

ŞARBON BASİLLERİNDE ANTİBİYOTİK DİRENCİ*

Duygu PERÇİN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ
duygu.percin@hotmail.com

ÖZET

Bacillus anthracis şarbon hastalığının etkenidir. Antibiyotik tedavisi, infeksiyonun erken dönemlerinde etkilidir. Penisilinler ilk tercih edilecek antibiyotiktir. CLSI tarafından yorumlama standartları belirlenen antibiyotikler, penisilin, tetrasiklin, doksisisiklin, levofloksasin ve siprofloksasindir. Tedaviye karar vermeden önce, *B.anthraxis* suşlarının üçüncü kuşak sefalosporinlere ve kotrimoksazole intrinsek dirençli olduğu; çoğunlukla duyarlı bulunmakla birlikte, makrolidlere, rifampisine ve penisiline in-vitro olarak kolaylıkla direnç geliştirebildiği ve biyoterör olaylarından ya da çevre ve hayvanlardan izole edilen suşların dirençli olabileceği asla unutulmamalıdır. Penisilinler, kinolonlar ve doksisisiklin hâlen ilk tercih edilmesi gereken antibiyotikler olmakla birlikte, duyarlılık testi sonucuna göre gerekirse tedavinin değiştirilmesi önemlidir.

Anahtar sözcükler: antibiyotik, *Bacillus anthracis*, direnç, şarbon

SUMMARY

Antibiotic Resistance in Anthrax Bacilli

Bacillus anthracis is the causative agent of anthrax. Antibiotherapy is only effective at the early phase of the disease. Penicillins are the first choice of treatment. Antibiotics with determined breakpoints for susceptibility by CLSI are penicillins, tetracycline, doxycycline, levofloxacin and ciprofloxacin. Before antibiotherapy, they should be kept in mind that *B.anthraxis* strains have intrinsic resistance to third generation cephalosporins and cotrimoxazole; resistance to macrolides, rifampin and penicillins can be easily achieved in vitro; and the strains isolated from bioterrorist attacks, animals or environment may be resistant to antibiotics. Although penicillins, quinolones and doxycycline are the choice for treatment, it is important to change the antibiotics if necessary according to the antibiogram results.

Keywords: anthrax, antibiotic, *Bacillus anthracis*, resistance

Bacillus anthracis şarbon hastalığının etkenidir. *B.anthraxis* Gram pozitif, aerop veya fakültatif anaerop, santral ya da subterminal endospor oluşturan, 1.2-10 µm uzunluğunda ve 0.5-2.5 µm kalınlığında bir basildir. Bakterinin spor formları, vejetatif formun aksine, ısı, soğuk, ultraviyole, kuruluk, yüksek ve düşük pH, kimyasal dezenfektanlar ve diğer bakterilerin metabolik ürünlerine son derece dayanıklıdır. Bakteri in-vivo ortamda, anaerop koşullarda ve ortamda bikarbonat varlığında polipeptid kapsül oluşturur ve hazırlanan yayma polikrom metilen mavisi ile boyandığında mavi boyanan basilin etrafında pembe boyanan kapsüllerin gösterilmesi (M'Fadyean reaksiyonu) tanımlamada çok önemlidir. *B.anthraxis*, rutin laboratuvarlar-

da kullanılan (kanlı agar, nutrient agar gibi) besiyerlerinde 37°C'de kolay ürer⁽⁹⁾. Klinik örnek dışında kalan materyaller; toprak, toz, kıl gibi, *B.anthraxis* izolasyonu amacı ile selektif besiyerlerine ekilmelidir. Bu amaçla "polymyxin-lizozyme-ETDA-thallos acetate (PLET)" besiyeri kullanılır⁽⁷⁾. Koloniler mat görünümde, düz, yapışkan, kanlı agarda beyaz veya gri-beyaz renkte ve kenarlarında dalgalı çıkıntılar oluşturur. Hemoliz yapmazlar veya zayıf hemoliz oluştururlar. *B.anthraxis* hareketsizdir, penisilin ve gamma faja duyarlıdır. Şüpheli kolonilerde, yukarıdaki özelliklerin bulunması, kanda veya bikarbonatlı besiyerinde kapsül oluşturmasının gözlenmesi, *B.anthraxis* olarak tanımlanması için yeterlidir^(4,7,9).

*Bu makale 108S164 nolu TÜBİTAK Projesinin kısmi sonuçlarını içermektedir.

