

## HAEMOPHYLUS INFLUENZAE'DA BETA LAKTAMAZ AKTİVİTESİ VE AMPİCİLLİN DİRENCİ

Hüseyin GÜN(\*)

*Anahtar Terimler : Haemophilus influenzae, Beta laktam antibiyotikleri*

*Key Works: Haemophilus influenzae, Beta Lactam antibiotics*

### ÖZET

Haemophilus influenzae'da ampicillin direnci primer olarak beta laktamaz enzim aracılığıyla meydana gelir. Bakterinin enzim aktivitesini araştırmak yoluyla ampicillin direnci hakkında bilgi edinilebilir. Beta laktamaz dışındaki mekanizmalar ile oluşan direnç nadiren görülmektedir.

Bu çalışmada 0-6 yaş grubundaki çocuklarda üst solunum yolu florasında yer alan H. influenzae suşlarının beta laktamaz aktivitesi ve ampicillin direnci araştırıldı.

İncelenen 40 suştan sekizi beta laktamaz olumlu; aynı sekiz suş ampicilline dirençli bulundu.

H. influenzae'de beta laktamaz aktivitesi ampicillin direncini yansıtan iyi bir göstergedir.

### SUMMARY

#### **Beta Lactamase activity and Ampicillin Resistancy of Heamophilus Influenzae**

Ampicillin resistance of Haemophilus influenzae is primarily depends on beta lactamase activity. The resistance can be defined by detecting the enzyme activity of the bacteria. Other resistance mechanisms are very rare.

In this study beta lactamase activity and ampicillin resistancy were investigated on H. influenzae strains isolated form upper respiratory trancts of 0-6 years old.

Eight strains of 40 were found beta lactamase positive and the same eight strains were found resistant to ampicillin.

Beta lactamase positive and the same eight strains were found resistant to ampicillin.

Beta lactamase enzyme activity of H. influenzae is a useful criteria to show the ampicillin resistancy of the bacteria.

---

\* GATA, Tıp Fakültesi, Mikrobiyolojik ve Kl. Mik. ABD., Doç. Dr.

## GİRİŞ

*Haemophilus influenzae*, pediatrik yaş grubunda değişik infeksiyonlara neden olan bir bakteridir. (1). Bakteriyel menenjit etkenleri arasında ilk sırayı almakta, bunun yanında sepsis, perikardit, pnömoni, septik artrit, osteomyelit, gibi ağır invaziv hastalıklara da neden olmaktadır. ABD'de her 200 çocuktan biri ilk beş yaş içinde *H. influenzae* infeksiyonuna yakalanmaktadır. Ancak günümüzde erişkin infeksiyonlarına da oldukça sık rastlanmaktadır. Erişkinde solunum sistemi major infeksiyon bölgesidir (4,5,6,7,)

*Haemophilus* infeksiyonlarının sağlatımında 1950'li yıllarda chloramphenicol, toksik etkilerine karşın ilk tercih edilen ilaç durumunda iken, ampicillinin kullanıma girmesiyle değerini yitirmiştir. Ampicillin, gerçekten tüm suşlara etkili olmakta ve duyarlılık araştırılmadan kullanılabilmekteydi. 1974 yılında ampicilline dirençli ilk suşun tanımlanmasından sonra direnç giderek yaygınlaşmıştır. Günümüzde *H. influenzae* suşlarının yaklaşık % 20'si ampicilline dirençli bulunmaktadır (8,9,10,11).

*H. influenzae*'da ampicillin direnci, primer olarak beta laktamaz enzimi aracılığı ile meydana gelmektedir. Beta laktamaz dışındaki antimikrobik ajanlara duyarlılığın araştırılması için dilüsyon yöntemleri önerilir. Ampicillin duyarlılığı için disk difüzyon yöntemi uygulanmaktadır. Ancak inokulum yoğunluğu, kullanılacak besiyeri, zenginleştirici maddelerin neler olacağı ve diskte bulunması gereken antibiyotik miktarı konusunda kesin yargılar yoktur (8,12).

Ampicillin direnci beta laktamaz etkisi ile oluştuğuna göre, bakterinin enzim aktivitesini araştırmak yoluyla ampicillin direnci hakkında bilgi edinilebilir Beta laktamaz aktivitesi kısa zamanda sonuç veren, basit yöntemlerle araştırılabilir.

Bu çalışmada 0-6 yaş grubundaki çocuklarda üst solunum yolu florasında yer alan *H. influenzae* suşlarında beta laktamaz aktivitesi ve ampicillin direnci araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Kreş ve anaokuluna devam eden sağlıklı çocukların üst solunum yolundan izole edilen 40 *H. influenzae* suşu çalışmaya alındı.

Ampicillin duyarlılığı araştırmasında disk agar difüzyon yöntemi uygulandı. Deneylerde Mueller Hinton besiyerine % 5 oranında at kanı eklenmesiyle hazırlanan çikolata agar kullanıldı.

Bakterilerde beta laktamaz aktivitesi asidimetrik yöntem ile araştırıldı;

- 0,2 ml % 0.5'lik fenol kırmızısı çözeltisi  
1.6 ml steril distile su 2x10<sup>6</sup> ünite penicillin - G steril bir tüp içinde karıştırıldı.
- 1 M NaOH ile karışımın pH'si 8,5'e ayarlandı,
- pH'si ayarlanan çözeltiden 0.1 ml küçük tüplere konarak denenecek bakterinin yoğun bir süspansiyonu (en az Mc Farland no 4 standardında) ile karıştırıldı.

