

BETA-LAKTAMAZ ENZİMİ ÜRETEN VE ÜRETMİYEN GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE BETA-LAKTAM GRUBU ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Ömer KOCABEYOĞLU¹, Erdoğan KOŞAN², Kenan KESKİN²,
Hakan ÖZTÜRKERİ¹, Serhan SAKARYA²

ÖZET

Birçok türü bulunan bakteri beta-laktamaz enzimleri, beta-laktam antibiyotikleri parçalayarak etkisiz hale getirirler. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 150 Gram negatif bakteri suşunda asidimetrik yöntemle penisilinaz ve kromojenik sefalosporin yöntemiyle sefalosporinaz enzimleri araştırılmış ve bu bakteriler, beta-laktam grubundan 18 antibiyotige karşı disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Bakterilerin % 17'sinde penisilinaz ve % 26'sında sefalosporinaz enzimi pozitif bulunmuştur. Penisilinlerden piperasiline (% 30-35) ve sefalosporinlerden seftazidime (% 12-18) en düşük oranda direnç saptanmıştır. Beta-laktamaz enzimi üreten ve üretmeyen bakterilerdeki beta-laktam antibiyotiklere dirençte önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

SUMMARY

Antibiotic resistance of Gram negative bacteria with or without beta-lactamase production.

Various beta-lactamase enzymes which break beta-lactam antibiotics into ineffective compounds, are present. Penicillinase with acidimetric assay and cephalosporinase with chromogenic cephalosporin assay were investigated in 150 Gram negative bacteria isolated from various clinical material. Antibiotic resistance were also investigated in these bacteria against 18 antibiotics by using disk diffusion test. Penicillinase and cephalosporinase enzymes were detected in 17 % and 26 % of these bacteria respectively. The lowest resistance rate was detected for piperacilline (30-35 %) among penicillins and for ceftazidime (12-18 %) among cephalosporins. No difference has been observed related with antibiotic resistance in Gram negative bacteria with or without beta-lactamase production.

GİRİŞ

Beta-laktam antibiyotikler olan penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotiklerin bakterilerdeki hedefi PBP (penicillin - binding protein)'lerdir. PBP' ler hücre çeperi sentezinde rol alan enzimler olup, bunların birçok çeşidi bulunmaktadır. Farklı beta-laktam antibiyotikler, bakterilerdeki değişik PBP' leri hedef alırlar. Beta-laktam antibiyotiklerin bakteri PBP'lerine bağlanması ile hücre çeperi yapımı bozulurken, diğer taraftan, otolitik enzimleri aktive ederek bakterinin ölümüne yol açarlar (17).

Streptococcus pyogenes ve *Streptococcus pneumoniae* dışındaki bakterilerin çoğu beta-laktam antibiyotikleri parçalayan enzimler oluşturabilmektedirler(19).

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, 1) Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, 2) Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul.

Çeşitli bakterilerden çok sayıda beta-laktamaz elde edilmiştir. Bunlar substrat profillerine göre penisilin beta-laktamazı (penisilinaz) ve sefalosporin beta-laktamazı (sefalosporinaz) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Antibiyotik direnci plazmidler aracılığı ile birçok bakteriye yaygın biçimde bulaşmaktadır. Bu şekilde direnç bulaşması Gram negatif bakteriler arasında da yaygın biçimde görülmektedir (5, 15).

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif bakterilerde penisilinaz ve sefalosporinaz üretme sıklığı ile penisilinaz ve sefalosporinaz üreten ve üretmeyen suşlar arasında beta-laktam grubu antibiyotiklere direncin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servis Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 150 Gram negatif bakteri biyokimyasal özelliklerine göre idantifiye edilmiştir. Daha sonra tüm bakterilerde asidimetrik yöntemle penisilinaz ve kromojenik sefalosporin (nitrosefin) yöntemiyle sefalosporinaz enzimleri araştırılmıştır(11). Penisilinaz üreten ve üretmeyen bakterilerde ampisilin, ampisilin+sulbaktam, amoksisilin, amoksisilin+klavulanat, karbenisilin ve mezlosilin, penisilin G ve piperasiline; sefalosporinaz üreten ve üretmeyen bakterilerde ise, sefadroksil, sefazolin, sefalotin, sefuroksim, sefoksitin, sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, seftizoksim ve seftriaksona duyarlılık oranları disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır (16, 17).

