *S.aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 5'te karşılaştırılmıştır.

Nitrosefin olumlu MRKNS ve MSKNS suşlarında antibiyotiklere daha yüksek oranlarda direnç görülmüştür. MRKNS ve MSKNS suşlarında amikasine, MRKNS suşlarında gentamisin, klindamisin, eritromisin ve tetrasikline; MSKNS suşlarında ise netilmisin, ofloksasin, sefazolin ve penisiline karşı gözlenen duyarlılık oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Nitrosefin olumluğuna göre koagülaz negatif stafilokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 6'da karşılaştırılmıştır.

**Tablo 6:** Nitrosetin testine göre MRKNS ve MSKNS suşlarında antibiyotik duyarlılıkları [n(%)].

Antibiyotik	MRSA		MRSA	
	NS + (n:32)	NS - (n:18)	NS + (n:17)	NS - (n:33)
Amikasin	20 (62)	16 (89)	11 (65)	31 (94)
Gentamisin	5 (16)	9 (50)	11 (65)	29 (88)
Netilmisin	21 (66)	14 (78)	12 (71)	31 (94)
Siprofloksasin	9 (28)	12 (67)	12 (71)	29 (88)
Ofloksasin	8 (25)	9 (50)	11 (65)	30 (91)
Ampisilin-sulbaktam	0	0	15 (88)	32 (97)
Sefazolin	0	0	14 (82)	33 (100)
Penisilin	0	0	1 (6)	15 (45)
Trimetoprim-sulfametoksazol	15 (47)	11 (61)	12 (71)	29 (88)
Klindamisin	14 (44)	14 (78)	14 (82)	31 (94)
Eritromisin	7 (22)	10 (56)	11 (65)	27 (82)
Tetrasiklin	7 (22)	9 (50)	12 (71)	27 (82)

\* NS +: Nitrosetin olumlu, \* NS -: Nitrosetin olumsuz

## TARTIŞMA

Çeşitli mekanizmalarla antibiyotiklere direnç kazanan patojen bakterilerin oluşturduğu infeksiyonların tedavisi sorunsal olmakta ve bu hastalıklar nedeniyle bireysel ve ulusal ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. BL üretme yeteneğini kazanan bakteriler, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler başta olmak üzere farklı gruptan antibiyotiklere de direnç gösterirler. Bu nedenle bakterilerin BL üretimlerinin araştırılması ve antibiyotik direnç durumlarının izlenmesi bu mikroorganizmalarla oluşmuş infeksiyonların erken ve etkili antibiyotik tedavisine olanak sağlayacaktır<sup>(7,24)</sup>.

Epidemiyolojik ve moleküler düzeyde araştırmaların sıklıkla yapıldığı günümüzde, yurdumuzda daha çok Gram olumsuz bakterilerde beta-laktamaz varlığının araştırılmasına yönelik epidemiyolojik çalışmaların yapıldığı gözlenmektedir. Gram olumlu bakteriler içerisinde beta-laktamaz ürettiği bilinen stafilokokların bu yönüyle prevalansını bildiren çalışmaların yoğunluğu ise daha az kalmaktadır. Bu çalışmada Gram olumsuz bakterilerde GSBL ve İBL üretimlerinin yanı sıra stafilokokkal beta-laktamazlar da araştırılarak yöremizdeki prevalansı hakkında ilk bilgiler elde edilmiştir.

Çalışmamızda *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp., *E.coli* ve koagülaz olumlu ve olumsuz stafilokoklarda beta-laktamaz üretiminin önemli sayılacak boyutlarda ol-

duğu; Gram olumsuz çomaklar içerisinde *Pseudomonas* spp.; stafilokoklarda ise MRSA suşlarının en sık beta-laktamaz üreten bakteriler olduğu görülmüştür.

