

## SALMONELLA TÜRLERİNDE BETA-LAKTAMAZ AKTİVİTESİ VE AMPICİLLİN DİRENCİ

Hüseyin GÜN\*, Mehmet BAYSALLAR\*\*, Ayten KÜÇÜKKARAASLAN\*\*\*, Ahmet BAŞUSTAOĞLU\*\*, Ali ALBAY\*\*\*

*Anahtar Terimler: Salmonella, Beta-laktamaz, Ampicillin*  
*Key Words: Salmonella, Beta-lactamase, Ampicillin*

### OZET

Salmonelloz tedavisinde ilk seçenek antibiyotikler olan chloramphenicol ve ampicillin'e direnç giderek artmaktadır. Bu direnç genellikle plazmid kaynaklı beta-laktamaz aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Antibiyotik direncinin bakteriden bakteriye aktarılmasında plazmid transferinin kolaylığı önemli bir rol oynar.

Bu çalışmada gaita ve kan örneklerinden elde edilen toplam 97 salmonella suşunun beta-laktamaz aktiviteleri ve ampicillin direnci araştırıldı. Bu bakterilerin 38(% 39.1)'inde beta-laktamaz enziminin varlığı saptandı. S.schottmuelleri'nin beta-laktamaz pozitif bir suşu hariç beta-laktamaz enzimine sahip bütün salmonella türlerinde ampicillin'e karşı direnç saptandı.

### SUMMARY

#### **Beta-Lactamase Activity and the Resistance of Ampicillin in Salmonella Species**

Resistance to chloramphenicol and ampicillin, first choice drugs in the treatment of salmonellosis, has been increasing day to day. This resistance generally depends on plasmid mediated beta-lactamase activity.

The ease of plasmid tranfering plays an important role in the spread of antibiotic resistance from one bacterial strain to another.

In this study, beta-lactamase activity and the resistance of ampicillin in totally 97 salmonella strains isolated from stool and blood specimens were investigated. Beta-lactamase activity was detected in 38 of these bacteria. Except for a beta-lactamase positive strain of S.schottmuelleri, the resistance of ampicillin was detected in all salmonella strains having beta-lactamase enzyme.

### GİRİŞ

Salmonelloz halen dünyanın bir çok bölgesinde önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Centers for Disease Control (CDC) raporlarında salmonelloz

\* GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD.Bşk.Doç.Dr.

\*\* GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD.Yrd.Doç.Dr.

\*\*\* GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD.Doktora öğrencisi

olgularının son 15 yılda iki kat arttığı belirtilmektedir. Bu sayı 1968 yılında 19.659 iken, 1983 yılında 38.881 rakamına ulaşmıştır(1).

Antimikrobiyal ajanın seçimi ve kullanma süresi, salmonella türlerinin yol açtığı hastalık sendromlarını etkiler. Antimikrobiyal tedavi, geçici intestinal taşıyıcılar ve enterokolitli hastaların çoğunda önerilmemesine rağmen, tifo ve bakteriyemili hastalarda ampisillin ve chloramphenicol hayat kurtarıcıdır(2).

İlk defa 1970 yılında A.B.D. ve Meksika'da salmonella türleri arasında gösterilen chloramphenicol ve ampisillin'e direnç giderek artmaktadır(1,3,4).

Salmonella türlerinde ampisillin direnci genellikle TEM-1 ya da OXA-1 beta-laktamazlarının üretimine bağlı olarak gelişir. Bu enzimlerin genetik determinatları genellikle plazmidler üzerinde 2-143.7Md diziliminde bulunmakla birlikte OXA-1 geninin yarısı kromozomal olarak bulunur(5).