BULGULAR

Penisilinaz üretimi 150 Gram negatif bakterinin 26'sında (% 17) pozitif, 124'ünde (% 83) ise negatif bulunmuştur. Sefalosporinaz üretimi ise suşların 39'unda (% 26) pozitif, 111'inde (% 74) negatif bulunmuştur.

İzole edilen 150 Gram negatif bakterinin 14'ü *Klebsiella pneumoniae*, 20'si *Proteus vulgaris*, 49'u *Pseudomonas aeruginosa*, geriye kalan 67 suş ise *Escherichia coli* idi. Bu bakterilerin penisilin grubu antibiyotiklere karşı direnç oranları tablo 1'de, sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç oranları ise tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 1. Gram negatif bakteriler arasında penisilin grubu antibiyotiklere direnç oranları (%).

Antibiyotikler	Klebsiella (Sayı 14)	Proteus (Sayı 20)	Pseudomonas (Sayı 49)	E.coli (Sayı 67)
Ampisilin	100	55	96	58
Ampisilin+sulbaktam	21	40	88	28
Amoksisilin	93	65	98	87
Amoksisilin+klavulanat	21	75	88	13
Karbenisilin	93	55	90	72
Mezlosilin	57	60	41	46
Penisilin G	100	100	92	99
Piperasilin	21	20	35	33

Tablo 2. Gram negatif bakteriler arasında sefalosporin grubu antibiyotiklere direnç oranları (%).

Antibiyotikler	Klebsiella (Sayı 14)	Proteus (Sayı 20)	Pseudomonas (Sayı 49)	E.coli (Sayı 67)
Sefadroksil	74	50	82	52
Sefazolin	7	65	59	31
Sefalotin	57	65	88	60
Sefuroksim	0	55	94	31
Sefoksitin	14	35	90	18
Sefoperazon	14	55	29	9
Sefotaksim	7	30	35	9
Seftazidim	7	25	20	7
Seftizoksım	7	25	49	9
Seftriakson	0	40	41	9

Penisilinaz pozitif suşlar arasında penisilin G'ye % 100, ampisiline % 73, ampisilin+sulbaktama % 46, amoksisiline % 81, amoksisilin+klavulanata % 35, karbenisiline % 73, mezlosiline % 50 ve piperasiline % 35 direnç saptanırken penisilinaz negatif suşlar arasında penisilin G'ye % 96, ampisiline % 74, ampisilin+sulbaktama % 50, amoksisiline % 92, amoksisilin+klavulanata % 42, karbenisiline % 79, mezlosiline % 47 ve piperasiline % 30 direnç saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Penisilinaz pozitif ve negatif Gram negatif bakteri suşlarında penisilin grubu antibiyotiklere duyarlılık ve direnç oranları (sayı ve %).

Antibiyotikler	Penisilinaz enzimi					
	Pozitif (Sayı 26)			Negatif (Sayı 124)		
	Dirençli	Orta	Duyarlı	Dirençli	Orta	Duyarlı
Ampisilin	19 (73)	-	7 (27)	92 (74)	7 (6)	25 (20)
Ampisilin+sulbaktam	12 (46)	1 (4)	13 (50)	62 (50)	6 (5)	56 (45)
Amoksisilin	21 (81)	-	5 (19)	114 (92)	-	10 (8)
Amoksisilin+klavulanat	9 (35)	4 (15)	13 (50)	52 (42)	13 (10)	59 (48)
Karbenisilin	19 (73)	5 (19)	2 (8)	97 (79)	18 (14)	9 (7)
Mezlosilin	13 (50)	5 (19)	8 (31)	58 (47)	2 (21)	40 (32)
Penisilin G	26 (100)	-	-	119 (96)	-	5 (4)
Piperasilin	9 (35)	3 (11)	14 (54)	37 (30)	30 (24)	57 (46)