Yurdumuzun çeşitli yörelerinde yapılan benzer çalışmalarda BL üreten bakterilerin izolasyon oranları bazı bakteriler için kısmen yakın olsa da genellikle farklı olduğu görülmektedir. Tünger ve ark.<sup>(25)</sup> Manisa'da yaptıkları çalışmada GSBL üreten *E.coli* oranını % 13 olarak bildirmişlerdir. Bu sonuç *E.coli* için elde ettiğimiz orana yakındır. Ancak, *Enterobacter* spp. için saptadığımız GSBL oranı bildirilen oranın (% 4.8) iki katından daha fazladır. Buna karşın aynı çalışmada *Enterobacter* ve *Pseudomonas* spp. suşları için tespit edilen İBL olumluluğu (% 19 ve % 48) çalışmamızda elde edilen sonuçla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmektedir. Palabıyıkoglu ve Bengisun<sup>(20)</sup> Ankara'da yaptıkları çalışmada *Pseudomonas*, *Enterobacter* ve *Acinetobacter* spp. suşlarında İBL olumluluğunu (% 72, % 56 ve 29) ise çok daha yüksek bulmuşlardır. Öztıp ve ark.<sup>(19)</sup> Sivas'ta yaptıkları çalışmada *Pseudomonas* spp. suşlarında (indükleyici olarak sefoksitin kullanılması durumunda) İBL olumluluğunu (% 8.7), aynı bakteri için bulduğumuz oranın yarısı kadar bir oranda bildirmişlerdir. Gram olumsuz çomaklarda GSBL ve İBL olumluluğunun yöresel olarak önemli sayılacak bir değişkenlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu farklılık incelenen suş sayılarına, testleri değerlendirme dikkatine ve yıllar içerisinde bakteri-

lerde ortaya çıkan genetik değişimler gibi pek çok etmene bağlı olabilir. Yöremizde daha önce Görgün ve ark.<sup>(9)</sup> tarafından yapılan çalışmada 112 *Pseudomonas* spp. için GSBL olumluluğunun (7/112) bizim çalışmamızdaki orandan (9/332) daha yüksek bulunması olasılıkla incelenen suş sayılarının farklılığından kaynaklandığı düşünülebilir.

Stafilokoklarda BL varlığını bildiren araştırmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Li ve ark.<sup>(14)</sup> nitrofenin diskleri kullanarak MRSA suşlarında % 53.4, MSSA suşlarında % 58.5 oranında BL olumluluğu tespit etmişlerdir. Bu çalışmayla karşılaştırıldığında, çalışmamızda tespit ettiğimiz BL oranı MRSA suşları için yüksek fakat MSSA suşları için düşük bulunmuştur. Yamasaki ve ark.<sup>(27)</sup> metisilin direncine göre sınıflandırma yapmaksızın *S.aureus* suşlarında BL olumluluğunu % 68 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda *S.aureus* suşlarında BL olumluluğunun (% 56) yukarıdaki çalışmalar gibi yüksek oranda olduğu anlaşılmaktadır. Koağulaz olumsuz stafilokoklarda saptadığımız BL olumluluğu ise % 49 olup stafilokokların tümü dikkate alındığında yarısından fazlasının BL ürettiği görülmektedir.

BL üreten bakterilerin duyarlılıklarının da araştırıldığı çalışmamızda, Gram olumsuz bakterilerin tamamında karbapenemler en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. Diğer pek çok çalışmada benzer sonuçlar bildirilmektedir. Örneğin, Yıldız ve ark.<sup>(28)</sup> GSBL olumlu *E.coli* ve *Enterobacter* spp. suşlarının tümünü imipenem ve meropenem karşı duyarlı; Urbarlı ve ark.<sup>(26)</sup> BL özelliğini belirtmeksizin *Pseudomonas* spp. suşlarının bu antibiyotiklere yüksek oranda (% 94, % 85) duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Gram olumsuz bakterilerin tümü dikkate alındığında aminoglikozitler içerisinde gentamisin en az etkili antibiyotik olmuş, amikasin ve netilmisine duyarlılık oranları aynı olmakla beraber GSBL olumlu *Enterobacter* spp.'ler hariç, netilmisin bütün bakterilerde en etkili aminoglikozit olarak gözlenmiştir. Bu sonuçlarla, Ertek ve ark.<sup>(8)</sup> tarafından yöremizde 2002 yılına ait -BL varlığı araştırılmayan- *E.coli*, *Enterobacter* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının söz konusu aminoglikozitlere duyarlılık sırası bir

kez daha teyit edilmiştir. Ancak, aynı yörede yapılan bu iki çalışma karşılaştırıldığında son birkaç yıl içerisinde gentamisin direncinin daha da arttığı anlaşılmıştır.

