

## KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* SUŞLARINDA ARTAN PENİSİLİN DİRENCİ VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ DURUMU\*

İnci TUNCER\*, Uğur ARSLAN\*, Duygu FINDIK\*, Onur URAL\*\*

\* Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

\*\* Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyojoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, KONYA

### ÖZET

Son yıllarda *Streptococcus pneumoniae* suşlarının penisilin ve diğer antibiyotiklere direnç geliştirdiğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur.

Bu çalışmada Selçuk Üniversitesi Hastanesinde Ocak 2001-Aralık 2003 arasında klinik örneklerden izole edilen 89 *S.pneumoniae* suşunda çeşitli antibiyotiklere direnç NCCLS önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Penisiline direnç oksasiline diski ile taranmış, oksasiline dirençli suşlarda penisilin mik değerleri E-test yöntemi ile saptanmıştır.

*S.pneumoniae*'de penisiline yüksek düzeyde direnç % 4 oranında saptanmış, suşların % 15'i orta duyarlı, % 81'i duyarlı bulunmuştur.

İzolatların % 49'u trimetoprim-sulfametoksazole, % 16'sı eritromisine, % 8'i klindamisine, % 4'ü kloramfenikol ve levofloksasine, % 3'ü sefotaksime dirençli bulunmuş, vankomisine direnç gözlenmemiştir. Hastanemizde 2000 yılına kadar izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında penisiline yüksek düzeyde direnç görülmez iken son üç yılda % 4 oranında saptanması bu mikroorganizmanın yaptığı infeksiyonlarda daha dikkatli olunması gerektiğinin göstergesidir.

**Anahtar sözcükler:** penisilin direnci, *Streptococcus pneumoniae*

### SUMMARY

#### Increasing Penicillin Resistance and Resistance to some other Antibiotics in *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Specimens

In recent years there are a lot of studies showing resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains to penicillin and other antibiotics.

In this study, the resistance to various antibiotics in 89 *S.pneumoniae* strains isolated between January 2001 and December 2003 was investigated by Kirby-Bauer disk diffusion method according to the NCCLS guidelines. Penicillin resistance was screened by oxacillin disks and the MIC values of penicillin in oxacillin resistant isolates was determined by E-test.

Of the total 89 strains 4 % were highly and 15 % were intermediately resistant to penicillin. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole, erythromycin and clindamycin was 49 %, 16 % and 8 %, respectively. Resistance to chloramphenicol and levofloxacin was 4 %, and 3 % of the isolates were resistant to cefotaxime. Resistance was not found against vancomycin. Before the year 2000 there had been no high level resistance to penicillin among *S.pneumoniae* strains in our hospital but in the last three years 4 % of the isolates are highly resistant. Physicians have to be more careful when using penicillin in infections in which *S.pneumoniae* is thought to be the causative agent.

**Keywords:** penicillin resistance, *Streptococcus pneumoniae*

---

**Yazışma adresi:** İnci Tuncer, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

Tel.: (0332) 223 67 80- (0532) 683 00 28

e-posta: incituncer@yahoo.com

Alındığı tarih: 20.12.2004, revizyon kabulü: 08.02.2005

\*XXXI.Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur (19-23 Eylül 2004, Kuşadası, Aydın).

## GİRİŞ

*Streptococcus pneumoniae* (pnömokok), diğer birçok mikroorganizma ile birlikte üst solunum yolu florasında bulunur. Bu bakteri sinüzit, otitis media gibi infeksiyonların yanısıra pnömoni ve menenjit gibi yaşamı tehdit eden ağır infeksiyonlara da neden olabilmektedir<sup>(13)</sup>.

Pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde penisilin yıllarca başarı ile kullanılmış ve halen tercih edilen bir antibiyotiktir. Ancak penisilin direnci, 1940'lı yıllarda bu antibiyotiğin klinik kullanımının yaygınlaşmasının ardından, ilk kez laboratuvar suşlarında gösterilmiştir. Direnç, pnömokokların hücre membranındaki penisilin bağlayan proteinlerinde (PBP) oluşturduğu değişiklik sonucu ortaya çıkmaktadır<sup>(18)</sup>. Ülkemizde 1990'lı yıllardan bu yana bazı merkezlerde pnömokoklarda penisilin direncinin varlığını gösteren çalışmalar mevcut olup gün geçtikçe bu sayılar artmaya başlamıştır.