Sefalosporinaz pozitif suşlar arasında sefadroksile % 74, sefazoline % 38, sefalotine % 74, sefuroksim ve sefoksitine % 49, sefoperazon ve sefotaksime % 26, seftazidime % 18, seftizoksime % 21 ve seftriaksona % 28 direnç saptanırken sefalosporinaz negatif suşlar arasında sefadroksile % 60, sefazoline % 44, sefalotine % 68, sefuroksime % 53, sefoksitine % 41, seftriakson ve sefoperazona % 21, sefotaksime % 18, seftazidime % 13 ve seftizoksime % 25 oranında direnç saptanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Sefalosporinaz pozitif ve negatif Gram negatif bakteri suşları arasında sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık oranları (sayı ve %).

Antibiyotikler	Sefalosporinaz enzimi					
	Pozitif (Sayı 39)			Negatif (Sayı 111)		
	Dirençli	Orta	Duyarlı	Dirençli	Orta	Duyarlı
Sefadroksil	29 (74)	7 (18)	3 (8)	67 (60)	29 (26)	15 (14)
Sefazolin	15 (38)	5 (13)	19 (49)	49 (44)	14 (13)	48 (43)
Sefalotin	29 (74)	6 (15)	4 (10)	75 (68)	17 (15)	19 (17)
Sefuroksim	19 (49)	11 (28)	9 (23)	59 (53)	28 (25)	24 (22)
Sefoksitin	19 (49)	-	20 (51)	46 (41)	17 (15)	48 (43)
Sefoperazon	10 (26)	11 (28)	18 (46)	23 (21)	37 (33)	51 (46)
Sefotaksim	10 (26)	3 (8)	26 (67)	20 (18)	24 (22)	67 (60)
Seftazidim	7 (18)	2 (5)	30 (77)	14 (13)	13 (12)	84 (76)
Seftizoksim	8 (21)	5 (13)	26 (67)	28 (25)	15 (14)	68 (61)
Seftriakson	11 (28)	3 (8)	25 (64)	23 (21)	23 (21)	65 (59)

TARTIŞMA

Bakterilerde beta-laktamaz üretimi en önemli antibiyotik direnç mekanizmalarından birisini oluşturmaktadır. Bu direnç aktarılabılır niteliktedir, yani plazmidler aracılığı ile diğer bakterilere bulaştırılabilmektedir. Bu yüzden direnç oluşmasını önlemek amacıyla antibakteriyel tedavi mutlaka gerekli olduğu zaman ve uygun antibiyotik seçilerek yapılmalıdır.

Aksoy ve ark. (2) Gram negatif bakteriler arasında beta-laktamaz üretme oranını % 33 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda izole edilen Gram negatif bakterilerin % 17'si penisilinaz, % 39'u ise sefalosporinaz üretmiştir.

Gerek penisilinaz üreten bakterilerle ve üretmeyenler arasında penisilin grubu antibiyotiklere direnç bakımından, gerekse sefalosporinaz üreten bakterilerle üretmeyenler arasında sefalosporin grubu antibiyotiklere direnç bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgu ilk bakışta mevcut direncin beta-laktamaz kökenli olmadığı şeklinde algılanabilir. Ancak Gram pozitif bakteri beta-laktamazlarının ekstraselüler olmasına karşın, Gram negatif bakteri beta-laktamazlarının hücreye bağlı ve bunların bir kısmının da indüklenebilen enzimler olduğu unutulmamalıdır (17).

