

HAEMOPHILUS INFLUENZAE, MORAXELLA CATARRHALIS, STREPTOCOCCUS PYOGENES VE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇİ*

Nilgün KANSAK, Lütfiye ÖKSÜZ, Arif KAYGUSUZ,
Betigül ÖNGEN, Kurtuluş TÖRECİ

ÖZET

Ağustos 1996-Mart 1997 arasında çocuk hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 50 *H.influenzae* ve *S.pyogenes*, 20 *S.pneumoniae* ve *M.catarrhalis* suşunun antibiyotik duyarlılık deneyleri NCCLS önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. *H.influenzae* ve *M.catarrhalis* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi nitrocefim diski ile, *S.pneumoniae* suşlarında penisilin MIC'u E test ile saptanmıştır.

H.influenzae suşlarında beta-laktamaz aktivitesi tespit edilmemiş, penisilinlere, sefalosporinlere, azitromisin ve kloramfenikole direnç saptanmamış, suşların 7'si (%14) ko-trimoksazole dirençli bulunmuştur.

M.catarrhalis suşlarının 13'ü (%65) beta-laktamaz pozitif bulunmuş, ampisilin-sulbaktama, sefalosporinlere, azitromisine ve kloramfenikole direnç saptanmamıştır.

S.pyogenes suşlarından 2'si (%4) eritromisine dirençli bulunmuştur.

S.pneumoniae suşlarından 10'u (%50) penisiline düşük düzeyde dirençli bulunurken, 7 suş (%35) ko-trimoksazole, 2 suş (%10) eritromisine, 2 suş da (%10) kloramfenikole dirençli bulunmuştur.

SUMMARY

Antibiotic resistance in Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pyogenes and Streptococcus pneumoniae strains.

Between August 1996 and March 1997, 50 *H.influenzae* and *S.pyogenes*, 20 *S.pneumoniae* and *M.catarrhalis* strains were isolated from various clinical samples of pediatric patients. Antibiotic susceptibility was determined by the disk diffusion method according to NCCLS guidelines. Beta-lactamase activity was detected with nitrocefim disks in *H.influenzae* and *M.catarrhalis* strains. MIC values of penicillin for *S.pneumoniae* strains were detected with E test.

No beta-lactamase activity was detected in *H.influenzae* strains. Resistance to penicillins, cephalosporins, azithromycin and chloramphenicol was not observed. Seven (14%) strains were found resistant to co-trimoxazole.

Beta-lactamase activity was found positive in 13 (65%) *M.catarrhalis* strains and there was no resistance to ampicillin-sulbactam, cephalosporins, azithromycin and chloramphenicol.

Two (4%) *S.pyogenes* strains were found to be *erythromycin* resistant.

* 12. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (2-6 Haziran 1997; Antalya).

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Çapa, İstanbul.

Low-level resistance to penicillin was found in 10 (50%) *S.pneumoniae* strains. Seven (35%) strains were resistant to co-trimoxazole, 2 (10%) to erythromycin and chloramphenicol.

GİRİŞ

Haemophilus influenzae, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* üst solunum yolunun fırsatçı bakterileri olup lokal (pnömoni, otit, sinüzit) ve sistemik infeksiyonlara sebep olabilirler (5,19,30). A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS) ise faringo-tonsilitin en sık rastlanan bakteriyel etkenidirler. 1980'li yılların sonundan itibaren PBP'deki değişikliklere bağlı olarak penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarında ve beta-laktamaz üretimine bağlı olarak ampiciline dirençli *M.catarrhalis* ve *H.influenzae* suşlarında artış saptanmıştır.

Penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşları için İspanya'da %40-54, Fransa'da %20, İngiltere'de %5 (10), ABD'de %5-26 (30), Türkiye'de yapılan çalışmalarda %6-51 (17,22); beta-laktamaz üreten *H.influenzae* suşları için İngiltere'de %10.6, İspanya'da %33.3, Fransa'da 19.5, Almanya,'da %17.2 (9), Türkiye'de %21-23 (20,37) gibi oranlar verilmiş, birçok ülkede *M.catarrhalis* suşlarının yaklaşık 3/4'ü beta-laktamaz pozitif bulunmuştur (11). AGBHS'larda çeşitli nedenlerle oluşan tedavi başarısızlığına rağmen bugüne kadar penisiline dirençli suş saptanmamış; eritromisin direnci ise, Fransa ve Japonya'da (27) %50'nin üzerinde, ABD'de ve diğer birçok ülkede %5'den az olarak bildirilmiştir (15).