Bu çalışmada değişik klinik örneklerden soyutlanan *S.pneumoniae* suşlarının penisiline ve diğer bazı antibiyotiklere direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2001-Aralık 2003 arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen *S.pneumoniae* suşları çalışmaya alınmıştır.

Koyun kanlı agarda (% 5) üreyen alfa-hemolitik kolonilere Gram boyama, optokin duyarlılığı ve safrada erime testleri uygulanmıştır. Pnömokok tanısı konan suşlarda penisiline direnci saptamak için oksasilin diski (1 µg) kullanılmıştır. Oksasilin diski ile test edilen suşların etrafında zon çapı ≥20 mm olanlar penisiline duyarlı, ≤19 mm olanlar penisiline dirençli olarak değerlendirilmiştir. Oksasiline dirençli olan suşlarda E-test (AB Biodisk) ile penisilin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenmiştir. Bunlara ilaveten eritromisin, trimetoprim-sulfametoksazol, klindamisin, kloramfenikol, levofloksasin, sefotaksim ve vankomisine direnci belirlemek için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Sonuçlar NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiştir<sup>(17)</sup>. *S.pneumoniae* ATCC 49619 kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızdaki *S.pneumoniae* suşları en sık kan örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen 89 *S.pneumoniae* suşunun klinik örneklere dağılımı tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1:** İzole edilen *S.pneumoniae* suşlarının klinik örneklere dağılımı.

Klinik örnek	Sayı	%
Kan	27	30
Solunum yolu (Bronş 10, Trakea 7)	17	19
Beyin-omurilik sıvısı	16	18
Kulak salgısı	15	17
Yara materyali	14	16
Toplam	89	

Çalışmaya alınan 89 *S.pneumoniae* suşunda vankomisine direnç gözlenmemiştir. Suşlara trimetoprim-sulfametoksazol en az etkili antimikrobik olarak bulunmuştur (% 49 direnç). Kan, trakea, beyin-omurilik sıvısı ve yara örneklerinden birer adet olmak üzere izole edilen toplam 4 suşun penisiline yüksek düzeyde dirençli olduğu belirlenmiştir. 89 pnömokok suşunun E-test ile belirlenen penisilin direnci ve disk difüzyonla belirlenen diğer antibiyotiklere direnci tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2:** İzole edilen 89 *S.pneumoniae* suşunun penisiline E- test ve diğer antibiyotiklere disk difüzyon ile belirlenen direnç durumu.

Antibiyotikler	Dirençli n (%)	Orta duyarlı n (%)	Duyarlı n (%)
Penisilin (MİK)	4 (4)	13 (15)	72 (81)
Vankomisin	0 (0)		89 (100)
Sefotaksim	3 (3)		86 (97)
Kloramfenikol	4 (4)		85 (96)
Levofloksasin	4 (4)		85 (96)
Klindamisin	7 (8)		82 (92)
Eritromisin	14 (16)		75 (84)
TMP/SMZ	44 (49)		45 (51)

## TARTIŞMA

Penisilin pnömokoklara bağlı infeksiyonların tedavisinde genellikle ilk tercih edilen antibiyotiktir. Ancak son yıllarda penisiline dirençli pnömokokların görülmesi sonucu, tedavide başarısız sonuçlar alınmaktadır. Penisiline dirençli pnömokok izolatları artık dünyanın birçok ülkesinden bildirilmektedir<sup>(1,5,6)</sup>.

Direnç gelişimi ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye hatta aynı hastanede yıllar içinde farklılık göstermektedir. İngiltere'de Goldsmith ve ark.<sup>(7)</sup>'nin yaptığı çalışmada penisilin direnci 1988 yılında % 0.8 iken, 1995 yılında % 10.6'ya çıkmıştır. Tayvan'da ise 1992 yılında % 1.6 olan direnç 1997 yılında % 66.2'ye çıkmıştır<sup>(12)</sup>. İspanya'da 1990-1996 yılları arasında toplam 9243 suşla yapılan çalışmada % 49 oranında penisilin direnci bildirilmiştir<sup>(4)</sup>. Slovenya'da 1993-1995 yılları arasında penisilin direnci % 16.6 olarak bulunmuştur<sup>(2)</sup>. Hastanemizde 1999 yılında yaptığımız çalışmada klinik örneklerden izole edilen 50 *S.pneumoniae* suşunda penisiline yüksek düzeyde direnç yok iken<sup>(24)</sup>, bu çalışmada 2001-2003

yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 89 *S.pneumoniae* suşunda % 4 oranında penisiline yüksek düzeyde direnç saptanmıştır. Bu durum *S.pneumoniae* suşlarının penisiline duyarlılıklarının sık aralıklarla ve yakından takip edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Ülkemizde penisiline yüksek düzeyde direnç gösteren ilk pnömokok izolatı Tunçkanat ve ark.<sup>(25)</sup> tarafından bildirilmiştir. *S.pneumoniae* suşlarında penisiline orta düzey direnç ve yüksek düzey direnç bildiren çalışmaların dökümü tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 3:** Türkiye'de yapılan çalışmalarda, pnömokoklarda saptanan penisilin direnci.

Çalışma	Yıl	İzolat sayısı	ODD %	YDD %	Yöntem
Tunçkanat ve ark. <sup>(25)</sup>	1992	68	26.3	7.3	Agar dilüsyon
Gür ve ark. <sup>(11)</sup>	1994	70	30	17	Agar dilüsyon
Çavuşoğlu ve ark. <sup>(3)</sup>	1993-94	84	30.9	1.2	Agar dilüsyon
Sümerkan ve ark. <sup>(22)</sup>	1992-94	49	22	-	Agar dilüsyon
Öngen ve ark. <sup>(19)</sup>	1994	41	34	-	Agar dilüsyon
Gür ve ark. <sup>(10)</sup>	1996-97	283	25.8	3.9	E-test
Gür ve ark. <sup>(9)</sup>	1996-99	750	29	3	E-test
Bu çalışma	2001-03	89	15	4	E-test

ODD: Orta düzey direnç, YDD: Yüksek düzey direnç.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *S.pneumoniae* suşlarında penisiline yüksek düzey direnç % 0-17, orta düzey direnç ise % 15-34 arasında değişen oranlarda saptanmıştır<sup>(13,15,16,21)</sup>. Pnömokoklarda penisiline direnç tamamen PBP ile ilişkilidir. PBP'lere bağlı direnç, mutasyonlar ya da bakterilerden yeni genlerin transferi ile mevcut PBP'lerin beta-laktam afinitelerinin azalması ya da afinitesi düşük yeni bir PBP sentezlenmesi şeklinde olur. *S.pneumoniae* izolatlarında 1A, 1B, 2A, 2B, 2X ve 3 olarak ifade edilen 6 yeni PBP tanımlanmıştır. Penisiline düşük düzey direnç PBP 2B, yüksek düzey direnç ise PBP 2X'deki mutasyona bağlıdır<sup>(8,20)</sup>.

Bazı araştırmalarda penisiline dirençli olan pnömokokların sefotaksim veya seftriakson gibi üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı bulunduğu ifade edilmektedir. Bu nedenle pnömokoksik menenjit olgularında MİK düzeyi tesbit edilmeden ampirik olarak penisilin kullanılmamalıdır. Sefotaksim ve seftriakson pnömokoksik menenjit düşünülen olguların tedavisinde penisiline alternatif olarak düşünülecek ilk antibiyotiklerdir<sup>(3,5,15)</sup>. Ancak penisiline dirençli suşlarda 3. kuşak sefalosporinlerin MİK değerlerinin 10 kat yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle etken izole edildiğinde bu grup antibiyotikler için de MİK değeri belirlenmelidir; suş sefalosporine de dirençli olabilir<sup>(3,15,17)</sup>. Pnömokoklarda sefotaksim direnci ilk defa 1989'da bildirilmesine rağmen, günümüzde geniş spektrumlu sefalosporin direnci için herkes tarafından kabul gören bir tanımlama yoktur<sup>(3)</sup>. Albrecht ve ark.<sup>(1)</sup> hastanede pnömone ve menenjit gelişen bir olguda

penisilin, seftriakson ve sefotaksime dirençli *S.pneumoniae* izolasyonu bildirmiştir. Penisilin ve 3. kuşak sefalosporinlere dirençli olgularda vankomisin ilavesi<sup>(15)</sup> veya karbapenemler (menenjitte özellikle meropenem) iyi bir alternatif olarak görülmektedir<sup>(5)</sup>. Bulgularımızda ise sefotaksime direnç oranının düşük (% 3) olması, hastanemizde penisiline dirençli menenjit olgularının tedavisinde 3. kuşak sefalosporinlerin iyi bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

