

# DIŞKI VE ÇEVRE ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ AEROMONAS SUŞLARININ ANTİMİKROBİKLERE DUYARLILIKLARI VE İNDÜKLENEBİLİR BETA-LAKTAMAZ ARAŐTIRILMASI\*

Kenan MİDİLLİ<sup>1</sup>, Bekir KOCAZEYBEK<sup>2</sup>, Mustafa ASLAN<sup>1</sup>,  
Altan ÖZKAYA<sup>1</sup>, Sahure KÖKSAL<sup>1</sup>, Recep ÖZTÜRK<sup>1</sup>, Ayhan YÜCEL<sup>1</sup>

## ÖZET

evre örneklerinden izole edilen 57 ve dıŐki örneklerinden izole edilen 26 *Aeromonas* cinsi bakterinin 21 antimikrobiyale duyarlılıkları ve indüklebilir beta-laktamaz (İBL) yapıp yapmadıkları araştırılmıştır. Bakterilerin duyarlılıkları, Sceptor Gram negatif paneli (Becton-Dickinson) ile değerlendirilmiştir. İndüklebilir beta-laktamaz yapımı ise direkt indüksiyon yöntemiyle belirlenmiştir. Araştırmamızda en etkili antibiyotikler olarak aminoglikozidler, ikinci, üçüncü kuşak sefalosporinler ve kinolonlar bulunmuş, dıŐki kaynaklı suşlarda, evre kaynaklı suŐlara göre yüksek oranda İBL saptanmıştır ( $p<0.001$ ).

## SUMMARY

*The investigation of the sensitivity to antimicrobials and the presence of inducible beta-lactamase in Aeromonas strains isolated from faecal and environmental samples.*

The sensitivity of 57 environmental and 26 faecal *Aeromonas* spp. strains to 21 antimicrobials and their inducible beta-lactamase (IBL) production were investigated by Sceptor Gram negative panel (Becton-Dickinson) and by direct induction method, respectively. Aminoglycosides, 2nd and 3rd generation cephalosporins and quinolones were found as the most effective antibiotics. IBL production was higher in faecal strains than environmental strains ( $p<0.001$ ).

## GİRİŐ

*Aeromonadaceae* ailesinde bulunan *Aeromonas* cinsi bakteriler, Gram negatif, oksidaz pozitif, glukoza etkili omaklardır (9). *Aeromonadaceae* ailesi 1986 yılında genetik olarak DNA-DNA birleŐtirme tekniği ile 15 tür olarak belirlenmiştir (16). Fenotipik olarak 10 tür belirlenmiştir. Sularda bol miktarda bulunan bu bakterilerden mezofilik ve hareketli olanları insanda sistemik ve lokal infeksiyonlardan gastro-enterite kadar deęiŐen hastalıklara yol açabilmektedir (9). Enterotoksinler, hemolizinler, hemaglutininler, yüzey virulans faktörleri bu bakterilerin patogenezinde rol oynar (16). *Aeromonas* infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin rolü kesin olarak bilinmemekte, bu bakterilerin özellikle beta-laktamlara dirençli olmaları ve indüklebilir beta-laktamazlar (İBL) ve karbapenamaz yap-

\* 13. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuŐtur (1-5 Haziran 1998, Antalya).

1- İstanbul Üniversitesi, CerrahpaŐa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, CerrahpaŐa, İstanbul.

2- İstanbul Üniversitesi, Kardiyoloji Enstitüsü, Haseki, İstanbul.

maları ise tedavi açısından sorun oluşturmaktadır. Bu çalışma, çevresel su örnekleri ve ishallerin dışkı örneklerinden izole edilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin kemoterapötiklere duyarlılıklarının incelenmesi ve bu suşlarda indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) oranının saptanması amacıyla yapılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Haziran-Eylül 1993 aylarında İstanbul'da 32'si arıtılmadan içme ya da kullanma suyu olarak kullanılan 43 çevre suyu ve 50'si şebeke suyu olmak üzere toplam 93 su örneğinden ve 1890 ishallerin dışkı örneklerinden *Pseudomonas-Aeromonas* agarda kültür yapılmıştır. Glikoz, sakkaroz, laktoz ve manitolü etkileyen, oksidaz, indol ve hareket deneyleri pozitif bulunan suşların identifikasyon ve antimikrobiklere duyarlılığı için Sceptor Gram negatif ID paneli (Becton-Dickinson) kullanılmıştır. Duyarlılık deneyleri sonuçları NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiş, kontrol suşu olarak *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965 kullanılmıştır. İBL için yapılan çift disk yaklaşırma yönteminde 10 µg'lık imipenem ve 30 µg'lık seftazidim diskleri 2 cm aralıkla yerleştirilmiş, seftazidim diski etrafındaki inhibisyon zonunun imipenem yönünde 4 mm daralması pozitiflik kriteri sayılmıştır (13).