Çalışmamızda çocuk hastaların çeşitli örneklerinden izole edilen *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, *M.catarrhalis* ve AGBHS suşlarında antibiyotik direnci araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ağustos 1996-Mart 1997 arasında çocuk hastalardan izole edilen 20 *S.pneumoniae*, 20 *M.catarrhalis*, 50 *S.pyogenes* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları %5 koyun kanlı Mueller-Hinton agarda NCCLS önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile, *S.pneumoniae*'de penisilin MIC'u E test (AB Biodisk) ile, 50 *H.influenzae* suşunun antibiyotik duyarlılıkları HTM'da (Haemophilus Test Medium) disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. *H.influenzae* ve *M.catarrhalis* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi nitrosefin diski (Cefinase-BBL) ile aranmıştır (26). Suşların denendiği antibiyotikler tablo 1'de gösterilmiştir.

BULGULAR

İzole edilen yirmi *S.pneumoniae* suşundan 10'u (%50) E test ile penisiline düşük düzeyde dirençli bulunurken, 7 suş (%35) ko-trimoksazole, 2 suş (%10) eritromisine, 2 suş da (%10) kloramfenikole dirençli bulunmuştur.

Elli *S.pyogenes* suşunda penisiline direnç saptanmamış, 2 suş (%4) eritromisine dirençli bulunmuştur.

Elli *H.influenzae* suşunda beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır. 7 suş (%14) ko-trimoksazole dirençli bulunmuş, denenen diğer antibiyotiklere direnç saptanmamıştır.

Yirmi *M.catarrhalis* suşundan 13'ünün (%65) beta-laktamaz oluşturduğu belirlenmiş ve denenen antibiyotiklere direnç saptanmamıştır. Sonuçlar tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. *H.influenzae*, *M.catarrhalis*, *S.pyogenes* ve *S.pneumoniae* suşlarında alınan sonuçlar.

Bakteriler (n)	Beta-laktamaz	Penisilin	Ampisilin	Ampisilin+sulbaktam	Sefaklor	Sefuroksim	Sefotaksim	Ko-trimoksazol	Eritromisin	Azitromisin	Kloramfenikol	Vankomisin
<i>H.influenzae</i> (50)	0	0	0	0	0	0	0	7		0	0	
<i>M.catarrhalis</i> (20)	13		0	0	0	0	0	0		0	0	
<i>S.pyogenes</i> (50)		0							2			
<i>S.pneumoniae</i> (20)		10*						7	2		2	0

*MIC: 0.12-1.0 mg/l

TARTIŞMA

Pnömonoklarda penisilin direnci PBP'lerdeki değişiklikler sonucu penisilin bu proteinlere afinitesinin azalması ile oluşmaktadır. Penisilin dirençli suşlarda, özellikle PBP 1a, 2b ve 2x'de değişiklik saptanmaktadır ve sadece PBP 2x'de değişiklik bulunan suşlar oksasiline dirençli iken penisiline duyarlı olabilmektedir. Bu nedenle oksasilin diski ile çalışıldığında oksasiline duyarlı suşların tümü penisiline duyarlı bulunurken, oksasiline dirençli suşlarda penisilin direnci ve derecesi dilüsyon testleri veya E test ile araştırılmalıdır. Ancak yalnız E test ile çalışıldığında da gerçek dirençli suşların bir kısmı düşük düzeyde (rölatif) dirençli bulunabilmektedir.

Pnömonoklarda bugüne kadar beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır. Penisilin MIC'u ≤ 0.06 mg/l olan pnömonok suşları penisiline duyarlı, 0.12-1 mg/l olanlar penisiline düşük düzeyde veya rölatif dirençli, ≥ 2 mg/l olanlar yüksek derecede veya gerçek dirençli suşlar olarak tanımlanmaktadır (6). Çalışmamızda penisiline gerçek dirençli suş saptanmamış, düşük düzeyde dirençli suşların oranı %50 olarak bulunmuştur. 1990-1997 yılları arasında ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda izole edilen *S.pneumoniae* suşları için bildirilen penisilin direnç oranları tablo 2'de özetlenmiştir.