Tüm bakteriler arasında en yaygın olarak penisilin G'ye karşı direnç saptanmıştır. Bu oranlar *Klebsiella* ve *Proteus* için % 100, *Pseudomonas* için % 92 ve *E.coli* için % 99 bulunmuştur. Babacan ve ark. (3) idrar kültürlerinden izole ettikleri 407 *E.coli* suşunun penisilin G'ye % 3.7 gibi çok düşük bir oranda duyarlı olduklarını bildirmişlerdir.

Klebsiella suşlarında en düşük direnç oranları penisilin grubu antibiyotiklerden ampicilin+sulbaktam (% 9) ve piperasiline karşı (% 9) bulunmuştur. Üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftriaksona karşı dirençli suş saptanmamıştır. Kılıç ve ark. (14) *Klebsiella* suşlarında en yüksek oranda duyarlılığı, penisilinlerden piperasiline (% 35.4), sefalosporinlerden seftazidim ve seftriaksona karşı (% 93.8) saptadıklarını bildirmişlerdir. Kılıç ve ark. (13) bir başka çalışmalarında *Klebsiella* suşlarının en yüksek oranda (% 62.5) duyarlı olduğu antibiyotikğin yine seftriakson olduğunu bildirmişlerdir. Fazlı ve ark. (10)da *Klebsiella* suşları ile yaptıkları bir çalışmada, piperasiline % 78 oranında duyarlılık saptamışlardır. Cengiz ve ark. (4) *Klebsiella* suşlarında seftriaksona % 7.4 oranında direnç

bildirmişler, buna karşılık Gür ve ark. (12)'nin bulgularına göre seftriakson direnci % 31'dir.

Proteus suşlarında en düşük direnç oranları penisilinlerden piperasiline (% 20), sefalosporinlerden seftazidim ve seftizoksime (% 25) karşı bulunmuştur. Farklı iki çalışmada *Proteus* suşları arasında en yüksek duyarlılık oranları seftriaksona karşı bildirilmiştir (6, 14).

Pseudomonas suşları arasında en düşük direnç oranı penisilinlerden piperasiline (% 35) ve sefalosporinlerden seftazidime karşı (% 20) bulunmuştur. *Pseudomonas* suşları ile ilgili çeşitli çalışmalarda piperasiline % 31-48, seftazidime % 43-48 ve sefoperazona % 59 oranında direnç bildirilmiştir (1, 7, 8, 9, 18).

E.coli suşları arasında en düşük direnç oranları penisilinlerden amoksisilin+klavulanata (% 13), sefalosporinlerden de seftazidime karşı (% 7) bulunmuştur. Kılıç ve ark. (14) 349 *E.coli* arasında en yüksek duyarlılık oranını seftriaksona (% 92.4) bildirmişlerdir. Babacan ve ark. (3) 407 *E.coli* ile yaptıkları çalışmada en yüksek duyarlılığı amoksisilin+klavulanata karşı (% 87.5) bildirmişlerdir. Cengiz ve ark. (4) *E. coli* suşlarında seftriaksona karşı % 1.5 oranında direnç bildirmişlerdir. Durupınar ve ark. (9) yara kültürlerinden izole ettikleri *E.coli* suşları arasında sefotoksime % 61 oranında duyarlılık bildirmişlerdir.

Çeşitli merkezlerde yapılan çalışmaların sonuçları arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar kullanılan yöntemlerden kaynaklanmış olabileceği gibi, doğal olarak farklı bölgelerden izole edilen bakterilerdeki direnç paterninin farklılığından da kaynaklanabilir. Bu nedenle her merkez kendi suşlarını tanımalı ve antibiyotik duyarlılık paternlerini bilmelidir. Daha fazla direnç gelişmesinin önlenmesi ve tedavinin daha etkin biçimde yapılabilmesi için bu konunun önemi büyüktür.

