

Bölgemizdeki *Streptococcus pneumoniae* Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Direnç Durumu

Bekir Sıtkı Aydın, Mehmet Bakır, İlyas Dökmetaş, Nazif Elaldı, Mustafa Zahir Bakıcı

Özet: KOAH'lı hastalarda akut atak etkeni olarak üretilen 35 *Streptococcus pneumoniae* suşu çalışmaya alındı. Bu suşların penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, seftriakson ve sefotaksime direnç durumu disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleri ile belirlendi. Disk difüzyon ve agar dilüsyon testi NCCLS kriterlerine uyularak %5 koyun kanlı Mueller-Hinton agarı kullanılarak yapıldı. *S.pneumoniae*'nin disk difüzyon yöntemi ile oksasilin direnci %23 bulunurken, agar dilüsyon yöntemi ile penisiline %14 oranında düşük düzeyde direnç saptandı; penisiline yüksek düzeyde direnç tespit edilmedi. Disk difüzyon yöntemi ile *S.pneumoniae* suşları tetrasikline %28, kloramfenikole %14, eritromisine %17 oranında dirençli bulunurken, sefotaksim ve seftriaksona direnç saptanmadı. Agar dilüsyon yöntemi ile tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, sefotaksim ve seftriaksona direnç bulunmazken, %9'u tetrasikline ve %14'ü kloramfenikole orta duyarlı bulundu. *S.pneumoniae* suşları %9 oranında multipl direnç (≥ 2 antibiyotiğe direnç) sahipti.

Anahtar Sözcükler: *Streptococcus pneumoniae*, antibiyotik direnci.

Summary: The resistance rate of *Streptococcus pneumoniae* strains to some antibiotics in our region. 35 *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients who had acute exacerbation of chronic obstructive lung disease were included in this study. The resistance to penicillin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, ceftriaxone, and cefotaxime were determined by using disk diffusion and agar dilution methods. These methods were performed on Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood according to NCCLS criteria. The resistance rate of *S.pneumoniae* to oxacillin was 23% by using disk diffusion method, whereas no high-level resistance to penicillin was determined by agar dilution method. The low-level resistance rate was 14%. The resistance rate of *S.pneumoniae* strains determined by disk diffusion method to tetracycline, chloramphenicol, and erythromycin was 28, 14, and 17%, respectively. However, there was no resistance to ceftriaxone and cefotaxime. Although it was not observed any resistance to tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, ceftriaxone and cefotaxime by agar dilution method, we found 9% and 14% of isolates as moderately susceptible to tetracycline and chloramphenicol, respectively. Of 35 strains, three (9%) had multiple resistance (i.e., resistant to ≥ 2 agents).

Key Words: *Streptococcus pneumoniae*, antimicrobial resistance.

Giriş

Pnömonok enfeksiyonlarının tedavisinde yıllardır ilk seçenek antibiyotik olarak penisilin kullanılmıştır. 1970'li yılların sonlarından itibaren *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilinlere az oranda bir direnç bildirilirken, son yıllarda dirençli suşların arttığı gözlenmiş ve aynı zamanda alternatif antibiyotiklere de dirençli suşların varlığı tedavide sorun olmaya başlamıştır (1-6). Antimikrobiyal direncin artmasıyla *S. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların mortalitesi de yükselmektedir (7).

Bu çalışmada kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'nın akut alevlenmesi tablosundaki hastalardan enfeksiyon etkeni olarak üretilen *S.pneumoniae* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması ve pnömonokların bölgemizdeki direnç durumunun ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntemler

KOAH'lı hastalardan elde edilen bronkoskopik aspirasyon materyalinin 0.1 ml'lik kısmı, 0.9 ml beyin-kalp infüzyon

buynonuna eklenerek derhal laboratuvara ulaştırıldı. Karıştırıcı arayıcılığıyla homojenize edilen bu materyalin 0.1 ml'si kanlı agara, 0.1 ml'si de çikolata agarına ekilerek, % 5-10 CO₂'li ortamda 18-24 saat süreyle inkübe edildi. 10⁴ cfu/ml ve üzerindeki üremeler anlamlı olarak kabul edildi. *S. pneumoniae*'nin idantifikasyonu, koloni morfolojisi, Gram boyaması ve optokin duyarlılığı ile yapıldı.