Penisilin dirençli pnömonok suşlarının yanında çoğul dirençli suşlar da giderek artmaktadır. Çoğul dirençli suşların önemli bir bölümü penisiline ve penisiline alternatif olabilecek kloramfenikol, makrolid, tetrasiklin ve ko-trimoksazole de dirençlidirler. Bu durum tedavide önemli problemler yaratmaktadır (34). Nitekim 20 suşumuzdan 7'si ko-trimoksazole, ikişer suş eritromisin ve kloramfenikole dirençli bulunmuştur.

Tablo 2. Ülkemizde yapılan çalışmalarda bildirilen penisiline düşük düzeyde dirençli (O) ve dirençli (Di) pnömokok oranları (%).

Şehir (Yıl)	n	O	Di	Kaynak
Ankara (1990-1992)	87	26	7	35
Ankara (1992-1994)	108	51	1	17
Ankara (1992-1995)	86	21	3.5	23
Ankara (1994)	70	30	17	12
Ankara (1994-1995)	40	30	0	14
Ankara (1995)	45	29	0	1
İstanbul (1994-1995)	41	34	0	29
İstanbul (1995)	100		6?	22
İstanbul (1995)	94	13	1	25
Kayseri (1992-1994)	49	22	0	32
İzmir (1994-1995)	?		32?	7,8
Bu çalışma (1996-1997)	20	50	0	

Antibiyotik direncinin bakteriler arasında artmasına rağmen AGBHS'ların çoğu antibiyotiklere duyarlıdır. AGBHS suşları için penisilinin MIC'u son 40 yıldır değişmemiştir. Makrolid direnci klinik olarak önemlidir, fakat AGBHS için genellikle %5'in altındadır (15). Çalışmamızda eritromisin direnci %4 olarak bulunmuştur. Gürsoy ve ark. (13) eritromisin direncini %7, Ulusoy ve ark. (36) %3.7, Şener ve ark. (33) ise %2 olarak bildirmişlerdir.

M.catarrhalis suşlarında giderek artan oranlarda beta-laktamaz üretimi saptanmaktadır. Çalışmamızda beta-laktamaz üretimi %65 olarak bulunmuş, denenen diğer antibiyotiklere direnç saptanmamıştır. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda Akıncıbay ve ark. (2) %66, Koç ve ark. (24) %52.2, Kocabeyoğlu ve ark. (21) %73, Bal (4) %58-83 oranında beta-laktamaz aktivitesi belirlemişlerdir.

Bugün birçok ülkede beta-laktamaz oluşturan *H.influenzae* suşlarının oranı gittikçe artmaktadır. Ampisiline dirençli suşların çoğu ampisilini inaktive eden TEM-1 beta-laktamazını oluştururlar (18,31). Az sayıda suş ROB-1 beta-laktamazı ile veya beta-laktamaz oluşturmada ampisiline direnç geliştirmektedir (9). Çalışmamızda 50 *H.influenzae* suşunun hiçbirinde beta-laktamaz aktivitesi saptanmamış, ampisilin direncine de rastlanmamıştır. 1994 yılında Vahaboğlu ve ark. (37) ampisilin direncini %25, beta-laktamaz pozitifliğini %21, 1996 yılında Kocabeyoğlu ve ark. (20) beta-laktamaz pozitifliğini ve ampisilin direncini %23.3, Aydın ve ark. (3) genital salgılardan izole edilen suşlarda ampisilin direncini %37.5 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda *H.influenzae* suşlarında beta-laktamaz aktivitesinin saptanmaması bu konuda yapılan birçok çalışma ile çelişkili görülmektedir. Değişik coğrafik bölgelerden, hastanelerden veya toplumlardan, değişik yaş gruplarından ve muayene maddelerinden (28) hatta farklı mevsimlerde izole edilen suşlardaki direnç oranları farklı bulunabilir (38). Weightman ve ark. (38) tarafından yapılan bir çalışmada sonbahar ve kış aylarında izole edilen *H.influenzae* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi %8 bulunurken, ilkbahar aylarında %23 gibi yüksek bir oran bulunmuştur. Bölümümüzde Kaygusuz ve ark. (16) tarafından kış sonu ve bahar başlangıcı döneminde yapılan çalışmada beta-laktamaz pozitifliği %22 bulunurken, 1 yıl içinde tüm mevsimleri kapsayan diğer bir çalışmada (28) %12 gibi daha düşük bir oran