Bu çalışmada, infeksiyon örneklerinden bakteriyoloji laboratuvarında izole ve identifiye edilen chloramphenicol'e direnci % 29 olarak saptanan salmonella türlerinin; chloramphenicol'e alternatif ilaç olan ampisillin'e karşı oluşturdukları direnç ve beta-laktamaz etkinlikleri araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

GATA ve Askeri Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesine başvuran hastaların gaita ve kan kültür örneklerinden izole edilen 97 salmonella suşu üzerinde çalışılıp ampisillin direnci ve beta-laktamaz aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Gaita örneklerinin kültürleri Selenit-F zenginleştirme besiyeri ve SS agar, kan örneklerinin kültürleri ise bifazik kan kültür şişeleri (Oxoid Signal Blood Culture System, England) kullanılarak yapıldı. Üreyen bakterilerin identifikasyonunda standart biyokimyasal yöntemler(6) ve salmonella antiserumları(Difco Laboratories-USA) kullanıldı.

Gaita ve kan örneklerinden izole edilen bütün salmonella suşlarının ampisillin direnci Mueller-Hinton agarda, Kirby-Bauer disk difüzyon duyarlılık yöntemi ile saptandı(7).

Nitrosetin hidrolizi beta-laktamaz aktivitesinin hızlı bir göstergesidir. Beta-laktamaz aktiviteleri bir ucu nitrosetin ile doyurulmuş kromojenik cephalosporin içeren çubuklar (Oxoid Identification Sticks, Beta-Lactamase BR66, England) kullanılarak araştırıldı. Çubukların sarı renkli olan nitrosetin emdirilmiş ucu saf su ile nemlendirilerek besiyerindeki test edilecek bakteri kolonileri ile bulaştırıldı. Beş dakikalık inkübasyon sonrası sonrası beta-laktamaz pozitif olgularda sarı rengin kırmızıya dönüştüğü gözlemlendi. Negatif olarak değerlendirilenler 15 dakika daha inkübasyona bırakılıp yeniden değerlendirildi ve herhangi bir renk değişimi göstermeyenlerin negatifliği doğrulandı.

## BULGULAR

Gaita ve kan örneklerinden izole edilen toplam 97 salmonella suşundan 28'i *S.schottmuelleri*, 25'i *S.typhimurium*, 14'ü *S.enteritidis*, 12'si *S.typhi*, 6'sı *S.hirschfeldii*, 6'sı *S.newport*, 4'ü *S.paratyphi A*, 2'si *S.ontario* olarak saptandı ve bunların beta-laktamaz aktiviteleri araştırıldı (Tablo I). Sonuçta 38(% 39.1) salmonella suşunda beta-laktamaz enzimi pozitif bulundu.

Tablo I:Salmonella suşlarının türlere göre dağılımı ve beta-laktamaz aktiviteleri

Salmonella türleri	Sayı	Beta-laktamaz pozitifliği	
		(n)	(%)
<i>S.schottmuelleri</i>	28	6	21.4
<i>S.typhimurium</i>	25	15	60.0
<i>S.enteritidis</i>	14	5	35.7
<i>S.typhi</i>	12	4	33.3
<i>S.hirschfeldii</i>	6	2	33.3
<i>S.newport</i>	6	2	33.3
<i>S.paratyphi A</i>	4	4	100.0
<i>S.ontario</i>	2	0	0
Toplam	97	38	39.1

*Salmonella schottmuelleri*'nin beta-laktamaz pozitif bir suşu hariç beta-laktamaz üreten bütün salmonella suşlarının ampisillin'e dirençli olduğu görüldü. Beta-laktamaz üreten bu *S.schottmuelleri* suşu ise ampisillin'e duyarlı bulundu.

Beta-laktamaz üreten salmonella suşlarının ampisillin direnci Tablo II'de görülmektedir.

Tablo II:Beta-laktamaz üreten salmonella suşlarının ampicillin direnci

Salmonella türleri	Beta-laktamaz pozitifliği(n)	Ampicillin direnci	
		(n)	(%)
S.schottmuelleri	6	5	83.3
S.typhimurium	15	15	100.0
S.enteritidis	5	5	100.0
S.typhi	4	4	100.0
S.hirschfeldii	2	2	100.0
S.newport	2	2	100.0
S.paratyphi A	4	4	100.0
S.ontario	0	0	0
Toplam	38	37	97.3

Beta-laktamaz üretimine bakılmaksızın 97 salmonella suşunun ampicillin direnci ise Tablo III'de görülmektedir.

