

ÇEŞİTLİ VÜCUT SIVILARINDAN İZOLE EDİLEN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* SUŞLARINDA PENİSİLİN DUYARLILIĞININ E TEST İLE ARAŞTIRILMASI

E TEST DETECTION OF PENICILLIN SUSCEPTIBILITY OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED FROM VARIOUS BODY FLUIDS

Yasemin ZER Gani ORHAN Canan ÇELİKSÖZ Ayşen BAYRAM İclal BALCI

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Anahtar Sözcükler: *Streptococcus pneumoniae*, *in vitro* penisilin duyarlılığı, E test

Key Words: *Streptococcus pneumoniae*, *in vitro* penicillin susceptibility, E test

ÖZET

Ocak 2001-Mayıs 2002 tarihleri arasında değerlendirilen çeşitli vücut sıvılarından izole edilen 86 *Streptococcus pneumoniae* suşunda E test ile penisilin duyarlılığının araştırılması amaçlanmıştır. İncelenen örneklerin 41'i (%47.7) bronko-alveoler yıkama sıvısı, 12'si (%13.9) plöra sıvısı, 11'i (%12.8) kan kültürü, sekizi (%9.3) beyin-omurilik sıvısı, beşi trakeal aspirasyon sıvısı (%5.8) ve dokuzu (%10.5) da diğer vücut sıvıları idi. İzole edilen *S. pneumoniae* kökenlerinin 65'i (%75.6) penisiline duyarlı olarak bulundu (MİK \leq 0.06 μ g/ml). Onüç suшта (%15.1) orta düzeyde (MİK 0.12-1 μ g/ml) ve sekiz suшта (%9.3) yüksek düzeyde penisilin direnci bulundu (MİK \geq 2 μ g/ml).

SUMMARY

Penicillin susceptibility of 86 *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from various body fluids in the period from January 2001 through May 2002 by the use of the E test. The strains were isolated from 41 (47.7%) bronchoalveolar washing fluid, 12 (13.9%) pleural fluid, 11 (12.8%) blood, eight (9.3%) were cerebrospinal fluid, five (5.8%) tracheal aspiration fluid and nine (10.5%) other body fluid specimens. Among the isolates 65 (75.6%) were susceptible to penicillin (MIC $<$ 0.06 μ g/ml). Thirteen (15.1%) of the isolates were intermediately resistant (MIC 0.12-1 μ g/ml) and eight (9.3%) isolates were highly resistant (MIC $>$ 2 μ g/ml) to penicillin.

GİRİŞ

Pnömonokoklar solunum yolu florasının doğal bir elemanı olmalarına karşılık, üst solunum yolu infeksiyonlarında da önemli rol oynamaktadırlar. Toplumdan kazanılmış pnömoni, otitis media, sinüzit, meninjit ve bakteriyemi pnömonokokların neden olduğu önemli klinik tablolardır (1).

Pnömonokok infeksiyonları, uzun yıllar beta-laktam antibiyotikler ve özellikle penisilin ile tedavi edilmiş, ancak 1960'lı yıllarda ilk kez penisiline dirençli pnömonokokların (PDP) Avustralya ve Papua Yeni Gine'den bildirilmesi ve bu tip bildirimlerin giderek yaygınlaşmasının ardından PDP

infeksiyonları tüm dünyada sorun olmaya başlamıştır (2).

Pnömonokokların penisiline direnç geliştirmelerinin nedeni, bakterinin hücre membranında bulunan ve hücre duvar sentezinde rol alan penisilin bağlayan proteinlerin nokta mutasyonları ile yapısal değişikliğe uğraması ve penisiline olan ilgilerinin azalmasından kaynaklanmaktadır (1, 3). Penisiline dirençli pnömonokoklar bazı üçüncü kuşak sefalosporinler, imipenem, meropenem gibi diğer beta-laktam antibiyotiklere genellikle duyarlıdır. Ancak penisiline yüksek düzeyde direnç gösteren suşlarda son yıllar-

da üçüncü kuşak sefalosporinlere giderek artan dirençten söz edilmektedir. Penisiline dirençli pnömokokların penisilin ve sefalosporinler dışındaki bazı antibiyotik gruplarına da direnç geliştirebilme özelliği vardır (1).

Bu çalışmada, hastanede yatan hastaların çeşitli vücut sıvılarından etken olarak izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının penisilin duyarlılığının E test ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2001-Mayıs 2002 tarihleri arasında incelenen çeşitli vücut sıvılarından (bronko-alveoler yıkama sıvısı, plöra sıvısı, kan, beyin-omurilik sıvısı, trakeal aspirasyon sıvısı, sinoviyal sıvı, periton sıvısı, toraks tüpü sıvısı gibi) izole edilen *S. pneumoniae* suşları çalışmaya alındı.