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu pozitif kontrol, *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İstatistiksel hesaplamalar ki-kare yöntemiyle yapılmıştır.

## BULGULAR

İzole edilen çevre (su) kaynaklı 57, ishallerin dışkılarından 26 olmak üzere toplam 83 *Aeromonas* suşunun tür dağılımı tablo 1'de, antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen *Aeromonas* türleri.

Türler	Çevre	Dışkı	Toplam
<i>A. sobria</i>	19	10	29
<i>A. media</i>	16	2	18
<i>A. caviae</i>	11	5	16
<i>A. hydrophila</i>	5	6	11
<i>A. veronii</i>	6	3	9
Toplam	57	26	83

Tablo 2. *Aeromonas* suşlarının antibiyotik duyarlılığı (%).

	Çevre suşları (n:57)			Dışkı suşları (n:26)			Toplam (n:83)		
	Du	O	Di	Du	O	Di	Du	O	Di
Amikasin	88	7	5	96	4	0	90	6	4
Amoksisilin+klav. asit	18	9	73	35	8	57	23	8	69
Ampisilin	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Ampisilin+sulbaktam	7	5	88	12	15	73	8	8	84
Aztreonam	39	0	61	54	15	31	43	5	52
Sefazolin	33	5	62	15	27	58	28	12	60
Sefoperazon	86	4	11	77	8	15	83	5	12
Sefotaksim	88	5	7	84	12	4	87	7	6
Sefotetan	80	2	18	81	4	15	81	2	17
Seftazidim	79	5	16	65	4	31	75	5	20
Seftriakson	80	9	11	80	8	12	81	8	11
Sefuroksim	67	16	18	54	8	38	63	13	24
Siprofloksasin	80	12	7	92	4	4	84	10	6
Gentamisin	89	4	7	88	4	8	89	4	7
İmipenem	80	5	14	80	12	8	81	7	12
Piperasilin	35	11	54	73	4	23	47	8	45
Tetrasiklin	82	4	14	76	12	12	81	6	13
Tikarsilin	23	21	56	27	0	73	24	15	61
Tikarsilin+klav. asit	37	11	53	38	31	31	37	17	46
Tobramisin	89	5	5	88	4	8	89	5	6
Trimetoprim-sulfa.	88	4	9	77	8	15	84	5	11

Du: duyarlı, O: orta duyarlı, Di: dirençli

Su kaynaklı 57 suşun 18'i (% 32), dışkı kaynaklı 26 suşun 19'u (% 73) İBL pozitif bulunmuş, fark ileri derecede anlamlı olarak saptanmıştır ( $p<0.001$ ).

## TARTIŞMA

İnsanlarda intestinal ve ekstra intestinal infeksiyonlar yapabilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin bulaş kaynakları genellikle su ve su ürünleridir (9). Hareketli *Aeromonas* suşlarının kültür süzüntülerinden elde edilen virulans faktörlerinin proteolitik, hemolitik ve sitotoksik olduğu saptanmış, özellikle proteaz aktivitesinin bakterinin virulansında önemli bir faktör olduğu ortaya konmuştur (11).

Araştırmamızda çevreden ve dışkıdan izole edilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin tür dağılımı incelendiğinde en sık izole edilen; 19'u çevreden, 10'u dışkıdan olmak üzere toplam 29 (% 35) suş ile *A.sobria* olmuştur. Ülkemizde 1997 yılında yapılan araştırmada kuyu ve içme suyu örnekleriyle, diyareli olguların dışkılarından en fazla (% 67) *A.hydrophila* izole edildiği bildirilmiştir (16). 1990 yılında Nakona ve arkadaşları (15) suların izole edilen 2444 suşun % 43'ünün *A.caviae* olduğunu, bu türün derin sularda fazla olduğunu, durgun sularda ise *A.sobria*'nın fazla oranda saptandığını bildirmişlerdir. Araujo ve arkadaşları (2) 883 hareketli *Aeromonas* suşunun % 55 oranında *A.caviae* olduğunu, bu türün en fazla dışkı içeren sularda, *A.sobria*'nın ise dışkı içermeyen sularda saptandığını bildirmişlerdir. 1997 yılında Walsh ve arkadaşları (18) ise çevreden ve dışkıdan en fazla *A.veroni*'yi izole etmişlerdir. Araştırma sonucumuz durgun kaynak sularında *A.sobria*'nın fazla oranda izole edildiğini bildiren görüşlerle paralellik göstermektedir.

