

# STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE KÖKENLERİNDE PENİSİLİNE VE DİĞER ANTİMİKROBİK MADDELERE DİRENÇ

Müzeyyen MAMAL TORUN, Hrisi BAHAR, Elif ALKAN

## ÖZET

Son on yılda *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin ve diğer antimikrobik maddelere direnç giderek artmaktadır. Bu çalışmada erişkin hastalara ait çeşitli klinik örneklerden 1994-2000 yılları arasında izole edilen 200 *S.pneumoniae* kökeninde penisilin direnci E test; eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol, ofloksasin, rifampisin, kotrimoksazol ve vankomisine direnci ise NCCLS standartlarına uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. *S.pneumoniae* kökenlerinin % 25'i penisiline orta düzeyde dirençli, % 5.5'i penisiline yüksek düzeyde dirençli bulunmuştur. Amoksisilin+klavulanik aside % 5, sefuroksime % 17, eritromisine % 20, tetrasikline % 12, kloramfenikole % 16, ofloksasine % 11, rifampisine % 7, kotrimoksazole % 28 oranında direnç saptanmış, vankomisine dirençli köken saptanmamıştır.

## SUMMARY

*Antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae strains to penicillin and other antimicrobial agents.*

Resistance to penicillin and other antimicrobial agents is increasing during last decade in *S.pneumoniae* strains. In this study penicillin resistance with E test, and resistance to erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, ofloxacin, rifampicin, cotrimoxazole and vancomycin were investigated by disk diffusion method recommended by NCCLS in 200 *S.pneumoniae* strains isolated from clinical specimens of adult patients between the years 1994-2000. Low level and high level penicillin resistance were found to be as 25% and 5.5%, respectively. Resistance to amoxicillin+clavulanic acid, cefuroxime, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, ofloxacin, rifampicin, cotrimoxazole were found to be 5%, 7%, 20%, 12%, 16%, 11%, 7%, and 28%, respectively. Strain resistant to vancomycin was not found.

## GİRİŞ

İlk kez 1875 yılında infeksiyon etkenleri arasına giren *Streptococcus pneumoniae* günümüzde toplumdan edinilmiş pnömonilerin, menenjit, bakteriyemi, sinüzit ile çocuklarda akut otitis medianın etkeni olarak önemini korumaktadır (2,13,14,16,21). Penisilin klinik kullanıma girdiği dönemlerde pnömokokların bu antibiyotige ve daha birçok beta-laktam

antibiyotiğe duyarlı mikroorganizmalar olduğu görülmüştür, ancak büyük çoğunluğu penisiline duyarlı olan pnömokoklarda günümüzde penisiline orta ve yüksek düzeyde dirençli kökenlerin hızla arttığı da bildirilmektedir (1,6-9,14,18,19,22).

Çeşitli coğrafik bölgelerde farklı oranlarda olmakla birlikte, genel olarak tüm dünyada geçen 10 yıl boyunca *S.pneumoniae*'nin penisiline ve diğer antimikrobiklere karşı direnci artmıştır (1,3,6,9,11). Penisiline dirençli *S.pneumoniae* infeksiyonlarının insidansındaki artışın ilk kez İspanya'da, Macaristan'da ve Güney Afrika'da görüldüğü bildirilmişse de, bu mikroorganizmanın antibiyotiklere dirençli kökenleri artık Asya ve Amerika kıtaları dahil tüm dünyada önemli bir problem haline gelmiştir (6,9). *S.pneumoniae*'nin antimikrobiyal direncinin prevalansı hakkındaki istatistikler, bir ülkedeki değişik bölgelerde direnç oranlarının farklı olabileceğini göstermektedir (5-7,9,14,19). Ülkemizde yapılan çalışmalarda *S.pneumoniae* suşlarında düşük düzeyde penisilin direnci % 26-34, yüksek düzeyde penisilin direnci % 0-7 oranlarında bildirilmiştir (8,17,20).