Çalışmamızda GSBL ve İBL olumlu bakteriler içerisinde kinolon grubu antibiyotiklerden olan siprofloksasinin ofloksasine oranla daha etkili olduğu görülmüştür. Kinolon direnci *Pseudomonas* spp. suşlarında diğer bakterilere göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Yosunkaya ve ark.<sup>(29)</sup> *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus* ve *Acinetobacter* spp. suşlarındaki ofloksasin duyarlılığını, siprofloksasin duyarlılığına oranla daha düşük olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda GSBL olumlu bakteri suşları içerisinde antibiyotiklere karşı en duyarlı bakterinin *E.coli* ve ikinci sırada da *Enterobacter* spp. olduğu görülmüştür. *Pseudomonas* spp. suşlarının yarısından fazlası piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam dirençli bulunmuştur. Ardiç ve ark.<sup>(3)</sup> *Pseudomonas* spp. suşlarındaki sefoperazon-sulbaktam duyarlılığını % 71, piperasilin-tazobaktam duyarlılığını ise % 57 olarak bildirmişlerdir. Bu antibiyotiklere karşı yöremizden izole edilen GSBL olumlu *Pseudomonas* spp. suşlarının oldukça dirençli olduğu anlaşılmaktadır.

GSBL olumlu *E.coli* ve *Enterobacter* spp.'ler için amoksisilin-klavulanat, trimetoprim-sulfametoksazol ve ampisilin-sulbaktamın en etkisiz antibiyotikler olduğu; yine bu antibiyotiklere karşı duyarlı *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşunun bulunmadığı görülmüştür. İBL olumlu *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* spp. suşlarında da trimetoprim-sulfametoksazol için benzer direnç profili izlenmiştir. Urbarlı ve ark.<sup>(26)</sup>, *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacter* spp. suşlarında amoksisilin-klavulanat duyarlılığını (% 0 ve % 13); Yosunkaya ve ark.<sup>(29)</sup> *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus* ve *Enterobacter* spp. suşlarında ampisilin-sulbaktam ve trimetoprim-sulfametoksazol duyarlılıklarını (% 0-18 arasında) düşük bulmuşlardır.

Çalışmamızda BL üreten stafilokok suşlarının çok büyük bir bölümünün BL üretmeyen suşlara oranla antibiyotiklere karşı dirençli olduğu görülmüştür. Örneğin, nitrofenin olumsuz

MRKNS suşlarında % 89 olan amikasin duyarlılığı nitrosefin olumlularda % 63'e kadar; nitrosefin olumsuz MSKNS suşlarında penisilin etkinlik oranı % 45'ten % 6'ya kadar düşmüştür.

Yurdumuzda yapılan çalışmaların çoğunda olduğu gibi incelediğimiz stafilokok suşlarında da vankomisin ve teikoplanine dirençli suş bulunmamıştır. Nitrosefin olumlu ve olumsuz MSSA ve MSKNS suşlarındaki vankomisin ve teikoplaninden sonra en etkili antibiyotikler ampisilin-sulbaktam ve sefazolin olmuştur. Altun ve ark.<sup>(2)</sup> da MSSA ve MSKNS suşlarındaki ampisilin-sulbaktam duyarlılığını (% 98 ve % 100) yüksek olarak bulmuşlardır. İncelediğimiz MSSA ve MSKNS suşlarında en az etkili antibiyotiğin penisilin olduğu bulunmuştur. Arıbaş ve ark.<sup>(4)</sup> tarafından da *S.aureus* ve koagülaz olumsuz stafilokoklarda penisilin direnci için benzer bir sonuç bildirilmiştir.

Çalışmamızda metisilin direnci saptanan stafilokok suşlarında denenen tüm antibiyotiklere karşı, metisilin direnci saptanamayanlara oranla daha yüksek bir direncin olduğu görülmüştür. Küçükateş ve ark.<sup>(13)</sup> metisiline dirençli *S.aureus* suşlarında kinolonlara karşı direncin yüksek olduğunu, metisiline duyarlı *S.aureus* suşlarında ise bu antibiyotiklere direncin gözlenmediğini bildirmektedir. Aynı şekilde, trimetoprim-sulfametoksazol için Altun ve ark.<sup>(2)</sup>, amikasin, gentamisin, netilmisin için Ertek ve ark.<sup>(8)</sup>, tetrasiklin için Öğünç ve ark.<sup>(18)</sup>, eritromisin için Somer ve ark.<sup>(23)</sup> ve klindamisin için de Arıdoğan ve ark.<sup>(5)</sup> stafilokoklarda metisilin direncine bağlı olarak direncin arttığını göstermişlerdir.