bulunmuştur. Yine bu çalışmada çocuk hastaların çeşitli örneklerinden izole edilen *H.influenzae* suşlarında direnç oranları boğaz salgısından izole edilen suşlarda %20, boğaz salgısı dışındaki örneklerde ise %3 olarak muayene maddelerine göre oldukça farklı bulunmuştur. Çalışmamızın yapıldığı dönem ve muayene maddeleri (17 boğaz salgısı, 33 boğaz salgısı dışı örnekler) göz önüne alındığında suşlarımızda beta-laktamaz aktivitesine rastlanmaması açıklanabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Akan Ö, Kanra G, Ceyhan M, Ecevit Z, Erdem G, Seçmeer G: Ankara'da izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarında antibiyotik duyarlılık durumu, *Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler*, Kongre Kitabı s. 37, Antalya (1995).
- 2- Akıncıbay H, Kocagöz T, Kocagöz S: Sağlıklı ve erişkinlerde oral ve farengeal florada *Branhamella catarrhalis* taşıyıcılığı, *Mikrobiyol Bült* 28: 12 (1994).
- 3- Aydın MD, Özalp M, Aktaş G, Güvener Z, Anğ Ö: Genital örneklerden izole edilen hemofil cinsi bakterilerin tiplendirilmeleri, *Klinik Derg* 2: 91 (1996).
- 4- Bal Ç: Solunum sistemi örneklerinde *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* sıklığı, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1993).
- 5- Campos JM: *Haemophilus*, "P R Murray (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 6. baskı" kitabında s. 556, Am Soc Microbiol, Washington (1995).
- 6- Caputo GM, Appelbaum PC, Liu HH: Infections due to penicillin resistant pneumococci, *Arch Intern Med* 153: 1301 (1993).
- 7- Çavuşoğlu C: Pnömonoklarda antibiyotik direnci, *Uzmanlık Tezi*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir (1996) (8.kaynakta site edilmiştir).
- 8- Çavuşoğlu C, Özinel MA: Pnömonoklarda antibiyotik direnci ve dirençli pnömokoksik infeksiyonların sağaltımı, *İnfeksiyon Derg* 2: 167 (1997).
- 9- Doern GV and The Alexander Project Collaborative Group: Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study, *J Antimicrob Chemother* 38 (Suppl A): 59 (1996).
- 10- Goldstein FV, Acar JF and The Alexander Project Collaborative Group: Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study, *J Antimicrob Chemother* 38 (Suppl A): 71 (1996).
- 11- Gröschel DHM: *Moraxella catarrhalis* and other Gram negative cocci, "G L Mandell, J E Bennett, R Dolin (eds): *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4.baskı" kitabında s. 1926, Churchill Livingstone, New York (1995).
- 12- Gür D, Tunçkanat F, Şener B, Kanra G, Akalın HE: Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13: 440 (1994).
- 13- Gürsoy HG, Çöplü N, Zarakolu P, Ulumlu G, Özkaya E, Güvener E: Grup A beta-hemolitik streptokokların eritromisine in-vitro duyarlılıklarının araştırılması, *ANKEM Derg* 8: 23 (1994).
- 14- Kanra G, Akan Ö, Ceyhan M, Erdem G, Ecevit Z, Seçmeer G: Çocuklarda hastalık etkeni olan *Streptococcus pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnci, *Mikrobiyol Bült* 30: 25 (1996).
- 15- Kaplan EL: Recent evaluation of antimicrobial resistance in beta- hemolytic streptococci, *Clin Infect Dis* 24(Suppl 1): 89 (1997).
- 16- Kaygusuz A, Özalp M, Öngen B, Gürler N, Töreci K: İstanbul'da çocuk hastalardan izole edilen *Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus parainfluenzae* suşlarında antibiyotiklere direnç, *ANKEM Derg* 9: 47 (1995).