Bu çalışmada erişkin hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 *S.pneumoniae* kökeninin penisilin direnci ile birlikte diğer antimikrobik maddelere de direnç durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Erişkin hastalara ait çeşitli klinik örnekler, 1994-2000 yılları arasında *S.pneumoniae*'nin izolasyonu için balıklı buyyon ile hazırlanan % 5 koyun kanlı çukulatamsı agara ekilip, 37°C'de % 5-10 CO<sub>2</sub> içeren ortamda inkübe edilmiştir (21). Üreyen alfa hemolizli kolonilerden yapılan Gram boyamalarda Gram pozitif mum alevi tarzında diplokokların görülmesi ile bu kolonilerden saf kültürler elde edilmiş; katalaz özellikleri ve optokine duyarlılıkları araştırılmıştır. Optokine duyarlı kökenler pnömokok olarak tanımlanmıştır (12,14,16). Optokin duyarlılığı şüpheli olan kökenlerde safra tuzlarında erime testi uygulanmıştır. Safra tuzu olarak kullanılan % 10'luk sodyum dezoksikolat ile eriyen kökenler *S.pneumoniae* olarak tanımlanmıştır (12,21).

Penisiline orta ve yüksek düzeyde dirençli kökenlerin belirlenmesinde E test kullanılmıştır (AB Biodisk) (10,15). Oksasiline duyarlı suşlar penisiline de duyarlı olduğundan, sadece oksasiline dirençli olan kökenlere penisilin E testi denenmiştir (10,15). Diğer antimikrobik maddelere direnç durumları NCCLS (M 100-S8, M2 A6) standartlarına uygun olarak % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton agar besiyerinde disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır (12,15,16,21).

Orta düzeyde direnç için 0.1-1.0 µg/ml arasındaki MİK değerleri, yüksek düzeyde direnç için ≥2 µg/ml MİK değerleri kabul edilmiştir (1,2,6,7,12,15,20).

## BULGULAR

*S.pneumoniae* kökenlerinin izole edildiği klinik örnekler tablo 1'de gösterilmiştir. 200 *S.pneumoniae* kökeninde % 30.5 oranında penisilin direnci belirlenmiştir. Bu direncin % 25'inin orta düzeyde, % 5.5'inin ise yüksek düzeyde penisilin direnci olduğu belirlenmiştir. Amoksisilin+klavulanik aside % 5, sefuroksime % 17, eritromisine % 20, tetrasikline % 12, kloramfenikole % 16, ofloksasine % 11, rifampisine % 7 ve kotrimoksazole % 28 oranında direnç saptanmış, vankomisine dirençli kökene rastlanmamıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Streptococcus pneumoniae kökenlerinin izole edildiği klinik örnekler.

Klinik örnekler	Sayı	%
Beyin-omurilik sıvısı	10	5
Plevra sıvısı	22	11
Sinüs sıvısı	24	12
Nazofarinks salgısı	18	9
Kulak salgısı	18	9
Göz salgısı	12	6
Balgam	78	39
Bronş lavaj sıvısı	18	9

Tablo 2. S.pneumoniae kökenlerinde antibiyotiklere direnç.

	Duyarlı		Orta dirençli		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Penisilin	139	69.5	50*	25	11*	5.5
Sefuroksim	166	83			34	17
Amoksisilin+klav. asit	190	95			10	5
Eritromisin	160	80			40	20
Tetrasiklin	176	88			24	12
Kloramfenikol	168	84			32	16
Ofloksasin	178	89			22	11
Vankomisin	200	100			0	0
Rifampisin	186	93			14	7
Kotrimoksazol	144	72			56	28

\*MİK=0.1-1.0 mg/l olan orta düzeyde, MİK  $\geq 2.0$  mg/l olan yüksek düzeyde dirençli suşlardır.

## TARTIŞMA

*S.pneumoniae*, penisilin tedavide kullanılmaya başlandığı 1940 yılından bugüne kadar başta beta-laktam antibiyotikler olmak üzere birçok antibiyotiğe duyarlı iken günümüzde penisilin G'ye ve diğer antimikrobik maddelere giderek artan bir direnç geliştirmeye başlamıştır (5,7,17,20). Pnömonoklarda penisilin direncinin mekanizması penisilin bağlayan proteinlerdeki (PBP) değişimlere bağlanmıştır (12,20). Dirençten sorumlu tutulan proteinler PBP 1A, 2A, 2B ve 2X olarak belirlenmiştir (13,19). Bunlardan PBP2X'deki değişiklikler düşük düzeyde penisilin direncinden sorumlu iken, hem PBP2B hem de PBP2X'deki değişiklikler yüksek düzeyde penisilin direncinden sorumlu tutulmuşlardır (13). Pnömonoklarda penisilin direnci ilk kez 1967 yılında Hansman ve Bullen (8) tarafından Avustralya'da gösterilmiştir. İzole edilen bu kökenin penisilin için MİK değeri 0.6 µg/ml olarak bildirilmiştir. Daha sonra aynı araştırmacı 1971 yılında Yeni Gine yerlilerinde, sürekli penisilin kullanımından sonra, penisiline dirençli bir *S.pneumoniae* kökeni izole etmiştir. Son yıllarda, dünyanın çeşitli bölgelerinden gittikçe artan oranlarda penisilin direnci bildirildiği görülmektedir (1,3,9). Dirençli kökenlerin toplumda yayılımının klonal seleksiyon veya gen transferi ile olabileceği söylenmektedir. Bununla beraber direncin farklı coğrafik bölgelere göre farklılıklar gösterdiği değişik bölgelerden bildirilen çalışmalarda görülmektedir. İspanya'da % 50, Macaristan'da % 60 oranında penisilin direnci bil-