- 15 dakika içinde kırmızı rengin sarıya dönmesi beta laktamaz varlığı olarak değerlendirildi (14).

## BULGULAR

Çalışmada incelenen 40 *H.influenzae* suşundan sekizi beta laktamaz olumlu, aynı sekiz suş ampicilline dirençli bulundu.

## TARTIŞMA

Geniş alanda yapılan bir seri araştırmada 757 *H.influenzae* tip b suşunda ampicillin direnci % 20 olarak bildirilmiştir (10). Ülkemizde bu konuda yapılmış rastlayabildiğimiz bir araştırmada *H.influenzae* suşlarında amoxicillin duyarlılığı araştırılmış, % 12.5 oranında direnç saptanmıştır (15).

Değişik araştırmacılar *H.influenzae*'nin ampicillin direncini saptamak amacıyla beta laktamaz aktivitesini araştırmışlar, % 6.8 - % 40 oranında olumluluk bildirmişlerdir (5,13). Moxo (10) % 20 oranındaki ampicillin direncinin beta laktamaz olumluluğu ile paralel olduğunu belirtmiştir. Howard (9) 304 *H.influenzae* üzerinde yaptığı araştırmada beta laktamaz aktivitesini % 5,4 oranında saptamış ve aynı suşların ampicilline dirençli olduğunu belirlemiştir.

Çalışmamızda incelenen 40 bakteriden sekizinde ( % 20 ) ampicilline direnç saptanmış, aynı sekiz suş beta laktamaz olumlu bulunmuştur.

Çocuk çağında ve erişkinde enfeksiyon etkeni olan *H.influenzae*'da beta laktamaz enzimine bağlı olarak ortaya çıkan ampicillin direnci oldukça yaygındır. Bakterinin beta laktamaz enzim aktivitesi ampicillin direncini yansıtan iyi bir göstergedir. Çabuk sonuç alınan, kolay uygulanan testlerle beta laktamaz varlığı saptanabilir.

## KAYNAKLAR

- 1- Granato PA, Jurek EA, Weiner LB : Biotypes of *Haemophilus influenzae* : Relationship to clinical source of isolation, serotype and antibiotic susceptibility. *Am Soc Clin Pathol* 79:73,1983.
- 2- Ginsburg CM, McCracken GH, Rae S, Parke JC : *Haemophilus influenzae* type b disease. *JAMA* 238 : 604, 1977.
- 3- MMWR : Update : Prevention of *Haemophilus influenzae* type b disease. *JAMA* 35: 1990, 1986.
- 4- Brabender W, Hodges RC, Barnes WG: Clinical significance of serotype, biotype and beta lactamase production of respiratory isolates of *Haemophilus influenzae*. *Am J Clin Pathol* 81: 85, 1984.
- 5- Hoiseth Sk, Gilsdorf JR : The relationship between type b nontypable *Haemophilus influenzae* isolated from the same patient. *J infect Dis* 158:,643, 1988.
- 6- Patterson JE, Madden GM, Krissiunas EP, Masecar B, Hiler Holzer WJ, Zervos MJ, Lyons RW: A nosocomial outbreak of ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* type b in a geriatric unit. *J infect Dis* 157: 1002, 1988.
- 7- Wallace RJ, Musher DM, Septimus EJ, Mc Gowan JE, Quinones FJ, Wissk, Vance PH, Trier PA: *Haemophilus influenzae* infections in adults : Characterization of strains by serotypes, biotypes and beta lactamase production. *J infect Dis* 144: 101, 1981.
- 8- Doern VG, Daum GS, Tubert AT: Ampicillin disc diffusion susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*, *J Clin Microbiol* 25: 1675, 1987.

- 9- Howard BJ: Haemophilus. Clinical and pathogenic Microbiology (Ed: Howard BJ)'da. St louis, The CV Mosby Company, 1987, s 279.
- 10- Moxon Er: Haemophilus influenzae. Principles and practice of infectious Diseases, 3. Edition (Ed: Mandell GI, Douglas GL, Bennett JE)'da. New York, Churchill Livingstone Inc, 1990, s 1722.
- 11- Slack MPE, Wheldon DB, Türk DC: A rapid test for beta lactamase production by Haemophilus influenzae. The Lancet 3: 906,1977.
- 12- Daum RS, Corb MM, Shapira E, Dipp S: Epidemiology of rob betalactamase among ampicillin resistant Haemophilus influenzae isolates in the United States J. Infect Dis 157: 450, 1988.
- 13- Tilton RC, Howard BJ: Antimicrobial susceptibility test in, Clinical and pathogenic Microbiology (Ed: Howard BJ)'da St Louis The CV Mosby Company, 1987, s 121.
- 14- Gunn BA, Keiser JF, Almazan RD : Culture media, tests, and reagents in bacteriology. Clinical and pathogenic Microbiology (Ed: Howard BJ)'da. St. Louis, The CV Mosby Company, 1987, s 849.
- 15- Momal M: İnsandan izole edilen Haemophilus cinsi bakteriler üzerinde çalışmalar yapan. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 17: 1, 1987.