Penisiline direnç geliştirebilen *S.pneumoniae* suşlarının zaman içinde diğer antibiyotiklere de artan oranda direnç geliştirdiği gözlenmektedir. Öztürkeri<sup>(20)</sup> 72 *S.pneumoniae* izolatında bir suşa eritromisine karşı direnç ve % 11 oranında da orta direnç gözlemişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda eritromisine direnç % 0-14 arasında değişmektedir<sup>(16,24)</sup>. Bu çalışmada ise eritromisine direnç % 16 bulunmuştur. İspanya ve Fransa'da yapılan çalışmalarda 1970'lerin sonlarına kadar eritromisine dirençli suşlar saptanmazken, makrolidlerin bu ülkelerde yoğun bir şekilde kullanıma girmesi ile eritromisine dirençli suşların sayısında dramatik bir artış gözlenmiştir<sup>(2,6)</sup>. Türkiye'de de yeni makrolidlerin kontrolsüz kullanımı, artan eritromisin direnci sorununa neden olmaktadır.

Çalışmamızdaki *S.pneumoniae* izolatlarının tamamı, diğer çalışmalarda bildirildiği gibi<sup>(16,21)</sup> vankomisine duyarlı bulunmuştur.

Kloramfenikolün tedavide kullanımı kemik iliği ve kan tablosu üzerine yaptığı olumsuz etki nedeni ile kısıtlıdır<sup>(14)</sup>. Daha önce yaptığımız çalışmada<sup>(24)</sup> kloramfenikole direnç gözlenmez iken bu çalışmamızda % 4 oranında direnç söz konusudur. Kloramfenikol pnömokokların neden olduğu menenjit ve pnömone gibi yaşamı tehdit eden infeksiyonlarda diğer ilaçlara direnç tesbit edilirse, bakteriyostatik bir ilaç olmasına rağmen alternatif olabilir. Kloramfenikol gibi % 4 oranında direnç bulduğumuz levofloksasin menenjit dışındaki *S.pneumoniae* infeksiyonlarının tedavisinde iyi bir alternatif olacaktır.

TMP/SMZ'e direnç değişik çalışmalarda % 28-42 arasında bildirilmektedir<sup>(13,21,23,24)</sup>. Çalışmamızda TMP/SMZ'e direnç % 49 oranında bulunmuştur.

Penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarının yaygınlaşması, bu etkenle oluşan infeksiyonların tedavisinde önemli bir sorundur. Bu nedenle pnömokoklarla oluşan ciddi infeksiyonlarda, özellikle de menenjit ve bakteriyemik pnömoneide penisilin direnci ve direnç düzeyinin belirlenmesi zorunludur<sup>(3,18)</sup>. Ülkemizde orta düzey penisilin direncinin % 15-34, yüksek düzey direncin % 0-17 aralığında olması ve her geçen yıl direncin artması, pnömokoksik menenjit ve bakteriyemik pnömone olgularının ampirik tedavisinde penisilin ilk seçenek olmadığını göstermektedir.

Ülkemizde *S.pneumoniae* suşlarının penisiline direnci merkezlere göre değişiklikler göstermektedir. Zaman içerisinde hastanemizde de penisiline yüksek düzeyde direnç görülmeye