Antibiyotik tedavisi, infeksiyonun erken dönemlerinde etkilidir. Toksin belli bir düzeye ulaştıktan sonra ölüm kaçınılmazdır. Penisilinler hâlâ ilk tercih edilecek antibiyotiktir. İkinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere yüksek oranda direnç gösterildiğinden, şarbon tedavisinde kullanılmamalıdır. Penisilin allerjisi olanlarda, eritromisin, tetrasiklinler, kloramfenikol, kinolonlar ve birinci kuşak sefalosporinler alternatif olarak seçilebilecek antibiyotiklerdir. Hayatı tehdit eden infeksiyonlarda eğer penisilin kullanılmıyorsa intravenöz olarak doksisisiklin veya siprofloksasin kullanılabilir, ancak sekiz yaş altındaki çocuklarda zorunlu olmadıkça kinolonlar ve doksisisiklin kullanılmamalıdır⁽⁴⁾. *B.anthraxis* in-vitro birçok antibiyotiğe duyarlı olmakla birlikte, penisilin, eritromisin ve kinolonlara direnç bildirilmeye başlanmıştır⁽¹⁾. Özellikle biyoterör silahı olarak kullanılan suşların penisiline azalmış duyarlılık gösterdiği ve birden fazla antibiyotiğe dirençli hâle getirilebildiği unutulmamalıdır^(2,13).

Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI)⁽³⁾, *B.anthraxis* suşlarında antibiyotik duyarlılığı için katyonu ayarlanmış Mueller Hinton sıvibesiyeri içerisinde dilüsyon yöntemini önermektedir. Önerilen inokulum 0.5 McFarland'a eşdeğerdir ve önerilen inkübasyon süresi ise 35°C'de 16-20 saattir. CLSI tarafından yorumlama standartları belirlenen antibiyotikler, penisilin, tetrasiklin, doksisisiklin, levofloksasin ve siprofloksasindir. Kalite kontrolü için ise *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşlarının kullanılması önerilmektedir.

Sıvı dilüsyon yöntemi referans yöntem olmakla birlikte, zahmetli bir yöntem olması ve dökülme, kontaminasyon gibi riskleri nedeniyle araştırmalarda agar dilüsyon, otomatize sistemler ve E-test gibi uygulaması daha kolay yöntemler tercih edilmektedir. Esel ve ark.⁽⁶⁾ 40 klinik *B.anthraxis* izolatının antimikrobiyal duyarlılık durumunu agar dilüsyon yöntemiyle araştırdıkları çalışmada suşların tamamının penisilin, doksisisiklin ve siprofloksasine duyarlı olduğunu, Gram pozitif aktiviteye sahip gatifloksasin ve levofloksasinin iyi in-vitro aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Lightfoot ve ark.⁽⁸⁾ 70 *B.anthraxis* izolatının 9 antibiyotiğe karşı duyarlılık duru-

munu agar dilüsyon yöntemiyle araştırmışlar ve iki izolatın penisiline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Nitrosefin testi ile penisiline dirençli iki suşun ve penisiline duyarlı bir suşun kuvvetli beta-laktamaz aktivitesi gösterdiğini rapor etmişlerdir. Doğanay ve Aydın⁽⁵⁾, 22 *B.anthraxis* izolatının 27 antibiyotiğe duyarlılık durumunu agar dilüsyon yöntemiyle araştırdıkları çalışmada ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere yüksek oranda direnç belirlemişlerdir. Beta-laktamaz aktivitesini asidimetrik yöntemle değerlendirmişler ve suşların tamamının beta-laktamaz negatif olduğunu bildirmişlerdir. *B.anthraxis* suşlarında indüklenebilir beta-laktamaz gösterilmiştir. İn-vitro çalışmalar ve hayvan deneylerinde, indüklenebilir beta-laktamaz üreten suşlarla gelişen infeksiyonlarda tedavi yanıtının düşük olduğu iddia edilmiştir. Bununla birlikte Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁽²⁾ *B.anthraxis* suşlarında beta-laktamaz testinin güvenilir olmadığını ve yapılmaması gerektiğini savunmaktadır. CDC kılavuzlarına göre eğer suş, CLSI yorumlama kriterlerine göre (duyarlı $\leq 0.12 \mu\text{g}/\text{mL}$ ve dirençli $\geq 0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$) penisiline duyarlı bulunmuş ise çocuklarda ve hamilelerde amoksisilin profilaksisinde kullanılmasında bir sakınca yoktur.

E-test yöntemi, agar ve sıvı dilüsyon sonuçları ile kıyaslanabilir sonuçlar veren, kolay uygulanan bir yöntemdir. Mohammed ve ark.⁽¹¹⁾ E-test ile sıvı dilüsyon yöntemini karşılaştırdıkları çalışmada iki yöntem arasında uyumu % 96-100 olarak bulmuşlardır.

Luna ve ark.⁽¹⁰⁾ 95 *Bacillus* spp. izolatının 24 farklı antibiyotiğe duyarlılık durumunu Sensititre otomatize mikrodilüsyon ve E-test yöntemi ile araştırmışlar ve çalışılan 18 *B.anthraxis* suşunun 3'ünün eritromisine azalmış duyarlı, suşların tamamının penisilin, ampicilin, tetrasiklin, kloramfenikol, klindamisin, gentamisin, rifampisin, vankomisin, kunipristin/dalfopristin ve kinolonlara duyarlı, kotrimoksazole dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde 2008 yılından bu yana "Türkiye'de Şarbon Yönünden Hiperendemik Bölgelerde *Bacillus anthracis* İnfeksiyonunun Moleküler Epidemiyolojisi ve İzolatların Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi" konulu ulusal bir proje (TÜBİTAK Proje no:

108S164) devam etmektedir. Bu proje kapsamında bugüne dek 85'i insan, 101'i hayvan ve 4'ü çevre örneklerinden olmak üzere toplam 190 *B.anthraxis* suşu izole edilmiştir. Suşların antimikrobiyal duyarlılık durumu agar dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Suşların tamamı penisilin, doksisisiklin, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, linezolid ve vankomisine duyarlı, seftriaksona dirençli bulunurken; eritromisine insan izolatlarında % 16.2, hayvan ve çevre izolatlarında ise % 25.9 azalmış duyarlılık saptanmıştır. Bunun yanı sıra, insan izolatlarında tigesikline direnç görülmezken, hayvan ve çevre izolatlarında % 37.6 oranında direnç görülmesi dikkat çekici bir durumdur. Cavallo ve ark.⁽¹⁾ Fransa'da izole edilen 96 *B.anthraxis* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada % 11.5 oranında penisilin ve amoksisiline direnç rapor etmişler ve dirençli suşların hayvan ve çevre izolatu olduğuna dikkat çekmişlerdir. Kruger National Park'tan izole edilen suşların da insan izolatlarına göre daha dirençli olduğu bildirilmiştir⁽¹²⁾. Bunun yanı sıra, *B.anthraxis* suşlarının üçüncü kuşak sefalosporinlere ve kotrimoksazole doğal dirençli olduğu; çoğunlukla duyarlı bulunmakla birlikte, makrolid, linkozamin, streptogramin B grubu antibiyotiklere, rifampisine ve penisiline in-vitro olarak kolaylıkla direnç geliştirebildiği ve biyoterör olaylarından izole edilen suşların dirençli olabileceği asla unutulmamalıdır^(1,2,9,12,13).

Sonuç olarak, şarbon hastalığının tedavisi sırasında penisilinler, kinolonlar ve doksisisiklin hâlen ilk tercih edilmesi gereken antibiyotikler olmakla birlikte, duyarlılık testi sonucuna göre gerekirse tedavinin değiştirilmesi önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Cavallo JD, Ramişse F, Girardet M, Vaissarie J, Mock M, Hernandez E. Antibiotic susceptibilities of 96 isolates of *Bacillus anthracis* isolated in France between 1994 and 2000, *Antimicrob Agent Chemother* 2002;46(7):2307-9.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for exposure management and antimicrobial therapy, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50(42):909-19.
3. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth informational supplement, CLSI Document M100-S20, CLSI, Wayne, PA (2010).
4. Doganay M. Anthrax, "Cohen J, Powderly WG (eds). Infectious Diseases (Second edition)" kitabında Section: 6, Chapter: 185, American Society for Microbiology, Washington (2003).
5. Doğanay M, Aydın N. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Scand J Infect Dis* 1991;23(3):333-5.
6. Esel D, Doganay M, Sumerkan B. Antimicrobial susceptibilities of 40 isolates of *Bacillus anthracis* isolated in Turkey, *Int J Antimicrob Agents* 2003;22(1):70-2.
7. Eşel D, Doğanay M. Klinik ve çevre örneklerden *Bacillus anthracis* izolasyon ve identifikasyonu, *İnfeksiyon Derg* 2002;16(1):1-10.
8. Lightfoot NF, Scot RCD, Turnbull PCB. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Salisbury Med Bull* 1990;68:95.
9. Logan NA. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and other aerobic endospore-forming bacteria, "Collier LH, Balovas A, Sussman M (eds). Topley-Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 3, Bacterial Infections" kitabında s.922, Edward Arnold, London (2005).
10. Luna VA, King DS, Gullede J, Cannons AC, Amuso PT, Cattani J. Susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomyoides* and *Bacillus thuringiensis* to 24 antimicrobials using Sensititre automated microbroth dilution and Etest agar gradient diffusion methods, *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(3):555-67.
11. Mohammed MJ, Marston CK, Popovic T, Weyant RS, Tenover FC. Antimicrobial susceptibility testing of *Bacillus anthracis*: comparison of results obtained by using the National Committee for Clinical Laboratory Standards broth microdilution reference and Etest agar gradient diffusion methods, *J Clin Microbiol* 2002;40(6):1902-7.
12. Odendaal MW, Pieterse PM, de Vos V, Botha AD. The antibiotic sensitivity patterns of *Bacillus anthracis* isolated from the Kruger National Park, *Onderstepoort J Vet Res* 1991;58(1):17-9.
13. Stephenson J. Experts focus on infective agents of bioterrorism, *JAMA* 2002;287(5):575-6.

Eş Zamanlı Oturum: Panel 5 sunularından

İNFLAMASYON-2011

Yöneten: **Emin KANSU**

- Steril inflamasyon ve inflamazom
Sacit Altuğ KESİKLİ, Dicle GÜÇ
- Viral infeksiyonlarda inflamatuvar yanıtta güncel görüşler: Kompleman sisteminde olup bitenler
Selim BADUR