Disk Difüzyon Testi: Disk difüzyon testi NCCLS kriterlerine uyularak % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton agarında yapıldı. Tüm *S.pneumoniae* suşlarının tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, sefotaksim ve seftriakson duyarlılıkları çalışıldı. *S. pneumoniae* suşları için penisilin direnci 1 µg'lık oksasilin diskleri (Oxoid) ile belirlendi. İnhibisyon zonu çapları, M2-A5'te NCCLS (8)'in *S. pneumoniae* için önerdiği standartlara göre yorumlandı. Disk difüzyon yöntemi ile çalışılan antibiyotikler ve *S.pneumoniae* için kabul edilen inhibisyon zonu çapları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Agar Dilüsyon Testi: Agar dilüsyon yöntemi NCCLS standartlarına uygun olarak yapıldı. Her *S. pneumoniae* suşu için penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, seftriakson ve sefotaksime duyarlılık durumu çalışıldı. Antibiyotikler ilgili firmalardan temin edildi. Agar dilüsyon yöntemi için her antibiyotiğin seri dilüsyonlarını içeren % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton agar besiyerleri hazırlandı. 18 saatlik

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas

8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (6-10 Ekim 1997, Antalya)'nde bildirilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan Antibiyotiklerin *Streptococcus pneumoniae* İçin Geçerli İnhibisyon Zonu Çapları

Antibiyotik	Duyarlı (mm)	Orta Duyarlı (mm)	Dirençli (mm)
Oksasilin (1 µg)	≥20	-	-
Tetrasiklin (30 µg)	≥22	18-21	≤17
Kloramfenikol (30 µg)	≥21	18-20	≤17
Eritromisin (15 µg)	≥21	16-20	≤15
Sefotaksim (30 µg)	≥23	15-22	≤14
Seftriakson (30 µg)	≥21	14-19	≤15

saf pnömokok kültürlerinden 0.5 McFarland standardının bulanıklığı esas alınarak önce 10^8 cfu/ml, daha sonra 1/10 oranında dilüe edilerek 10^7 cfu/ml içeren bakteri süspansiyonları hazırlandı. Bu süspansiyonlardan 1 mm çapındaki standart öze yardımıyla antibiyotikli plaklara ekimler yapıldı. 18-20 saat inkübasyondan sonra değerlendirildi. Bakteri üremesinin inhibe olduğu en düşük konsantrasyon penisilin ve diğer antibiyotikler için MIC değeri olarak belirlendi. MIC değerleri, M7-A3'te NCCLS (9)'in *S. pneumoniae* için önerdiği standartlara göre yorumlandı. Çalışmaya dahil edilen antibiyotikler ve kabul edilen MIC sınırları Tablo 2'de gösterilmiştir.

S. pneumoniae suşlarında iki ve daha çok antibiyotiğe direnç olduğunda multipl dirençli kabul edildi.

Sonuçlar

S. pneumoniae suşlarında penisilin direnci önce 1 µg'lık oksasilin diskleri ile disk difüzyon yöntemi ile taranmıştır. 35 suşun 8'i (%23) dirençli, 27'si (%77) ise duyarlı bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemine göre, tetrasikline 10 suş (%28), kloramfenikole 5 suş (%14), eritromisine 6 suş (%17) dirençli bulunmuş, sefotaksim ve seftriaksona ise dirençli suş saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 2. Çalışmaya Dahil Edilen Antibiyotikler ve Kabul Edilen MIC Sınırları

Antibiyotik	Duyarlı (µg/ml)	Orta Dirençli (µg/ml)	Dirençli (µg/ml)
Oksasilin	≤0.06	0.12-1	≥2
Tetrasiklin	≤ 2	4	≥8
Kloramfenikol	≤48	≥1	6
Eritromisin	≤0.5	1-2	≥4
Sefotaksim	≤0.25	0.5-1	≥2
Seftriakson	≤0.25	0.5-1	≥2

Tablo 3. *Streptococcus pneumoniae* Suşlarının Disk Difüzyon Yöntemi ile Duyarlılık Durumları

Antibiyotik	Duyarlı Sayı (%)	Orta Duyarlı Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)
Oksasilin	27 (77)	-	8 (23)
Tetrasiklin	23 (66)	2 (6)	10 (28)
Kloramfenikol	27 (77)	3 (9)	5 (14)
Eritromisin	20 (57)	9 (26)	6 (17)
Sefotaksim	33 (94)	2 (6)	-
Seftriakson	32 (92)	3 (9)	-

Agar dilüsyon yöntemi ile 35 *S. pneumoniae* suşunun tümü eritromisin, sefotaksim ve seftriaksona duyarlı bulunmuştur. Bu suşların penisiline 30'u (%86) duyarlı, 5'i (%14) orta duyarlı; tetrasikline 32'si (%91) duyarlı, 3'ü (%9) orta duyarlı; kloramfenikole 30'u (%86) duyarlı, 5'i (%14) orta duyarlı bulunurken bu antibiyotiklere dirençli suşa rastlanmamıştır (Tablo 4).

S. pneumoniae suşları multipl direnç yönünden incelendiğinde 32 suş tek bir (% 91) antibiyotiğe dirençli iken, 2 suş (%6) iki farklı antibiyotiğe (penisilin/kloramfenikol ve penisilin/tetrasiklin), 1 suş ise (%3) üç farklı antibiyotiğe (penisilin/tetrasiklin/kloramfenikol) dirençli bulundu.