dirilirken, ABD'de bu direnç bölgesel farklılıklar göstermekte ve % 4-48 arasında değişmektedir (9). 1992-93 yılları arasında solunum yolu infeksiyonlarında antimikrobiyal direnci araştıran, ABD ve Avrupa ülkelerini kapsayan Alexander Projesinde orta düzeyde penisilin direnci % 12.3, genel penisilin direnci % 23 olarak belirlenmiştir (6). Ülkemizde Gür ve ark. (7) 1994 yılında *S.pneumoniae* kökenlerinde % 47 oranında penisilin direnci bildirmişler ve kökenlerin % 30'unda orta düzeyde, % 17'sinde ise yüksek düzeyde penisilin direnci göstermişlerdir. Öngen ve ark. (17) ise 1995 yılında *S.pneumoniae* kökenlerinde % 34 oranında penisilin direnci bildirmişler, ancak yüksek düzeyde direnç gösteren kökene rastlamamışlardır. Çalışmamızda izole ettiğimiz *S.pneumoniae* kökenlerinin % 30.5'inde penisilin direnci belirlenmiştir. Dirençli kökenlerde penisiline % 5.5 oranında yüksek düzeyde, % 25 oranında orta düzeyde direnç saptanmıştır.

Günümüzde pnömokokların sefalosporinlere direnci hakkında uygun bir tanımlama yapılamamıştır, ancak sefalosoprinlere dirençli kökenlerin PBP'leri ile, penisiline dirençli kökenlerin PBP'leri arasında önemli farklar olduğu gösterilmiştir (22). Sefalosporinlere dirençli pnömokokların penisilinden farklı ve kendilerine özgü PBP değişikliklerine sahip olabildikleri ve bu nedenle de penisiline direnç düzeyinin her zaman sefalosporin direnci ile uyum göstermediği bildirilmektedir (3,13,22). PİKİS ve ark. (18) 1997 yılında penisiline orta duyarlı veya dirençli 59 kökenin ancak % 15'inde sefotaksime azalmış duyarlılık göstermişlerdir. Pnömokokların sefalosporin direnci Asensi ve ark. (2)'nin yaptığı çalışmada sefotaksime dirençli bir pnömokok kökeninde de gösterilmiş ve soyutlanan pnömokok kökeninde sefotaksim için MİK 2 µg/ml olarak bildirilmiştir. Günümüzde pnömokokların istisnasız olarak duyarlı olduğu antibiyotik vankomisindir (9). 1963'de tetrasikline, 1964'te eritromisine, 1967'de klindamisine, 1977'de kloramfenikole dirençli kökenler bildirilmiştir (9,11).

1996 yılında Liljequist ve ark. (14) 257 *S.pneumoniae* kökeninde % 2 oranında penisilin direnci bildirmişler, ayrıca % 1 oranında eritromisin direnci, % 3 oranında tetrasiklin ve trimetoprim/sulfametoksazol direnci saptamışlardır. PİKİS ve ark. (18) ise 59 *S.pneumoniae* kökeninde kloramfenikole % 31, imipeneme % 47, meropeneme % 49 oranında azalmış duyarlılık bildirmişlerdir. Çalışmamızda amoksisilin+klavulanik aside % 5, eritromisine % 20, tetrasikline % 12, kloramfenikole % 16, ofloksasine % 11, rifampisine % 7, kotrimoksazole % 28 oranında direnç belirlenmiştir. Vankomisine dirençli köken saptanmamıştır.

