

Okul Çocuklarında Meningokok Taşıyıcılığının ve Meningokoklarda Penisilin Direncinin Araştırılması

Şemsinur Karabela, Kadriye Kart Yaşar, Gönül Şengöz, Filiz Yıldırım, Bülent Durdu

Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
Yazışma Adresi: Haseki EAH Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Fatih 34096
 İstanbul – Türkiye

İş Tel: 0212 529 44 00 2115-1484 Cep Tel: 0532 564 63 80 e-mail: drfilizyildirim@yahoo.com

ÖZET:

Amaç: 2005 yılında ilköğretim okulu öğrencilerinden alınan boğaz kültürlerinde *N. meningitidis* taşıyıcılığını belirlemek ve serogrup dağılımı hakkında veriler elde etmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yaşları 6 ile 10 arasında değişen 340 çocuktan boğaz sürüntü örneği alındı. İzole edilen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle tanımlanarak serotiplendi ve kapsül polisakkaritlerine göre serogruplandırıldı. *N. meningitidis* suşlarında Penisilin G için MİK değerleri E test yöntemi ile araştırıldı.

BULGULAR: Yapılan işlemler sonucunda 14'ü kız, 10'u erkek öğrencilerden olmak üzere 24 adet *N. meningitidis* suşu izole edildi. İncelenen 340 boğaz sürüntüsünde taşıyıcılık %7 olarak tespit edildi. Serogruplandırılabilen 16 suşun 9'unun serogrup Y/W135, 3'ünün serogrup A, 3'ünün serogrup B, 1 tanesinin de serogrup C olduğu görüldü. Taşıyıcılığın 6 yaşındaki çocuklarda, 5 ve üstü kardeşi olanlarda arttığı belirlendi. Elde edilen suşların Penisilin G için E test yöntemi ile bakılan MİK değerleri iki serogrup A suşunda, bir serogrup Y/W135 suşunda ve serogruplandırılmayan iki suşa orta duyarlı, diğerlerinde duyarlı olarak bulundu.

Sonuç: Boğazda bulunan en önemli bakteri hayatı tehdit eden salgınlar oluşturması nedeniyle *N. meningitidis*'tir. Hiçbir semptom olmaksızın boğazda *N. meningitidis*'in insidensi arttığında bir epidemi ihtimali de artacaktır. 6th ISAAR (International Symposium on Antimicrobial agents and Resistance, 2007) sempozyumunda poster olarak sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *N. meningitidis*, taşıyıcılık, penisilin direnci

SUMMARY:

Investigation of meningococci carriers and their penicillin resistance among school children

Background: We aimed to determine the *Neisseria meningitidis* carriage in throat cultures taken from the primary school children and to obtain data in serogroup distribution in 2005.

Materials and Methods: Throat samples were taken from 340 children, between the ages 6 to 10. *N. meningitidis* identified using conventional methods and serogrouped according to capsule polysaccharides. The *N. meningitidis* strains investigated for MIC values of penicillin G by E test method.

Results: In this study, 24 *N. meningitidis* strains were isolated from the children consisting of 14 female and 10 male. The carriage in 340 throat samples was found as 7%. 9 out of the 16 serogrouped strains were Y/W135, 3 were serogroup A, 3 were serogroup B and 1 was serogroup C. It was also found that carriage increased in 6 years old children and the ones with 5 or more siblings. Strains which determined intermediate to Penicillin G were 5 (two serogroup A, one serogroup Y/W135 and two not serogrouped) and 19 strains were susceptible.

Conclusion: The most important bacterium in throat is *N. meningitidis*, due to its life-threatening outbreaks. When the incidence of *N. meningitidis* on throat without any symptom increases, the possibility of an epidemic will augment.