İrdeleme

Pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçilecek antibiyotik penisilindir (1). *S. pneumoniae*'de penisilin direnci 1940'lı yılların başında ortaya çıkmıştır. 1965 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bir araştırma laboratuvarında penisiline dirençli pnömokok suşları saptanmıştır (5,10). Penisiline dirençli ilk klinik izolat 1967'de Avustralya'da izole edilmiştir (11). Direnç son 20 yılda giderek artış göstermiş, özellikle 1980'li yıllardan başlayarak, İspanya'da %40, Macaristan'da %58, Fransa'da %48, Amerika Birleşik Devletleri'nde %15.5, Güney Afrika'da %14.4 oranlarına ulaşmış olup, değişik coğrafik bölgelerde farklı oranlar bildirilmektedir (3,5,10,12-14).

Ülkemizde *S. pneumoniae* suşlarında, penisilin ve diğer antibiyotiklere direnç konusundaki çalışma sayısı azdır. Bu çalışmalarda penisiline değişen oranlarda direnç bulunmuştur. Yine bu çalışmalarda penisiline direnç gelişimindeki tek risk faktörünün, dirençli suşlarla infekte olmadan önceki bir ay içerisindeki antibiyotik kullanımını olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda %13-32.4 arasında orta düzeyde direnç, %0-20.8 arasında yüksek düzeyde direnç bulunmuştur (6,15-18). Öngen ve arkadaşları (16), İstanbul'da yaptıkları çalışmada, çocuk hastalardan elde ettikleri *S. pneumoniae* suşlarında penisilin direncini önce 1 µg'lık oksasilin diski ile araştırmışlar; suşların %43'ünün oksasiline dirençli olduğunu bulmuşlar; dirençli suşlarda agar dilüsyon yöntemi ile penisilin MIC değerlerini saptadıklarında düşük düzeydeki direnç oranını %23 olarak bulmuşlardır. Tunçkanat ve arkadaşları (17), Ankara'da agar dilüsyon yöntemi ile yaptıkları araştırmada *S. pneumoniae* için %26.4 oranında düşük düzeyde penisilin direnci bulunurken, yüksek düzeyde direnci % 7.3 oranında saptamışlardır. Gür ve arkadaşları (6), erişkin ve çocuk hastalardan elde edilen *S. pneumoniae* suşlarında penisiline % 17-30 oranında direnç bulmuşlardır.

Disk difüzyon yöntemi ile oksasilin diski kullanılarak yaptığımız çalışmada 35 *S. pneumoniae* suşunun 8'i (%23) dirençli, 27'si (%77) duyarlı bulunmuştur. Agar dilüsyon yöntemi kullanılarak yapılan araştırmada ise penisiline karşı yüksek düzeyde dirençli suşa rastlanmamış olup, 5 suşta (%14) düşük düzeyde direnç bulunmuştur.

Penisiline dirençli pnömokokların ortaya çıkması ile beraber, diğer antibiyotiklere de direnç konusu gündeme gelmiştir (5,13). Appelbaum ve arkadaşları (14), 1977 yılında Güney

Tablo 4. Streptococcus pneumoniae Suşlarının Agar Dilüsyon Yöntemi ile Duyarlılık Durumları

Antibiyotik	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
Penisilin	30	(86)	5	(14)	-	-
Tetrasiklin	32	(91)	3	(9)	-	-
Kloramfenikol	30	(86)	5	(14)	-	-
Eritromisin	35	(100)	-	-	-	-
Sefotaksim	35	(100)	-	-	-	-
Seftriakson	35	(100)	-	-	-	-

Afrika'da yaptıkları çalışmada 5 çocuk hastadan izole ettikleri *S. pneumoniae* suşlarının kloramfenikole ve sefalosporinlere değişik düzeylerde dirençli olduğunu saptamışlardır. Trallero ve arkadaşları (13), İspanya'da *S. pneumoniae* suşlarında eritromisin direncini %7.9 oranında bulmuşlardır. Geslin ve arkadaşları (19), Fransa'da yaptıkları çalışmada *S. pneumoniae* suşlarının tetrasikline %20, kloramfenikole %9, eritromisine %26 oranında dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde penisiline dirençli pnömokok suşlarının % 11 oranında eritromisine de dirençli olduğu yayımlanmıştır (13,20).