Gram negatif bakterilerdeki beta-laktam antibiyotiklerine direnç sadece beta-laktamaz enzimlerinden kaynaklanmamaktadır. Ayrıca bu bakteri beta-laktamazlarının hücreye bağlı ve bir bölümünün de indüklenebilen enzimler olmaları nedeniyle rutin laboratuvar yöntemleriyle saptanmalarının kolay olmayacağı unutulmamalıdır(11).

KAYNAKLAR

1. Akın A, Ommaty MR: *Pseudomonas*'ların antibakteriyellere dirençlilikleri üzerinde bir çalışma, *İnfeksiyon Derg* 2: 381 (1988).
2. Aksoy AM, Özsan M, Ural O, Ekmen H: Çeşitli hastalık materyallerinden izole edilen bakteri suşlarının sefoperazon ve sulbaktam/sefoperazon kombinasyonuna karşı duyarlılıklarının in-vitro araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 27: 216 (1993).
3. Babacan M, Balkan R, Ayyıldız A: Üriner infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının beta-laktam ve aminoglikozit grubundan çeşitli antibiyotiklere ve sulfametoksazol+trimetoprim'e duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 4: 557 (1990).
4. Cengiz AT, Cengiz L, Mumcu E, Erdem B, Öztöpcü C: Çeşitli hastalık materyalinden üretilen mikroorganizmaların ceftriaxone'a duyarlılığı, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 19: 116 (1989).
5. Cooksey RC: Mechanisms of resistance to antimicrobial agents "Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s.1101, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
6. Coşkun Ş, Yücedağ G, Önder Y, Ünlü E: İdrar yolu infeksiyonlarında izole edilen bakteriyel etkenler ve bunların antimikrobiklere karşı duyarlılıklarının son dört senelik değerlendirilmesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 21: 167 (1991).

7. Çelikdemir İ, Çakır N, Yüce A, Bahar İH: Hastalardan soyutlanan Staphylococcus ve Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 18: 87 (1988).
8. Çuhadar F, Keskin K, Yenen OŞ: Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonları ve antibiyotik duyarlılık eğilimleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 21: 150 (1991).
9. Durupınar B, Özkuyumcu C, Dikmen N: Yara enfeksiyonlarında izole edilen Gram negatif bakteriler ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 23: 238 (1989).
10. Fazlı ŞA, Aksebzeci T: Çeşitli hastalık materyallerinden izole edilen bakterilerin geniş spektrumlu antibiyotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 23: 356 (1989).
11. Gunn BA, Keiser JF, Almazan RD: Culture media, test, and reagents in bacteriology "Howard BJ (ed): *Clinical and Pathogenic Microbiology*, 1. baskı" kitabında s.849, Mosby Co, Toronto (1987).
12. Gür D, Kocagöz T, Akalın HE: Gram negatif nozokomiyal bakteriyemi etkenlerine karşı çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkinliği, *Mikrobiyol Bült* 26: 233 (1992).
13. Kılıç SS, Felek S, Aşçı Z, Barlas H, Sıtkı O: İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 4: 571 (1990).
14. Kılıç H, Karahan M: İdrar yolu enfeksiyonlarında izole edilen Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 25: 28 (1991).
15. Mitsuhashi S, Inoune M, Masuyoshi S: Antibacterial activity of cefotaxime, *J Anti-microb Chemother* 6 (Suppl A): 37 (1980).
16. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*, 4. baskı, Approved Standard, NCCLS Document M2-A4, Villanova (1990).
17. Tilton RC, Howard RJ: Antimicrobial susceptibility testing "BJ Howard (ed): *Clinical and Pathogenic Microbiology*, 1. baskı" kitabında s.121, Mosby Co, Toronto (1987).
18. Yılmaz E, Kocabeyoğlu Ö, Gün H, Emekdaş G, Küçükaraaslan A: Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının kemoterapötiklere duyarlılıklarının araştırılması, *GATA Bült* 30: 691 (1988).
19. Yüce K: *Antibiyotikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir (1988).