KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* SUŞLARININ ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI*

Buket TOKSOY, Banu BAYRAKTAR, Emin BULUT, Fesem BAŞARI

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilen ardışık 70 Streptococcus pneumoniae suşunun başta penisilin olmak üzere, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, SXT, levofloksasin, vankomisine duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya katılan 70 suşun 13'ünde (% 19) orta düzey penisilin direnci (ODPD) bulunmuş, yüksek düzey penisilin direnci (YDPD) görülmemiştir. Diğer antibiyotiklere direnç oranları SXT için % 41, eritromisin için % 23, klindamisin için % 17, tetrasiklin için % 34 ve levofloksasin % 3 olarak saptanmıştır. Tüm suşlar vankomisine duyarlı bulunmuştur. Penisiline duyarlı suşlarda aynı antibiyotiklere ait direnç oranları sırasıyla % 33, % 16, % 14, % 30, % 4 olarak; ODPD görülen suşlarda ise sırasıyla % 77, % 54, % 31, % 54, % 0 olarak saptanmıştır.

CLSI rehberinde (2008) infeksiyonun lokalizasyonuna göre parenteral penisilinler için yeni MİK değerleri belirlenmiştir. Menenjit dışı infeksiyonlarda yeni duyarlı, orta ve dirençli MİK sınır değerleri sırasıyla ≤2 µg/ml, 4 µg/ml, ≥ 8 µg/ml'dir. Bu kriterlere göre çalışmamızda parenteral penisilinlere karşı orta veya yüksek düzey dirençli bir suş saptanmamıştır. Bu sınır değerlerin kullanılması halen tedaviye penisilinle devam edilebilmesi ve dolayısıyla diğer antibiyotiklere direnç gelişiminin önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Anahtar sözcükler: *antibiyotik direnci, Streptococcus pneumoniae*

SUMMARY

Antibacterial Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Specimens

In this study, aim is to determine mainly penicillin susceptibility of consecutive 70 Streptococcus pneumoniae strains isolated from various clinical samples as infectious pathogens. Erythromycin, clindamycin, tetracycline, SXT, levofloxacin, vancomycin susceptibilities of these strains were also determined.

Thirteen of 70 strains (19 %) showed intermediate level resistance to penicillin whereas no high level penicillin resistant strain was detected. Resistance rates for other antimicrobials were as follows; SXT 41 %, erythromycin 23 %, clindamycin 17 %, tetracycline 34 % and levofloxacin 3 %. Vancomycin resistance was not detected. In penicillin susceptible strains, resistance rates to antibiotics mentioned above were 33 %, 16 %, 14 %, 30 %, 4 %, and in intermediate level penicillin resistant strains these rates were 77 %, 54 %, 31 %, 54 %, 0 %, respectively.

In 2008 CLSI guideline new MIC breakpoints for intravenous penicillins were established according to infection sites. For the infections except meningitis; the new breakpoints for susceptible, intermediate and resistant strains are ≤ 2 µg/ml, 4 µg/ml and ≥ 8 µg/ml, respectively. According to these breakpoints, there was no intermediatly penicillin resistant or resistant strain in our study. The changes in penicillin breakpoints enable to continue the treatment of nonmeningitis pneumococcal infections with penicillin and to avoid emergence of resistance against other antimicrobial agents.

Keywords: *antibiotic resistance, Streptococcus pneumoniae*

Yazışma adresi: Buket Toksoy. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL.
Tel.: (0212) 373 51 99, GSM: (0505) 456 71 70
e-posta: bukettoksoy@gmail.com
Alındığı tarih: 01.12.2009, revizyon kabulü: 23.12.2009

*24.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.103 (29 Nisan-03 Mayıs 2009, Fethiye)

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae otitis media, sinüzit, pnömoni ve menenjit gibi ciddi infeksiyon hastalıklarına yol açabilen bakteriyel bir patojendir. Pnömokok, nazofarinksde kolonize olabilmekte, sağlıklı yetişkinlerin nazofarinks kültürlerinin % 5-10'unda, çocukların % 20-40'ında *S.pneumoniae* kolonizasyonuna rastlanılmaktadır[13]. Bakterinin invazif infeksiyon oluşturabilmesi için vücuttaki steril bölgelere direk ya da hematojen yolla (bakteremi) ulaşması gerekmektedir. Tüm dünyada yılda her 100,000 insandan 15'inde invazif pnömokok infeksiyonu görülmektedir[1].