Key words: *N. meningitidis*, carriage, penicillin resistance

GİRİŞ

Toplumda epidemik menenjit etkeni olarak salgınlara yol açan *N. meningitidis* nazofarinks mukozasında yerleşerek geçici flora elemanı olarak taşınabilir. Bu taşıyıcılık oranı arttığında meningokok menenjiti görülme insidansında bir artış olduğu bilinmektedir. Aslında insan organizması hastalığın ortaya çıkması bakımından meningokoklara karşı oldukça dirençlidir. Salgın ve salgın dışı zamanlarda hastalara oranla, taşıyıcıların yüksekliği bu dirence bağlıdır (1). Meningokoklarda kapsüller polisakkarit antijeninin immünolojik özelliği göz önünde bulundurularak, en az 13 serogrup (A, B, C, D, H, I, K, L, X, Y, Z, W135 ve 29E) identifiye edilmiştir. İnsanlarda en sık ciddi enfeksiyona neden olabilen serogruplar A, B, C, Y ve W135' tir (2). Batı yarım küresinde epidemik ve sporadik olaylar daha çok B, C ve W-135 gruplarıyla meydana gelmektedir(1,3). Serogrup A ise epidemilerden sorumludur(4,5). Korunma bakımından, taşıyıcılar ve taşınan serogrupların dağılımı önemlidir. Bu çalışmada amaç, 6-10 yaş okul çocuklarındaki *N. meningitidis* taşıyıcılığını ve serogrupları belirleyerek bölgemiz için önemli olan serogrup dağılımı hakkında veriler elde etmektir.

MATERYAL VE METOD

2005 yılı Mart-Nisan aylarında İstanbul'da iki ayrı ilköğretim okulu öğrencilerinden alınan 340 adet boğaz sürüntü örneği, *N. meningitidis* taşıyıcılığını belirlemek amacıyla değerlendirildi. Yaşları 6-10 arasında değişen sağlıklı 1, 2 ve 3. sınıf öğrencileri çalışmaya dâhil edildi. Çalışmaya erkek ve kız öğrenciler eşit sayıda alındı. Örneklem yapılan sınıflarda sınıf mevcudu en az 32, en fazla 51 kişiydi. Öğrencilerin büyük çoğunluğu 2 kardeşti. Alınan sürüntüler, aynı gün veya bir gün önce GC Agar base, Soluble Haemoglobin, VCNT (Vancomycin, Colistin, Nystatin, Trimethoprim) supplement ve Vitox supplement eklenerek hazırlanan modifiye *Thayer-Martin* besiyerine (Oxoid, Hampshire, İngiltere) ekildi. Plaklar %10 CO₂'li ortamda 37 °C de 48 saat enkübe edildi. Üreyen kolonilerden konvansiyonel yöntemlerle yapılan identifikasyon işlemleri ile elde edilen *N. meningitidis* suşları, kapsül polisakkaritlerine

karşı A, B, C, Y/W135 serogrupları için fare ve tavşanlardan hazırlanmış antiserumlar içeren Pastorex®Meningitidis (BIO-RAD) test kiti kullanılarak serogrup tayini yapıldı. Elde edilen *N. meningitidis* suşlarının penisilin G için MİK(minimal inhibitör konsantrasyon) değerleri; CLSI önerileri doğrultusunda E test yöntemi ile kanlı agar da araştırıldı(6).

BULGULAR

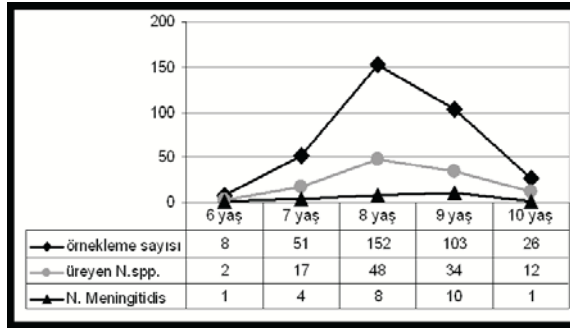
Bir erkek öğrenciden *N. gonorrhoeae*, 14 kız öğrenciden ve 10 erkek öğrenciden *N. meningitidis* olmak üzere toplam 25 adet patojen *Neisseria* suşu elde edildi. Serogruplandırılabilen 16 *N. meningitidis* suşunun; 9'unun serogrup Y/W135, 3'ünün serogrup A, 3'ünün serogrup B, 1 tanesinin de serogrup C olduğu tespit edildi. Sekiz tanesi serogruplandırılmadı. Elde edilen *N. meningitidis* suşlarının sınıflara göre sayısı ve serogrup dağılımı aşağıdaki **tablo 1**'de görülmektedir.