Tablo III:Salmonella türlerinde ampicillin direnci

Salmonella türleri	Sayı	Ampicillin direnci	
		(n)	(%)
S.schottmuelleri	28	7	25.0
S.typhimurium	25	19	76.0
S.enteritidis	14	5	35.7
S.typhi	12	5	41.6
S.hirschfeldii	6	3	50.0
S.newport	6	3	50.0
S.paratyphi A	4	4	100.0
S.ontario	2	0	0
Toplam	97	46	47.4

## TARTIŞMA

Beta-laktamazlar, beta-laktam halka yapılarını bozarak, beta-laktam grubu antibiyotikleri inaktive eden enzimlerdir. Hemen hemen bütün gram pozitif ve gram negatif bakterilerde bulunan bu enzimlerin, dünyada büyük sorun olan beta-laktam antibiyotiklere dirençte rolü çoğunlukla kabul edilmiştir(2,8,9,10). World Health Organization (WHO) ve National Institutes of Health (NIH) tarafından beta-laktamaz oranları *S.typhi*'de % 0-7, *S.paratyphi*'de % 0-24, *S.typhimurium*'da % 0-100 ve diğer salmonella türlerinde % 0-50 olarak bildirilmiştir(4,8). Bizim çalışmamızda beta-laktamaz aktivitesi oranları *S.schottmuelleri*'de % 21.4, *S.typhimurium*'da % 60, *S.enteritidis*'de % 35.7, *S.typhi*'de % 33.3, *S.hirschfeldii*'de % 33.3, *S.newport*'ta % 33.3, *S.paratyphi A*'da % 100, *S.ontario*'da % 0 olarak bulundu.

Genellikle ampicillin'e duyarlı salmonella türlerinde çok düşük miktarda olan beta-laktamaz aktivitesi oranı, kromozomlar üzerindeki beta-laktamaz genlerinin sayısındaki bir değişiklik ya da indüksiyonundan dolayı artabilir(11). Bu çalışmada beta-laktamaz pozitif olan salmonella türlerinde ampicillin direnci % 97.3 olarak saptandı. Bir *S.schottmuelleri* suşu ampicillin'e duyarlı olduğu halde beta-laktamaz aktivitesi pozitif.

Hong Kong'da yapılan bir çalışmada ampicillin'e dirençli toplam 55 salmonella suşunun tamamında beta-laktamaz enziminin varlığı saptanmış yine aynı çalışmada salmonella türleri arasında ampicillin direnci % 17 olarak bulunmuştur(5). Bizim çalışmamızda ampicillin direnci % 47.4 olarak bulundu. Bulduğumuz değerlerin yüksekliği, aradaki sekiz yıl içinde ampicillin'e karşı direncin artması ve bölgesel farklılıklardan kaynaklanabilir.

Hong Kong'da yapılan başka bir çalışmada *S.typhi* suşları arasında ampicillin'e dirençli suş gözlenmediği halde *S.typhi* dışındaki salmonella türlerinde direnç oldukça yüksek bulunmuştur(12). A.B.D.'de *S.typhi* için ampicillin direnci % 2-3 gibi düşük bir oranda olması nedeniyle küçük bir sorundur. *S.typhi* dışındaki diğer salmonella türlerinde ise A.B.D.'de de ampicillin direnci gittikçe artmaktadır(1). Bizim çalışmamızda 12 *S.typhi* suşunun beşinde (% 41.6) ampicillin'e direnç saptandı.

Salmonella türleri arasında ampicillin'e en yüksek direncin *S.typhimurium* ve *S.heidelberg*'de olduğu bildirilmektedir(1,4,8). Bizim bulgularımızda da en yüksek ampicillin direnci *S.typhimurium*'da(% 76) görüldü.