Araştırmamızda izole edilen tüm *Aeromonas* suşlarına en etkili antibiyotikler aminoglikozidlerden % 90 ile amikasin, % 89 ile gentamisin ve tobramisinidir. Üçüncü kuşak se-

falosporinlerden sefotaksim % 87 ile en etkili antibiyotik olarak saptanmıştır. Suşların % 80'den fazlasına, aminoglikozidler, üçüncü kuşak sefalosporinler, karbapenemler ve tetrasiklinler etkili bulunurken, direncin en fazla olduğu grup ise penisilin grubu olmuştur. Özellikle ampisiline % 100 oranda, ampisilin-sulbaktama % 84 oranda direnç belirlenmiştir. Ülkemizde 1997 yılında yapılan bir çalışmada *Aeromonas* cinsi bakterilerin tamamı ampisiline dirençli bulunmuş, suşların % 90'ından fazlası çalışılan antibiyotiklere duyarlı bulunmuş, gentamisin, tobramisin, tetrasiklin, sefepim, ofloksasin ve TMP-SXT suşların tümüne etkili olarak saptanmıştır (16). 1990 ve 1993 yılında yapılan iki ayrı çalışmada *Aeromonas* cinsinden bakterilerin sulfametoksazol-trimetoprim ve tetrasikline duyarlılıklarının yüksek olduğu, ancak Bangladeş'de çevre kökenlerinde ise kloramfenikol ve tetrasiklinlere yüksek oranda direnç geliştiği bildirilmiştir (3,5). 1985 ve 1989 yıllarında bildirilen iki farklı çalışmada penisilinlere tüm suşlar dirençli bulunurken, değişik sefalosporinlerin farklı oranlarda etkinliği tespit edilmiş, piperasilin ise oldukça etkili bir antibiyotik olarak saptanmıştır (1,6). 1994 yılında klinik örnek ve çevreden izole edilen suşların sefalosporinlere duyarlılıkları değişken bulunmuş, 3. kuşak sefalosporinler genelde etkin bulunurken *A.sobria* kökenleri çoğunlukla sefalotine duyarlı, diğer türlerin dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda imipenem ve aztreonamın *Aeromonas* cinsi bakterilere karşı yüksek etkinlik gösterdiği bildirilmekle beraber, bu bakterilerin imipenem ve diğer penamları parçalayan indüklenebilir metallo beta-laktamazları da yaptıkları açıklanmıştır (8,13). 1997 yılında 74 suşla yapılan bir çalışmada ampisilin, oksasilin ve imipeneme karşı anlamlı olarak yüksek bir beta-laktamaz aktivitesinin saptandığı bildirilmiştir (1). Hatta 1997 yılında aplastik anemili bir hastada imipenem dirençli *A.hydrophila*'ya bağlı miyofasial nekroz olgusu bildirilmiştir (4).

Çalışmamızda İBL oranı tüm suşlar için % 45 bulunurken, dışkıdan izole edilen suşlarda % 73, sulardan izole edilenlerde % 32 olarak tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Bu farklılık İBL oranının türlere göre değişkenlik göstermesiyle açıklanabilir (7). Çevre ve dışkı suşlarının duyarlılıkları karşılaştırıldığında; çevre suşlarının % 35'i, dışkı suşlarının ise % 75'i piperasiline duyarlı bulunmuştur. Çevre kökenli suşlar % 18, klinik kökenli suşlar ise % 35 oranında amoksisilin-klavulanik aside duyarlı bulunmuştur.