Örnekler %5 koyun kanlı agara ekilerek 37° C'de 24 saat inkübe edildi. Bakteri kolonilerinin tanımlanmasında makroskopik görünümü ve hemoliz yapma özelliği, Gram boyası ile yapılan mikroskopik inceleme, katalaz, optokin ve safrada erime deneyleri yapıldı (4-6). Alfa-hemoliz yapan, Gram-olumlu ve mum alevi şeklinde morfoloji gösteren, katalaz-olumsuz, optokine duyarlı ve safrada eriyen bakteriler pnömokok olarak tanımlandı.

Penisilin duyarlılığını araştırmak için, pnömokoklarda güvenilir sonuçlar alınan ve duyarlılık saptanmasında önerilen bir yöntem olan E test kullanıldı (7). Bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland bulanıklığına eş değerde hazırlanarak %5 koyun kanlı Mueller Hinton agara yayılarak besiyerinin tam kuruması sağlandı. Kuruyan besiyeri üzerine 0.02 µg/ml'den başlayarak 32 µg/ml'ye kadar artan miktarlarda penisilin G emdirilmiş E test stripleri (AB Biodisk, İsveç) yerleştirildi ve %5 CO₂'li ortamda 35° C'de 24 saat inkübe edildi. Bulunan MİK değerleri NCCLS standartları doğrultusunda, 2 µg/ml ve üzerinde ise yüksek düzeyde dirençli, 0.12-1µg/ml arasında ise orta düzeyde dirençli, 0.06 µg/ml ve altındaki değerler ise duyarlı olarak değerlendirildi (8).

BULGULAR

Çalışmaya alınan *S. pneumoniae* suşlarının 41'i (%47.7) bronko-alveoler yıkama sıvısı, 12'si (%13.9) plöra sıvısı, 11'i (%12.8) kan, sekizi (%9.3) beyin-omurilik sıvısı, beşi (%5.8) trakeal aspirasyon sıvısı ve dokuzu (%10.5) diğer vücut sıvılarından izole edildi.

Streptococcus pneumoniae olarak tanımlanan 86 suşun 65'inde (%75.6) MİK değeri 0.06 µg/ml ve altında bulundu ve duyarlı olarak, 13'ünde (%15.1) 0.125-1 µg/ml olarak bulundu ve orta duyarlı olarak, sekizinde (%9.3) de 2

µg/ml ve üzerinde bulundu ve yüksek düzeyde penisilin dirençli olarak değerlendirildi. Dirençli bulunan suşların sayıları ve MİK değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Dirençli *S. pneumoniae* suşlarının MİK değerleri

Suş sayısı	MİK (µg/ml)	Sonuç	Sayı (%)
1	0.125	Orta düzeyde direnç	13 (15.1)
2	0.25		
3	0.38		
3	0.50		
2	0.75		
2	1		
4	2	Yüksek düzeyde direnç	8 (9.3)
2	4		
2	6		

TARTIŞMA

Penisiline dirençli pnömokokların varlığı, tüm dünyada olduğu gibi, Türkiye açısından da gözardı edilmemesi gereken önemli bir konudur. Pnömokokların toplum kaynaklı infeksiyonların başlıca etkenlerinden biri olması, toplumda hemen her yaş grubunu etkileyebilmesi, yakın temas ile toplu yaşam birimlerinde kolaylıkla yayılım göstermesi ve bunlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde penisilin halen en sık kullanılan antibiyotik olması, pnömokoklarda penisilin direncini önemli kılan başlıca faktörlerdir (9-11).

Türkiye'de dirençle ilgili ilk verilere 1990'lı yılların başından itibaren rastlanmaktadır (12, 13). Sonraki yıllarda yapılan araştırmalar penisilin direncinin hastaneler arasında farklılık göstermekle beraber, zamanla yaygınlaştığını göstermektedir. Türkiye'de orta düzeyde direnç, %12.2-50, yüksek düzeyde direnç %0-17 arasında değişiklik göstermektedir (14-18). Bu çalışmada bu oran sırası ile %15.1 ve %9.3 olarak bulunmuş olup bu direnç oranları Türkiye'den bildirilen başka verilere (14-18) benzemektedir. Türkiye'de henüz MİK 2 µg/ml'nin üzerinde *S. pneumoniae* suşunun izole edilmediği bildirilmekle birlikte (1), bu çalışmada dört suşta MİK 2 µg/ml'nin üzerinde bulunmuştur. MİK değeri 4 µg/ml olarak bulunan iki suştan biri, yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastanın trakeal aspirasyon sıvısından, biri de bir çocuk hastanın beyin-omurilik sıvısından izole edilmiştir. MİK değeri 6 µg/ml olarak bulunan iki suş ise aynı hastaya ait kan kültürü ve beyin-omurilik sıvılarından izole edilmiştir. Örnek gruplarının farklı olmasından dolayı bu iki suş da çalışmaya alınmıştır. MİK değeri yüksek bulunan ve yüksek düzeyde penisilin direnci gösteren bu suşların yazarların çalıştığı hastanedeki direnç paternini ve dirençteki coğrafi farkı

yansıtması açısından önemli ve anlamlı olduğu düşünülmektedir.