Bugün salmonelloz tedavisinde üç temel sorun vardır. Bunlardan birincisi çoklu dirence sahip suşlar tarafından oluşturulan bakteriyemi ve tifo için daha etkili ve daha az toksik tedaviye duyulan gereksinim, diğeri osteomyelit ve menenjit için etkin tedavi, sonuncusu ise kronik taşıyıcılarda salmonellanın eliminasyonudur(1).

Ampicillin kan ve BOS'da bakterisidal etkili ve kronik taşıyıcılık durumunun elimine edilmesinde tercih edilen antibiyotiktir. Ancak ampicillin'e karşı kazanılmış direnç oranındaki artış, chloramphenicol direnci ile birlikte olunca salmonelloz tedavisinde sorunlarla karşı karşıya kalınabilir. Bunun için izole edilen salmonella suşlarının beta-laktamaz aktivitelerine ucuz ve kolay yöntemlerle bakılmalı, beta-laktamaz(+) suşlara bağlı olarak gelişen salmonelloz olgularının tedavisinde alternatif ilaçlar üzerinde çalışmalar artırılmalıdır. Aksi takdirde dirençli suşlara bağlı salgınlarnın ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır.

## KAYNAKLAR

- 1- Bryan JP., Rocha H., and Scheld WM.:Problems in salmonellosis:Rationale for clinical trials with newer  $\beta$ -lactam agents and quinolones. Rev.Infect.Dis.Vol.8, No 2:189, 1986.
- 2- Bauernfeind A.:Classification of  $\beta$ -lactamases. Rev.Infect.Dis.Vol.8, Supp.5:470, 1986
- 3- Hook EW.:Salmonella species(Including Typhoid Fever). In:Principles and Practice of Infectious Diseases (3 rd ed). Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE(ed). New York, Churchill Livingstone Inc., 1990, p. 1700.
- 4- O'Brien FT., and Members of Task Force 2:Resistance of bacteria to antibacterial agents:Report of Task Force 2.Rev.Infect.Dis.Vol.9 Supp.3:244, 1987.
- 5- Ling JM., Zhou-M., Woo THS. and French GL.:Antimicrobial susceptibilities and  $\beta$ -lactamase production of Hong Kong isolates of gastroenteric Salmonella and S.typhi.J.Antimicrob.Chemother. 28:877, 1991.
- 6- Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Schreckenberger PC., Winn JRWC.:Diagnostic Microbiology.(4 th ed). Philadelphia, J.B.Lippincott Company, 1992, p.105.
- 7- Bauer AW., Kirby MVW., Sherris JC., and Turc M.:Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.Am.J.Clin.Pathol. Vol.45,No.4:403, 1966.
- 8- Acar JF., Kitzis M-D., and Gutmann L.:The incidence of  $\beta$ -lactamase-producing pathogenes. XV.International Congress of Chemotherapy in İstanbul, Turkey, July 21:2, 1987.
- 9- Farmer III JJ.and Kelly MT.:Enterobacteriaceae in:Manual of Clinical Microbiology, (5 th ed). Balows W., Hausler JRW., Herrmann KL., Lsenberg HD., Shadomy HJ.(ed). Washington, American Society for Microbiology. 1991, p.360.
- 10- Korfmann Gand Wiedemann B.:Genetic control of  $\beta$ -lactamase production in Enterobacter cloacae. Rev.Infect.Dis.Vol.10, No 4:793, 1988.
- 11- Medeiros AA.: $\beta$ -Lactamases. Br.Med.Bull.Vol.40, No 1:18, 1984.
- 12- Ling J., Chau PY., and Rowe B.:Salmonella serotypes and incidence of multiply-resistant Salmonella isolated from diarrhoeal patients in Hong Kong from 1973-82. Epidemiol. Infect. 99:295, 1987.