S.pneumoniae, antibiyotiklerle tedavi edilebilen fakat yine de yüksek mortalite (% 15-25) ile seyreden hastalıklara neden olmaktadır[5]. Penisiline azalmış duyarlılık giderek daha artan sıklıkta görülürken, diğer antibiyotiklere dirençli pnömokok suşlarının oranı da artış göstermektedir[16].

Çalışmamızda, çeşitli örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında penisilin direnci araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca; eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazol (SXT), levofloksasin ve vankomisine direnç oranları da değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

2004 - 2008 yıllarında Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli örneklerden infeksiyon etkeni olarak ard ardına izole edilen 70 *S.pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklerin ekildiği % 5-10 koyun kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında tespit edilen α-hemolitik kolonilerden katalaz negatif, safrada eriyen, optokin duyarlı suşlar *S.pneumoniae* olarak adlandırılmıştır. Seçilen kolonilerden veya saf kültürden, 0.5 McFarland standardına eşdeğer koloni süspansiyonu hazırlanmış ve % 5 koyun kanlı Müller-Hinton agara ekim yapılmıştır[15]. Besiyeri yüzeyine oksasilin (1 µg), eritromisin (15 µg), klindamisin (2 µg), SXT (25 µg), tetrasiklin (30 µg), levofloksasin (5 µg), vankomisin (30 µg) diskleri (Oxoid) yerleştirilmiş ve besiyerleri % 5 CO_2'li ortamda 37ºC'de 18-20 saat inkübe edilmiştir.

Disk difüzyon sonuçları değerlendirilirken oksasilin zon çapı ≤19 mm olarak saptanan suşlarda penisilin MİK değerleri E test yöntemi (AB Biodisk, Sweeden) ile belirlenmiştir. Bu suşların tümü menenjit dışı infeksiyonlardan izole edilmiş olup intravenöz penisilinler için 2008 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) rehberinde belirlenmiş olan MİK değerlerine göre sonuçlar yorumlanmıştır. Bu değerler sırasıyla ≤2 µg, 4 µg ve ≥8 µg/ml'dir. Oral penisilinler için olan MİK değerleri ise sırasıyla ≤0.06 µg, 0.12-1 µg ve ≥2 µg/ml'dir[15].

Orta düzey penisilin direnci (ODPD) veya yüksek düzey penisilin direnci (YDPD) görülen suşlarda, beta-laktam sınıfından olmayan antibiyotiklerden en az 2 antibiyotiğin daha dirençli olması çoklu ilaç direnci olarak tanımlanmıştır.

BULGULAR

Antibiyotik duyarlılıkları incelenen 70 *S.pneumoniae* suşunun 38'i balgam, 10'u endotrakeal aspirat, 5'i bronkoalveolar lavaj, 5'i apse, 4'ü yara, 3'ü BOS, birer suş da asit sıvısı, periton sıvısı, biyopsi materyali, kulak akıntısı ve idrar örneğinden izole edilmiştir. Toplamda örneklerin % 77'si solunum yoluna ait örneklerden, % 33'ü ise diğer örneklerden izole edilmiştir. Yetmiş suşun 42'si (% 60) yatan hastalara, 28'i (% 40) ayaktan takip edilen hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Örneklerin toplandığı hastaların 14'ü 2-15 yaş, 7'si 16-30 yaş, 16'sı 31-55 yaş ve 33'ü 55 yaş üstü grubundandır

Yetmiş suşun 57'sinde (% 81) oksasilin duyarlılık çapı ≥20 mm olarak saptanmış ve bu suşlar penisilin duyarlı olarak kabul edilmiştir. Geriye kalan 13 (% 19) suş, E test yöntemi ile penisilin MİK değerleri 0.12 µg/ml ile 1 µg/ml aralığında kalan, oral penisilinler için ODPD tespit edilen suşlardır. YDPD'ne rastlanmamıştır. Ayrıca, intravenöz penisilinlere karşı ODPD de saptanmamıştır.