*S.pneumoniae* kökenlerinde penisilin direncinin ülkemizde artmakta olduğu görülmektedir (4,5,7,13,17,19,20). Bu direncin yanısıra sefalosporin direncinde de artış görülmesi, invaziv pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde güçlükler yaratmaktadır (5-9,16). Bu nedenle üretilen *S.pneumoniae* kökenlerinin antimikrobik maddelere ve özellikle penisiline direnç durumunun araştırılması, dirençli köken taşıyan taşıyıcı sayısının sınırlanması ve tedavi politikasının düzenlenmesi açısından oldukça önem taşımaktadır.

#### KAYNAKLAR

- 1- Appelbaum PD: Emerging resistance to antimicrobial agents in Gram positive bacteria, pneumococci, *Drugs 51 (Suppl 1):1* (1996).
- 2- Asensi F, Perez-Tamarit D, Otero MC: Imipenem-cilastatin therapy in a child with meningitis caused by a multiple resistant pneumococcus, *Pediatr Infect Dis J 8:895* (1989).

- 3- Chesney PJ: The escalating problem of antimicrobial resistance in Streptococcus pneumonia, *AJ DC* 146:912 (1992).
- 4- Çavuşoğlu C, Özinel MA: Pnömonoklarda antibiyotik direnci ve dirençli pnömokoksik infeksiyonların sağaltımı, *İnfeksiyon Derg* 11:167 (1997).
- 5- Çavuşoğlu C, Hoşgör M, Tünger A, Özinel MA: Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin duyarlılığının araştırılması, *Mikrobiyol Bült* 31:113 (1997).
- 6- Felmingham D, Grünberg RN and The Alexander Project Group: A multicentre collaborative study of the antimicrobial susceptibility of community acquired, lower respiratory tract pathogens 1992-1993: The Alexander Project, *J Antimicrob Chemother* 38 (Suppl A):1 (1993).
- 7- Gür D, Tunçkanat F, Şener B, Kanra G, Akalın HE: Penicillin resistance in Streptococcus pneumoniae in Turkey, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1:150 (1995).
- 8- Hansman D, Bullen MM: A resistant pneumococcus, *Lancet* 2:264 (1967).
- 9- John RL, Antone AM: The growing threat of antibiotic resistant Streptococcus pneumoniae, *Med Clin North Am* 79:523 (1995).
- 10- Jorgensen JH, Ferraro MJ, Mc Elmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover FC: Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among S.pneumoniae clinical isolates by use of the E test, *J Clin Microbiol* 32:159 (1994).
- 11- Klugman KP: Pneumococcal resistance to antibiotics, *Clin Microbiol Rev* 3:171 (1990).
- 12- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Antimicrobial susceptibility testing, "Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 4. baskı" kitabında s. 90, Lippincott Co., Philadelphia (1997).
- 13- Leblebicioğlu H: Solunum yolu infeksiyonları: Etkenler ve antimikrobiyal direnç, *Prognoz* 1:4 (1998).
- 14- Liljequist-Olsson B, Hoffman BM, Hedlung J: Activity of trovafloxacin against blood isolates of Streptococcus pneumoniae in Sweden, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 15:671 (1996).
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Sixth informational supplement, S8-M100, NCCLS, Wayne (1998).
- 16- Nelson CT, Mason EO, Kaplan SL: Activity of oral antibiotics in middle ear and sinus infections caused by penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae: Implications for treatment, *Pediatr Infect Dis J* 13:585 (1994).
- 17- Öngen B, Kaygusuz A, Özalp M, Gürler N, Töreci K: Penicillin resistance in Streptococcus pneumoniae in Istanbul, Turkey, *J Clin Microbiol* 1:150 (1995).
- 18- Pikis A, Donkersloot JA, Akram S, Keith JM, Campos JM, Rodriguez WJ: Decreased susceptibility to imipenem among penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae, *J Antimicrob Chemother* 40:105 (1997).
- 19- Topkaya A, Çıragil P, Söyletir G: Multiple resistances in Streptococcus pneumoniae in Turkey, *Clin Microbiol Infect* 3 (Suppl 2):290 (1997).
- 20- Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE: Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci, *Mikrobiyoloji Bült* 26:307 (1992).
- 21- Unat EK: *Tıp Bakteriyojisi ve Virolojisi, İnsanda Hastalık Yapan Bakteriler, Virüsler ve Bunlarla Oluşan İnfeksiyon Hastalıkları*, 2. baskı, s. 420, Dergah Yayınları, İstanbul (1986).
- 22- Wenger A, Moreillon P: Resistance aux antibiotiques chez les pneumococcus, *Schweiz-Med-Wochenschr* 17:255 (1996).