Direnç oranlarının bazı coğrafik bölgelerde çok daha önemli sayılara ulaştığı rapor edilmektedir. Güney Kore'de %80, Japonya'da %65, Fransa'da %63, Hong Kong'da %59 ve Meksika'da %57 oranlarında PDP izolasyonları bildirilmiştir (1).

Çalışmalar PDP oranlarının Türkiye için henüz önemli bir sorun olmadığını göstermekle birlikte, Türkiye'de epidemiyolojik verilerin çok sağlıklı olarak toplanmadığı da gözardı edilmemelidir. Direnç, sorun olarak gözükmese de pnömokoklar için penisilin MİK değerlerinin yükseldiği ve tedavide kullanılması gerekli penisilin dozlarının değiştiği bildirilmektedir (14, 15).

Bu verilere dayanarak laboratuvarlarda pnömokokların penisilin direncinin rutin olarak izlenmesi gerekir. Pratik uygulamada 1 µg'lık oksasilin diski ile penisilin direncinin araştırılması önerilmektedir. Ancak bu yöntem duyarlı olmasına karşın, özgüllüğü düşük bir yöntemdir. Bu yöntem tüm kökenlerdeki orta düzey direnç ve yüksek düzey direnci birlikte belirler. Bu nedenle, disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan suşlarda MİK değeri araştırılmalıdır (19, 20). Dirençli gibi gözüken pnömokokların MİK değerleri belirlendiğinde, gerçekte penisiline duyarlı olduğu görülebilir (2). Pnömolarda penisilin MİK değerinin de basamak basamak yükseldiği de gözönüne alınarak, laboratuvarlarda MİK değerinin saptanabildiği yöntemler kullanılarak, duyarlılık sonuçlarının belirlenmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Öncül O.** Pnömolarda penisilin direnci. *X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (15-19 Ekim 2001, Adana) Programı*'da. İstanbul: KLİMİK Derneği, **2001**: 100-2.
2. **Klugman KP.** Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* **1990**; 3: 171-96.
3. **Watson DA, Musher DM, Verhoef J.** Pneumococcal virulence factors and host immune responses to them. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1995**; 14: 479-90.
4. **Akan E.** *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 2. Baskı. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, **1993**: 40-8.
5. **Bilgehan H.** *Klinik Mikrobiyoloji*. 8. Baskı. İzmir: Fakülteler Kitabevi, **1996**: 276-85.
6. **Facklam RR, Washington II JA.** *Streptococcus* and related catalase-negative gram-positive cocci. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy JH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, **1991**: 238-57.
7. **Jorgenson JH, Ferraro MJ, McElmeel LM, Sperga J, Swensov JM, Tenover FC.** Detection of penicillin and extended spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the Etest. *J Clin Microbiol* **1994**; 32: 159-63.
8. **Musher DM.** *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases* Fifth ed. New York: Churchill Livingstone, **2000**: 2128-47.
9. **Smith AM, Klugman KP, Coffey TJ, Spratt BG.** Genetic diversity of penicillin-binding protein 2B and X genes from *Streptococcus pneumoniae* in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother* **1993**; 37: 1938-44.
10. **Stanck RJ, Mufson AM.** A 20-year epidemiological study of pneumococcal meningitis. *Clin Infect Dis* **1999**; 28: 1265-72.
11. **Song JH, Lee NY, Ichijima S, et al.** ANSORP Study Group, Spread of drug resistant *Streptococcus pneumoniae* in Asian countries: Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) Study. *Clin Infect Dis* **1999**; 28: 1206-11.
12. **Tunçkanat F, Akan O, Gür D, Akalın HE.** Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* strains. *Mikrobiyol Bült* **1992**; 26: 307-13.
13. **Erbaş O, Önder U, Kurt B, Açar N, İçten B.** Pnömolarda penisilin direncinin saptanması. *Ankara Hastanesi Tıp Bülteni* **1991**; 26: 219-21.
14. **Sümerkan B, Aygen B, Öztürk M, Doğanay M.** Pnömokok infeksiyonları ve penisilin direnci. *KLİMİK Derg* **1994**; 7: 129-31.
15. **Öğünç D, Öngüt G, Saygan Bakır M, Gökay S, Çolak D, Gültekin M.** Pnömoni etkeni *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **2000**; 30: 23-5.
16. **Öncül O, Çavuşoğlu Ş, Altunay H, Özsoy MF, Yenen OŞ.** Pnömokok suşlarında penisilin direncinin araştırılması. *KLİMİK Derg* **1999**; 12: 3-8.
17. **Kansak N, Öksüz L, Kaygusuz A, Öngen B, Töreki K.** *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* **1998**; 12: 1-7.
18. **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.
19. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. 6th ed. Approved Standard M2-A6. Villanova, Pa: NCCLS, **1997**.
20. **Jette LP, Sinave C.** Use of an oxacillin disk screening test for detection of penicillin and ceftriaxone resistant pneumococci. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 1178-81.