Çeşitli örneklerden izole edilen 70 pnömokok suşunda SXT direnci % 41, eritromisin direnci % 23, klindamisin direnci % 17, tetrasik-

lin direnci % 34 ve levofloksasin direnci % 3 olarak saptanmıştır. Vankomisin direnci saptanmamıştır. Penisilin duyarlı suşlarda bu antibiyotiklere ait direnç oranları sırasıyla % 33, % 16, % 14, % 30 ve % 4'dür. ODPD görülen suşlarda ise aynı antibiyotiklere direnç oranları sırasıyla % 77, % 54, % 31 ve % 54 olarak saptanmış, levofloksasin direnci görülmemiştir (Tablo 1).

Çoklu ilaç direnci, 7 (% 54) ODPD *S.pneumoniae* suşunda gözlenmiştir. Penisilin için ODPD olmak üzere penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve SXT dirençli bir suş; penisilin, eritromisin, klindamisin ve SXT dirençli iki suş; penisilin, eritromisin, tetrasiklin ve SXT dirençli iki suş ve penisilin, tetrasiklin ve SXT dirençli iki suş saptanmıştır.

TARTIŞMA

Antibiyotik direncindeki artış pnömokok infeksiyonlarının tedavisini giderek zorlaştırmaktadır[13]. Günümüzde tüm dünyada penisilin dirençli suşların saptanması nedeniyle, güncel tedavilerin yetersiz kalma riski söz konusudur. Ayrıca tedavide alternatif olabilecek çoğu antibiyotiğe de direnç önemli oranda artmıştır[16].

Halen toplum kökenli pnömokok pnömonisi olgularında tedavide ilk seçenek penisilin grubu antibiyotikledir[13]. Çalışmamızda oral penisilin için, diğer antibiyotik seçeneklerine kıyasla daha düşük oranda (% 19) direnç saptanmıştır. Bu suşların tamamı ODPD gösterirken, YDPD olan suş saptanmamıştır. Ülkemizden bildirilen ODPD oranı % 20 ila % 51 arasında dağılım gösterirken, YDPD en fazla % 15 olarak bildirilmiştir[7]. Ülke verilerinde bölgesel farklılıklar olduğu gibi Avrupa'da da penisilin direnci ülkeden ülkeye fark göstermektedir (Danimarka % 0, İspanya % 40)[14].

S.pneumoniae suşları arasında ODPD, YDPD'den daha yaygın olarak bildirilmektedir. ODPD'nin en fazla risk oluşturduğu durum menenjit tedavisidir. ODPD gösteren pnömokok menenjitlerinin tedavisinde penisilinin yetersiz kaldığını, mortalite oranının arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur[11]. Ocak 2008'de, CLSI rehberinde *S.pneumoniae* suşlarında parenteral penisilin için infeksiyonun lokalizasyonuna göre yeni sınır değerler yayınlamıştır. Imöhl ve ark.[8]'nın yaptığı çalışmaya göre; yeni sınır değerler menenjit dışı olgularda saptanan direnç oranlarının düşmesine neden olurken, menenjit suşlarında direnç oranında artışa neden olmuştur. Daha önce orta düzey dirençli olarak nitelendirilen menenjit etkeni suşlar yeni kriterlere göre dirençli olarak adlandırılmaktadır[8]. Çalışmamızda duyarlılıkları incelenen *S.pneumoniae* suşlarından ODPD bulunan suşların hiçbiri menenjit etkeni değildir ve parenteral penisilinlere tümüyle duyarlıdır. Bununla birlikte, 2003 ve 2005 yıllarında yapılan ARMed (Antibiotic Resistance Surveillance and Control in the Mediterranean Region) sürveyans çalışma sonuçlarına göre, penisilin duyarlı olmayan invazif *S.pneumoniae* suşlarının Türkiye'de % 16 ile % 25 oranlarında izole edildiği bildirilmiştir[2].