Sonuç olarak:

BL üreten bakteri suşlarının çok büyük bir çoğunluğunun klinik kaynaklı oluşu ve gerek Gram olumsuz bakterilerde gerekse stafilokoklarda çeşitli antibiyotik gruplarına karşı giderek artan bir direncin varlığı hastane kaynaklı infeksiyonlara dikkat edilmesi gerektiği konusunda önemli bir gösterge olarak değerlendirilmiştir.

GSBL varlığı tespit edilen Gram olumsuz bakterilerin tamamında sırasıyla imipenem, meropenem, piperasilin-tazobaktam, netilmisin, amikasin ve sefoperazon-sulbaktam; İBL olum-

lu bakterilerde imipenem, meropenem, netilmisin, amikasin, siprofloksasin ve ofloksasin en etkili antimikrobikler olarak bulunmuştur. BL varlığından etkilenmeyen netilmisin, amikasin, siprofloksasin ve ofloksasinin özellikle hayati tehlike oluşturmayan Gram olumsuz bakteri infeksiyonlarında karbapenemlere alternatif olabileceğini düşündüren sonuçlar elde edilmiştir. Stafilokoklarda ise nitrosefin olumlu MRSA suşları için sırasıyla netilmisin, amikasin, klindamisin ve gentamisin; MRKNS suşları için netilmisin, amikasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve klindamisin; MSSA suşları için ampisilin-sulbaktam, gentamisin, ofloksasin, sefazolin, eritromisin ve tetrasiklin; MSKNS suşları için ampisilin-sulbaktam, sefazolin, klindamisin, netilmisin, siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol diğer antibiyotiklere göre daha etkili bulunmuştur. Stafilokok infeksiyonu düşünüldüğünde etkenin beta-laktamaz üreten ve metisiline de dirençli bir suş olma olasılığı dikkate alınmalıdır. Elde ettiğimiz in-vitro duyarlılık oranlarına göre netilmisin ve amikasin duyarlı bakterilerin oranı yüksek bulunsa da gözlenen gentamisin direncinden dolayı bu antibiyotiklerin klinik etkinliklerinin sınırlı olabileceği de dikkate alınarak ampirik tedavi amacıyla glikopeptidlerin kullanılmadığı durumlarda klindamisin ve trimetoprim-sulfametoksazolün tercih edilebilecek antibiyotikler arasında yer aldığı akılda tutulmalıdır.

İnfeksiyona neden olan bakteriyel etkenlerle mücadele için tedavide o etkenin duyarlı olduğu uygun antibiyotik ya da antibiyotiklerin kullanılması gerekir. Böylece hasta kısa zamanda sağlığına kavuşacağı gibi iş gücü kaybı daha az olacak, yaşadığı ülkenin ekonomik kaybı da en aza indirilecektir. Ancak, etkenin antibiyotik duyarlılığı bilinmiyorsa daha önce yapılmış çalışmaların sonuçları dikkate alınarak ampirik tedavi uygulanabilir. Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen sonuçların özellikle laboratuvar olanaklarının sınırlı olduğu yerleşim bölgelerinde hekimlere yararlı olacağı inancındayız.