- 17- Kılıç D, Altay G: Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin duyarlılığı, *Mikrobiyol Bült* 30: 333 (1996).
- 18- Kilian M: Haemophilus, "A Balows, WJ Hausler Jr, K Herrmann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s. 463, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
- 19- Knapp JS, Rice RJ: Neisseria and Branhamella, "PR Murray (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 6. baskı" kitabında s. 324, Am Soc Microbiol, Washington (1995).
- 20- Kocabeyoğlu Ö, Birinci İ, Koşan E: Haemophilus influenzae suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılık, *ANKEM Derg* 10: 119 (1996).
- 21- Kocabeyoğlu Ö, Fidan A, Koşan E, Birinci İ: Moraxella (Branhamella) catarrhalis suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 10: 118 (1996).
- 22- Kocabeyoğlu Ö, Özperçin İ, Koşan E, Keskin K, Birinci İ, Fidan A, Kanmaz M: Streptococcus pneumoniae suşlarında değişik antibiyotiklere dirençlilik oranları, *ANKEM Derg* 9: 113 (1995).
- 23- Kocagöz S, Gür D, Ünal S: Erişkin yaş hasta grubundan izole edilen Streptococcus pneumoniae suşlarının antimikrobiyol direnci ve serotip dağılımları, *ANKEM Derg* 11: 96 (1997).
- 24- Koç AN, Fazlı Ş, Aydın N, Sümerkan B: Çocukların nazofarinks kültürlerinden Moraxella (Branhamella) catarrhalis'in izolasyonu ve beta-laktamaz aktivitesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 24: 14 (1994).
- 25- Mülazımoğlu L, Erdem İ, Taşer B, Semerci İ, Korten V: Nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae (PenRSP) at day-care centers in Istanbul, *7th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Vienna (1995).
- 26- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial susceptibility testing*, 6th Informational Supplement (M100-S6), National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne (1995).
- 27- Neu HC: The development of macrolides: clarithromycin in perspective, *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl A): 1 (1991).
- 28- Öngen B, Kaygusuz A, Küçükbaşmacı Ö, Gürler N, Töreci K: İstanbul'da çocuk hastalardan izole edilen Haemophilus influenzae suşlarında antibiyotik direnci, "Ö Anđ, M Mamal (eds): *Haemophilus influenzae İnfeksiyonları Simpozyumu*" kitabında s.174, Türk Mikrobiyoloji Cem Yayını No.24, İstanbul. (1995).
- 29- Öngen B, Kaygusuz A, Özalp M, Gürler N, Töreci K: Penicillin resistance in Streptococcus pneumoniae in Istanbul, *J Clin Microbiol Infect* 1: 150 (1995).
- 30- Ruoff KL: Streptococcus, "PR Murray (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 6. baskı" kitabında s.299, Am Soc Microbiol, Washington (1995).
- 31- Scriver SR, Walmsley SL, Kau CL, Hoban DJ, Brunton J, McGeer A, Moore TC, Witwicki E, Canadian Haemophilus Study Group and Low DE: Determination of antimicrobial susceptibilities of Canadian isolates of Haemophilus influenzae and characterization of their beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 38: 1678 (1994).
- 32- Sümerkan B: Pnömonoklarda penisilin direnci: Türkiye'deki durum, *3. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler*, Kongre Kitabı s.21, Kuşadası (1997).
- 33- Şener B, Gür D, Sümerkan B, Koç A N, Günalp A, Ünal S, Akalın HE: Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pneumoniae ve Streptococcus pyogenes'in çeşitli antibiyotiklere karşı in-vitro duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 30: 129 (1996).
- 34- Tomasz A: Antibiotic resistance in Streptococcus pneumoniae, *Clin Infect Dis* 24 (Suppl 1): 85 (1997).

- 35- Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE: Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci, *Mikrobiyol Bül* 26: 307 (1992).
- 36- Ulusoy S, Özinel MA, Özkan F, Çetin B, Tünger A, Tokbaş A: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda makrolid ve linkozamid direncinin araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 9: 395 (1995).
- 37- Vahaboğlu MH, Mülazımoğlu L, Yıldırım İ, Avkan V, Taşer B: Nasopharyngeal carriage rate and antimicrobial resistance of Haemophilus influenzae in İstanbul-Türkiye, *Marmara Med J* 7: 78 (1994).
- 38- Weightman N, Barnham M: Seasonal variation in incidence of beta-lactamase production by Haemophilus influenzae isolated from sputa in community-acquired lower respiratory tract infections (LRTI), *20th International Congress of Chemotherapy, Book of Abstracts*, Abs. No. 4328, Sydney (1997).