Reidel ve ark.[14]'nın yaptıkları çalışmada Avrupa'da en çok reçetelenen ilacın penisilin olduğu saptamış, ayrıca geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının güney Avrupa ülkelerinde daha yaygın olduğunu bildirilmiştir. Antibiyotik tüketim politikalarının bölgesel değişkenliği, tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oranlarındaki farklılığın ortaya çıkmasında etkili bulunmuştur[9]. Geniş spektrumlu antibiyotik tüketimi sonucu ortaya çıkan dirençli oral flora, kolonize olan *S.pneumoniae* suşlarının penisilin direnci kazanımını kolaylaştırmaktadır[6]. Yapılan çalışmalar, penisilin direnci gösteren

Tablo 1. *Penisilin duyarlı ve ODPD olan S.pneumoniae suşlarında çeşitli antibiyotiklere direnç [n (%)].*

	Suşlar	SXT	Eritromisin	Klindamisin	Tetrasiklin	Levofloksasin
Pen. duyarlı	57 (% 81)	19 (% 33)	9 (% 16)	8 (% 14)	17 (% 30)	2 (% 4)
ODPD	13 (% 19)	10 (% 77)	7 (% 54)	4 (% 31)	7 (% 54)	0
Toplam	70	29 (% 41)	16 (% 23)	12 (% 17)	24 (% 34)	2 (% 3)

Pen.: Penisilin, ODPD: Orta düzey penisilin direnci.

suşların diğer antibiyotik gruplarına da daha yüksek oranda dirençli olduğunu bildirmektedir[5]. Çalışmamızda da, literatürle uyumlu olarak ODPD görülen suşlarda SXT, tetrasiklin ve eritromisin direnci, penisilin duyarlı suşlara kıyasla, daha yüksek olarak saptanmıştır. Ayrıca, penisilin direnci kazanımının çoğul direnç fenotipi ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır[16]. Çalışmamızda, ODPD saptanan 13 suşun yedisinde çoğul ilaç direnci tespit edilmiştir. Dünyadan ve ülkemizden bildirilen çoğul ilaç direnci gösteren suş oranları artış göstermektedir[3,10]. Özelikle antibiyotik direncinin de yüksek bildirildiği Asya ülkelerinde çoğul ilaç direnci görülme oranı da (% 77) yüksek saptanmaktadır[3].

Toplum kökenli pnömoni tedavisinde oral beta-laktam antibiyotiklere alternatif olarak SXT, makrolit grubu antibiyotikler, doksisiklin ve fluorokinolon seçenekleri de eklenmektedir[13]. Ülkemizde ve dünyada çocuk hastalarda SXT ve makrolitler, yetişkinlerde ise bu antibiyotiklere ilave olarak tetrasiklin, tedavide uzun dönem etkili kalmıştır. Fakat günümüzde özellikle Asya kıtasındaki ülkeler olmak üzere tüm dünyadan bu antibiyotiklere karşı yüksek direnç bildirilmektedir[3,10]. Bu durum özellikle gelişmekte olan ülkelerde daha ucuz ve kolay bulunan antibiyotiklerle tedavi şansını yok etmektedir[11]. Çalışmamızda en yüksek direnç oranı SXT (% 41) için saptanmış, bunu sırasıyla tetrasiklin (% 34) ve eritromisin (% 23) direnç oranları takip etmiştir. Saptanan oranlar, ülkemizden bildirilen oranlarla benzerlik gösterirken, Avrupa'dan bildirilen oranlardan (SXT % 26, tetrasiklin % 25) daha yüksek ve Asya'dan bildirilen oranlardan (SXT % 63, tetrasiklin % 80, eritromisin % 79) daha düşüktür[7,14]. Çalışmamızda saptanan eritromisin direnç oranı ise özelikle güney Avrupa ülkelerinden bildirilen oranlardan (% 33) düşük saptanırken, ARMed sonuçlarına ait Türkiye oranlarından (% 6-% 12) yüksek saptanmıştır[2,14].