Antimikrobik duyarlılık deneyi sonuçları irdelendiğinde henüz bu bakterilerde bir direnç probleminin olmadığı, birbirine benzer direnç oranları ve kalıplarının olduğu bildirilmiştir (12,14). Ancak 1995 yılında bildirilen bir araştırmada bir grup suşta çoklu direnç gelişiminin yaygın olarak izlendiği ve bunda da R plazmidlerin önemli olduğu bildirilmiştir (10). 1997 yılında da tatlı su balıklarından izole edilen 21 suştan yedisinde 3-63.4 kb'lık direnç plazmidlerinin olduğu, bu plazmidlerin ampisilin ve tetrasiklin direnci ile ilişkili oldukları bildirilmiştir (17). Literatür bilgileri ile paralel bulunan sonuçlarımızda beta-laktamlara karşı değişken bir direnç kalıbı bulunmuş, özellikle penisilinlere karşı direnç oranının yüksek, aminoglikozid, ikinci, üçüncü kuşak sefalosporin, karbapenem ve kinolon direncinin düşük oranlarda olduğu saptanmıştır.

#### KAYNAKLAR

- 1- Altwegg M, Geiss HK: *Aeromonas* as a human pathogen, *Crit Rev Microbiol* 16:253 (1989).
- 2- Araujo RM, Arribas RM, Pares R: Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution, *J Appl Bacteriol* 71:182 (1991).

- 3- Burgos A, Qunidos G, Martinen R, Rojo P, Cisterna R: Invitro susceptibility of *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila* and *A. sobria* to fifteen antibacterial agents, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9:413 (1990).
- 4- Gonzales BE, Ardanuy C, Carratala J, Sanchez A, Fernandez SA, Granena A: Fatal myofascial necrosis due to imipenem-resistant *Aeromonas hydrophila*, *Scand J Infect Dis* 29:91 (1997).
- 5- Gosling PJ, Turnbull PCB, Lightfoot NF, Peshier JVS, Levis RJ: Isolation and purification of *Aeromonas sobria* cytotonic enterotoxin and beta-hemolysin, *J Med Microbiol* 38:227 (1993).
- 6- Griffith SG, Lynch WH: Characterization of *Aeromonas salmonicida* mutants with low level resistance to multiple antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 33:19 (1989).
- 7- Gür D: Beta-laktamazlar, *Flora 2 (Ek 3):3* (1997).
- 8- Iaconis JP, Senders CC: Purification and characterization of inducible beta-lactamases in *Aeromonas* spp., *Antimicrob Agents Chemother* 4:44 (1990).
- 9- Janda JM, Sharon LA, Amy MC: *Aeromonas* and *Plesiomonas*, "PR Murray, EJ Baron, MA Tenover, FC Tenover, RH Tenover, RH Yolken (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 6 baskı" kitabında s. 477, ASM Press, Washington (1995).
- 10- Jones BL, Wilcox MH: *Aeromonas* infections and their treatment, *J Antimicrob Chemother* 35:453 (1995).
- 11- Krovacek K, Huang K, Sternberg S, Svenson SB: *Aeromonas hydrophila* septicaemia in a grey seal (*Halichoerus grypus*) from the Baltic sea: a case study, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 21:43 (1998).
- 12- Kuijper EJ, Peters MF, Schoenmakers BSC, Zanen HC: Antimicrobial susceptibility of sixty human faecal isolates of *Aeromonas* species, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8:248 (1989).
- 13- Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microb Rev* 8:557 (1995).
- 14- Morita K, Watanabe N, Kurata S, Kanamori M:  $\beta$ -lactam resistance of motile *Aeromonas* isolates from clinical and environmental sources, *Antimicrob Agents Chemother* 38:353 (1994).
- 15- Nakano H, Kamayama T, Venkateswaran K, Kawakami H, Hashimoto H: Distribution and characterization of hemolytic, and enteropathogenic motile *Aeromonas* in aquatic environment, *Microbiol Immunol* 34:447 (1990).
- 16- Özcan Ş: *Aeromonas* cinsi bakterilerin intestinal infeksiyonlarındaki rolü ve sularda bulunma sıklığı, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul (1997).
- 17- Son R, Rusul G, Sahilah AM, Zainuri A, Raha AR, Salmah I: Antibiotic resistance and plasmid profile of *Aeromonas hydrophila* isolates from cultured fish, *Telapia* (*Telapia mossambica*), *Lett Appl Microbiol* 24:479 (1997).
- 18- Walsh TR, Stunt RA, Nabi JA, Macgowan AP, Bennett PM: Distribution and expression of beta-lactamase genes among *Aeromonas* spp., *J Antimicrob Chemother* 40:171 (1997).

*Editorial not: Bu çalışmadaki suşların oldukça eski bir tarihte izole edilmiş olmasına karşılık, ülkemizde bu suşlarla ilgili çalışmaların azlığı nedeniyle makalenin yayınlanması yararlı görülmüştür.*