başlaması nedeniyle, özellikle yaşamı tehdit eden infeksiyonlarda *S.pneumoniae* izolasyonunda oksasiline direnç iyi değerlendirilmelidir. Oksasiline direnç söz konusu olduğunda, klinik mikrobiyoloji laboratuvarları penisiline direnci saptayan diğer standart yöntemleri de uygulayarak bulgularını klinisyene MİK sonuçları ile birlikte bildirmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Albrecht WE, Papasian CJ, Bamberger DM, Fiorella R, Riddell SW: Infected abdominal aortic aneurysm due to penicillin-, ceftriaxone-, and cefotaxime-resistant *Streptococcus pneumoniae*, *J Clin Microbiol* 1997; 35:985-7.
2. Cizman M, Paragi M, Jovan-Kuhar N, Gubina M, Orazem A, Pokorn M: Antimicrobial resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Slovenia, 1993-1995, *Scand J Infect Dis* 1997;29:251-4.
3. Çavuşoğlu C, Hoşgör M, Tünger A, Özinel MA: *S.pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığının araştırılması, *Mikrobiyol Bült* 1997;31:113-9.
4. Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Perez A, Casal J: Evaluation of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antibiotic resistance in Spain: update (1990-1996), *J Clin Microbiol* 1998;36:3447-54.
5. Fitoussi F, Doit C, Benali K, Bonacorsi S, Geslin P, Bingen E: Comparative in vitro killing activities of meropenem, imipenem, ceftriaxone, and ceftriaxone plus vancomycin at clinically achievable cerebrospinal fluid concentrations against penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated from children with meningitis, *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:942-4.
6. Garcia-de-Lomas J, Gimeno C, Millas E et al: Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric carriers in Spain, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:11-3.
7. Goldsmith CE, Moore JE, Murphy PG: Pneumococcal resistance in the UK, *J Antimicrob Chemother* 1997;4 (Suppl A):11-8.
8. Gür D: *S.pneumoniae*: İzolasyon, tanı ve antibiyotiklere direnç, *ANKEM Derg* 1995;9:243-51.
9. Gür D, Güçüz B, Haşçelik G et al: *Streptococcus pneumoniae*. Penicillin resistance in Turkey, *J Chemother* 2001;13:541-5.
10. Gür D, Özalp M, Sümerkan B et al: Prevalence of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes*: results of a multicenter study in Turkey, *J Antimicrob Agents* 2002;19:207-11.
11. Gür D, Tunçkanat F, Şener B, Kanra G, Akalın HE: Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13: 440-1.
12. Hisueh PR, Teng LJ, Lee LN, Yang PC, Ho SW, Luh KT: Extremely high incidence of macrolide and trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Taiwan, *J Clin Microbiol* 1999;37: 897-901.
13. Kaleli İ, Akşit F: *S.pneumoniae* suşlarında penisilin direnci, *Flora* 1999; 4:287-92.
14. Kasten MJ: Clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol, *Mayo Clin Proc* 1999;74:825.
15. Kılıç D, Altay G: *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığı, *Mikrobiyol Bült* 1996;30:333-41.
16. Mamal Torun M, Bahar H, Alkan E: *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde penisiline ve diğer antimikrobik maddelere direnç, *ANKEM Derg* 2001; 15:109-13.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Eight Informational Supplement Tables, M100-S13, NCCLS, Wayne (2003).
18. Öncül O, Çavuşlu Ş, Yenen Ş: Penisilin dirençli pnömokoklar ülkemiz için gerçek bir sorun mu? *Flora* 1999;4:3-23.
19. Öngen B, Kaygusuz A, Özalp M, Güler N, Töreci K: Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in İstanbul, *J Clin Microbiol Infect* 1995; 1:150.
20. Öztürkeri H: *Streptococcus pneumoniae*'de penisiline direnç mekanizmaları, *Klimik Derg* 1997;10:51-4.
21. Öztürkeri H, Cerrahoğlu K, Aydılek R: Pnömoni etkeni olarak izole edilen *S.pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 1998;12:8-12.
22. Sümerkan B, Aygen B, Öztürk M, Doğanay M: Pnömokok İnfeksiyonları ve penisilin direnci, *Klimik Derg* 1993;6:29-30.
23. Sümerkan B, Gökahmetoğlu (Duvan) S, Aygen B, Karagöz S: Klinik örneklerden izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bült* 1997;31:331-8.
24. Tuncer İ, Fındık D, Ural O: *Streptococcus pneumoniae* suşlarının değişik antibiyotiklere direnci, *ANKEM Derg* 2001;15:25-9.
25. Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE: *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin direnci, *Mikrobiyol Bült* 1992;26:307-13.