Günümüzde, tüm dünyadan bildirilen çoğul direnç fenotiplerinde levofloksasin direnci olan suşlara nadiren rastlanmakta ya da rastlanmamaktadır[5]. Çalışmamızda çoğul ilaç direnci gösteren suşlarda levofloksasin direnci saptanmamıştır. Yeni nesil fluorokinolonlar, tüm dünyada, yetişkinlerde toplum kökenli pnömoni tedavisinde çoğul ilaç direnci gösteren suşlardaki artış nedeniyle kullanılmaktadır[12]. Avrupa ve Amerika kıtasındaki ülkelerden bildirilen fluorokinolon direnç oranları <% 5'te kalırken, direncin en yaygın ve yüksek (% 12) olduğu ülke Hon-Kong'dur[5]. Çalışmamızda, incelenen 70 suşda levofloksasin direnci % 3 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak; hastanemize başvuran pnömokok infeksiyonu olan hastaların tedavisinde penisilin ve türevlerinin kullanımı yerini korumaya devam etmektedir. Diğer ilk seçeneklerle (makrolit, tetrasiklinler, SXT) tedavi yetersiz kalabilme riski taşımaktadır. Tedavi protokollerinin etkili olabilmesi, tüm dünyada ya da kıta düzeyinde antibiyotik direncinin takibinin yanı sıra lokal takiplerin yapılmasıyla mümkündür. Ayrıca, kültür ve antibiyogram sonuçları ampirik olarak başlanan tedavinin hasta için en ideal antibiyotik tedavisi ile devam ettirilmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Bogaert D, De Groot R, Hermans PW: Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease, Lancet Infect Dis 2004;4(3):144-54.
2. Borg MA, Tiemersma E, Scicluna E et al: Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive Streptococcus pneumoniae isolates reported by laboratories in the Southern and Eastern Mediterranean region, Clin Microbiol Infect 2009;15(3):232-7.
3. Brown NP, Draghi DC, Torres MK, Pillar CM, Thornsberry C, Sahm DF: Current susceptibility patterns for Streptococcus pneumoniae isolates from Europe and Asia: Findings of the 2007 GLOBAL Surveillance Program, 13th International Congress on Infectious Disease, Abstract 44.025, Kuala Lumpur (2008).
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Effect of new penicillin susceptibility breakpoints for Streptococcus pneumoniae-United States, 2006-2007, MMWR 2008;57(50):1353-5.
5. Charpentier E, Tuomanen E: Mechanisms of antibiotic resistance and tolerance in Streptococcus pneumoniae, Microbes Infect 2000;2(15):1855-64.
6. Dagan R, Klugman KP: Impact of conjugate pneumococcal vaccines on antibiotic resistance, Lancet

Infect Dis 2008;8(12):785-95.
7. Gürler N: Pnömokok infeksiyonlarında mikrobiyoloji ve direnç, ANKEM Derg 2008;22(Ek 2):238-51.
8. Imöhl M, Reinert RR, Linden M: New penicillin susceptibility breakpoints for Streptococcus pneumoniae and their effects on susceptibility categorization in Germany (1992-2008), Int J Antimicrob Agents 2009;34(3):271-3.
9. Jaecklin T, Rohner P, Jacomo V, Schmidheiny K, Gervaix A: Trends in antibiotic resistance of respiratory tract pathogens in children in Geneva, Switzerland, Eur J Pediatr 2006;165(1):3-8.
10. Jones ME, Blosser-Middleton RS, Thornsberry C, Karlowsky JA, Sahm DF: The activity of levofloxacin and other antimicrobials against clinical isolates of Streptococcus pneumoniae collected worldwide during 1999-2002, Diag Microbiol Infect Dis 2003;47(4):579-86.
11. Klugman KP, Walsh AL, Phiri A, Molyneux EM: Mortality in penicillin-resistant pneumococcal meningitis, Pediatric Infect Dis J 2008;27(7):671-2.
12. Mayer S, Boos M, Köhrer K, Fluit AC, Schmitz FJ: In vitro development of resistance to newer fluoroquinolons in Streptococcus pneumoniae isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;20(4):288-91.
13. Musher DM: Streptococcus pneumoniae, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease, 6. baskı" kitabında s. 2392-409, Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
14. Riedel S, Beekmann SE, Heilmann KP et al: Antimicrobial use in Europe and antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae, Eur J Microbiol Infect Dis 2007;26(7):485-90.
15. The Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standards, 9th ed. (M2-A9), CLSI, Wayne PA (2008).
16. Whitney CG, Glass NE: Antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae: Implications for management in the 21st century, "Fong and Drlica (eds): Reemergence of Established Pathogens in the 21st Century" kitabında s. 71-89, Kluwer Academic/ Plenum Publihers, New York (2003).