## KAYNAKLAR

1. Akata F: Gram negatif bakterilerde beta-lakta-

- maz tipleri ve antibiyogramdan beta-laktamaz tipini tayin etmede kullanılabilecek yöntemler, *İnfeksiyon Derg* 1997;(11)3:303-9.
2. Altun B, Kocagöz S, Haşçelik G, Uzun Ö, Akova M, Ünal S: Çeşitli hastanelerde izole edilen stafilokok suşlarının fusidik asit ve sık kullanılan diğer antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003;33(1):8-11.
  3. Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T: Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2004;18(3):145-8.
  4. Arıbaş ET, Özcan M, Altındiş M: Klinik örneklerden izole edilen stafilokokların antibiyotik direnç oranları, *İnfeksiyon Derg* 2001;15(1):73-7.
  5. Arıdoğan A, Atasever L, Bal Ç: Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004;34(1):20-3.
  6. Bush K: New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on selection of antimicrobial therapy, *Clin Infect Dis* 2001;32(7):1085-9.
  7. Çakır N: Rasyonel olmayan antibiyotik kullanımının ekonomik sonuçları, *Klinik Derg* 2001;14(2):35-40.
  8. Ertek M, Yazgı H, Özkurt Z, Uyanık MH, Aktaş O: Hastane izolatlarında aminoglikozit direnci, *ANKEM Derg* 2003;17(4):400-4.
  9. Görgün S, Ertek M, Yazgı H, Çelebi S, Kayhan CB: Nazokomiyal enfeksiyonlu olgulardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı, *İnfeksiyon Derg* 2000;14(3):379-82.
  10. Gülay Z: İndüklenebilir beta-laktamazlar; özellikleri, epidemiyolojisi ve klinik önemi, "Ulusoy S (ed): Beta-laktamazlar ve Klinik Önemi" kitabında s.45-69, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
  11. Jarliler V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A: Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns, *Rev Infect Dis* 1998;10:867-78.
  12. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E: Pathogens resistant to antimicrobial agents. Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management, *Infect Dis Clin North Am* 2000;14(2):293-319.
  13. Küçükateş E, Kocazeybek B, Karayel EN, Ayyıldız A, Ordu A, Gülsoy Ö: Stafilokok suşlarının kinolonlara duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003;33(1):16-8.
  14. Li XF, Fan XJ, Guo XJ et al: A study on the mechanism of drug resistance in *Staphylococcus aureus*, *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006;37(3):365-8.
  15. Livermore DM, Williams JD: Beta lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance, "Lorian V (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine, Fourth ed." kitabında s.502-78, Williams & Wilkins, Baltimore (1996).
  16. Morton V:  $\beta$ -lactamase induction test for gram-negative bacilli, "Isenberg HD (ed): Clinical Microbiology Procedures Handbook, Section 5: Hindler J (Sec.ed.) Antimicrobial Susceptibility Testing" kitabında s 5.7, American Society for Microbiology, Washington (1992).
  17. National Commitee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, NCCLS Approved Standard M2-A8, National Commitee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA (2003).
  18. Ögünç D, Vural T, Çolak D, Gültekin M, Mutlu G: Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli koagülaz-negatif stafilokok suşlarının antibiyotiklere direnç özellikleri, *İnfeksiyon Derg* 1998;12(2):157-60.
  19. Öztop Y, Şanlıdağ T, Saygı G: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarından indüklenebilir beta-laktamazların belirlenmesinde iki farklı indükleyici ajanın etkinliğinin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 1998;12(2):169-72.
  20. Palabıyıkoglu İ, Bengisun S: Hastanede yatan hastalardan izole edilen Gram negatif çomaklarda seftazidim ve sefepimin in vitro etkinliklerinin karşılaştırılması ve indüklenebilir  $\beta$ -laktamazların araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999;29(3-4):158-61.
  21. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH: Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13 (Suppl 1):S17-29.
  22. Sanders CC: Beta-lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs, *Clin Infect Dis* 1992;14(5):1089-199.
  23. Somer A, Yalçın I, Öngen B, Sarıbeyoğlu E, Salman N, Gürler N: Pedyatrik enfeksiyon hastalıkları servisinde yatan hastalardan izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antimikrobiklere direnç durumları, *İnfeksiyon Derg* 2000;14(3):369-72.
  24. Tunger A, Hilmioğlu S, Dibek MA, Çavuşoğlu C, Aktaş L, Özkan F, Özinel MA: Hastane enfeksiyonu etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişlemiş



- spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 1998;12(2):165-8.
25. Tünger Ö, Arısoy AS, Özbakkaloğlu B, Gazi H: Nozokomiyal Gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz varlığının araştırılması, *Flora* 2001;6(1):37-41.
  26. Urbarlı A, Arı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Özgenç O: İdrar örneklerinden soyutlanan gram-olumsuz bakteriler ve antibiyotik direnç oranları, *İnfeksiyon Derg* 2001;15(2):249-53.
  27. Yamasaki K, Nishio H, Komatsu M: Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase types among clinical isolates during January and February 2000 in the Kinki area of Japan, *Jpn J Antibiot* 2002;55(Suppl A):65-78.
  28. Yıldız Ü, Durmaz G, Us T, Akgün Y: Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılanan enterik bakterilerin meropenem, imipenem, seftadizim ve sefepim duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 2000;14(3):373-7.
  29. Yosunkaya A, Tuncer S, Reisli R, Uzun S, Ökesli S: Reanimasyon ünitemizde 1999-2000 yılları arasında gözlenen hastane enfeksiyonları, *Hastane İnfeksiyon Derg* 2002;6(2):92-7.