Ülkemizde penisiline dirençli pnömokok suşlarında, diğer antibiyotiklere de direnci araştıran çalışmalar az sayıdadır. Kanra ve arkadaşları (18) Ankara'da agar dilüsyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada, çocuk hastalardan izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının %30'unun penisiline, %15'inin sefotaksime orta duyarlı olduğunu saptarlarken; yüksek düzeyde penisilin ya da sefotaksim direnci saptamamışlardır. Aynı çalışmada suşların %17.5'i tetrasikline dirençli bulunurken, kloramfenikole ve eritromisine direnç tespit edilmemiştir. Çalışmamızda ise agar dilüsyon yöntemi ile 5 suşun (%14) penisiline ve kloramfenikole, 3 suşun (%9) tetrasikline orta duyarlı olması dışında, denenen antibiyotiklerin hiçbirine direnç saptanmaması; suşların hepsinin eritromisin, sefotaksim ve seftriaksona duyarlı olması dikkat çekicidir (Tablo 4). Çalışmamızda penisiline düşük düzeyde direnç oranı da Ankara'daki çalışmamızınkinden düşüktür. Bu durum hastalarımızın yetişkin grupta yer almasından kaynaklanabileceği gibi bölgesel farklılıklardan da kaynaklanıyor olabilir.

Nava ve arkadaşları (21), İspanya'da *S. pneumoniae* suşlarında eritromisin, kloramfenikol ve tetrasikline multipl direncin %7.3-76.2 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Kristinsson ve arkadaşları (22) tarafından yapılan bir çalışmada İzlanda'da penisiline dirençli pnömokok suşlarında multipl direncin %2.3-8.5 arasında değiştiği bulunmuştur. Çalışmamızda ise pnömokok suşlarının üçü (%9) iki ya da daha fazla antibiyotiğe direnç göstermiştir.

Sonuç olarak, bölgemizde *S. pneumoniae*'deki direnç durumunun, sorunun dünyanın kimi coğrafi bölgelerindeki boyutlarına oranla oldukça farklı olduğu anlaşılacakla birlikte, bu konuda yapılacak düzenli taramalarla olası gelişmelerin izlenmesinin yerinde olacağı söylenebilir.

Kaynaklar

- Musher DM. Streptococcus pneumoniae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995:1811-26
- Musher DM. Infections caused by Streptococcus pneumoniae: clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 801-9
- Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae: an overview. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 77-83
- Griffith DE, Mazurek GH. Pneumonia in chronic obstructive lung disease. *Infect Dis Clin North Am* 1991; 5: 467-84
- Allen KD. Penicillin-resistant pneumococci. *J Hosp Infect* 1991; 17: 3-13
- Gür D, Tunçkanat F, Şener B, et al. Penicillin resistance in Streptococcus pneumoniae in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 440-1
- Spika JS, Facklam RR, Plikaytis BD, et al. Antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae in the United States 1979-1987. *J Infect Dis* 1991; 163: 1273-8
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. M2-A5. Approved Standard*. Villanova, Pa: NCCLS, 1993
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. M7-A3. Approved Standard*. Villanova, Pa: NCCLS, 1993
- Jacobs MR. Treatment and diagnosis of infections caused by drug-resistant Streptococcus pneumoniae. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 119-27
- Hansman D, Bullen MM. A resistant pneumococcus. *Lancet* 1967; 2: 264-5
- Nielsen SV, Henriksen J. Capsular types and susceptibility to penicillin of pneumococci isolated from cerebrospinal fluid or blood in Denmark, 1983-1988. *Scand J Infect Dis* 1993; 25: 165-70
- Klugman KP, Koornhof HJ. Worldwide increase in pneumococcal antibiotic resistance. *Lancet* 1989; 2: 444
- Appelbaum PC, Scragg JN, Bowen A, et al. Streptococcus pneumoniae resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet* 1977; 2: 995-7
- Sümerkan B, Aygen B, Öztürk M, et al. Pnömokok infeksiyonları ve penisilin direnci. *Klimik Derg* 1994; 7: 129-31
- Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, et al. Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci. *Mikrobiyol Bül* 1992; 26: 307-13
- Öngen B, Kaygusuz A, Özalp M, et al. İstanbul'da çocukluk yaş grubunda Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci aranması [Özet]. *Ankem Derg* 1994; 8: 90
- Kanra G, Akan Ö, Ceyhan M, et al. Çocuklarda hastalık etkeni olan Streptococcus pneumoniae suşlarında antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bül* 1996; 30: 25-31
- Geslin P, Buu-hoi A, Frémaux A, et al. Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae: an epidemiological survey in France, 1970-1990. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 95-8
- Haglund LA, Istre G, Pickett DA, et al. Invasive pneumococcal disease in central Oklahoma: emergence of high-level penicillin resistance and multiple antibiotic resistance. *J Infect Dis* 1993; 168: 1532-6
- Nava JM, Bella F, Garau J, et al. Predictive factors for invasive disease due to penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae: a population-based study. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 884-90
- Kristinsson KG, Hjalmarsdottir MA, Steingrimsdottir O. Increasing penicillin resistance in pneumococci in Iceland. *Lancet* 1992; 339: 1606-7