Tablo-1: Sınıflara göre alınan kültür ve izole edilen *Neisseria*'lar

Sınıf	Örnek sayısı	Üreyen <i>Neisseria</i> spp.	<i>N. meningitidis</i>	Serogrup dağılımı				
				A	B	C	Y/W135	Gruplandırılmayan
1A	26	6	1	0	0	0	1	0
1B	30	6	4	0	1	0	2	1
1C	27	9	4	2	0	0	2	0
2A	46	19	3	1	1	0	0	1
2B	39	10	1	0	0	0	1	0
2C	31	21	5	0	0	1	1	3
2D	44	10	0	0	0	0	0	0
3A	48	19	3	0	0	0	1	2
3B	49	13	3	0	1	0	1	1
Toplam	340	113	24	3	3	1	9	8

Taşıyıcılık 14 *N. meningitidis* izole edilen kız öğrencilerde (%8.2), erkeklere (%5.8) göre daha fazla bulundu. Taşıyıcılık oranları 6, 7, 8, 9 ve 10 yaş için sırasıyla; % 12.5, % 7.8, % 5.2, % 9.7, % 3,8 şeklindeydi ve en yüksek oran, örneklem sayısı az olan 6 yaşındaki çocuklarda tespit edildi. Aşağıdaki grafikte bu ilişki görülmektedir (**Grafik-1**). Sınıfların birinde hiç taşıyıcılık tespit edilmedi. En yüksek taşıyıcılık, 35 kişilik sınıf mevcudunun 31'inden alınan örneklerden 5 tanesinde *N. meningitidis* izole edilen sınıfta (%16,12) bulundu.

Grafik 1- Yaşlara göre dağılım



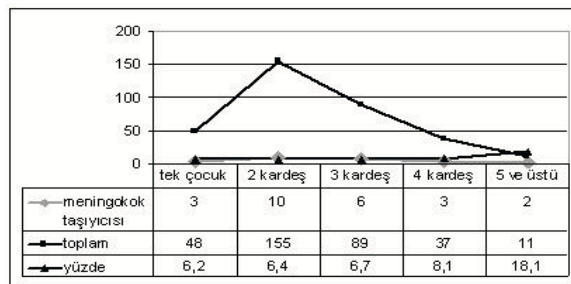
En kalabalık iki sınıfın taşıyıcılık oranları birbirine yakın ve %6 civarında tespit edildi (Tablo-2).

Tablo-2 :Sınıflara göre taşıyıcılık oranları

Sınıf	Sınıf Mevcudu	Alınan örnek sayısı	Taşıyıcılık oranı %
1A	37	26	3,85
1B	32	30	13,30
1C	35	27	14,81
2A	46	46	6,52
2B	46	39	2,56
2C	35	31	16,12
2D	44	44	0
3A	51	48	6,25
3B	51	49	6,12
Toplam		340	7,05

Kardeş sayısı iki ile üç olan çocuklarda sayı olarak diğer yaşlardan daha fazla taşıyıcı tespit edildi, ancak alınan örnek sayısı dikkate alınırsa taşıyıcılığın dört ve beş kardeşli çocuklarda arttığı görülmektedir. Tek çocuk olanlarla, iki ve üç kardeş olan çocuklarda taşıyıcılık yüzdesi 6.2 ile 6.7 arasında değişirken, dört kardeş olanlarda % 8.1, beş kardeş ve üstü olanlarda % 18'e kadar yükselmiştir. Bu durum grafik 2'de 4 ve 5 kardeşli çocuklarda eğrilerin birbirine yaklaşımla daha iyi görülmektedir.

Grafik 2. Taşıyıcılık ile kardeş sayısı ilişkisi



Elde edilen suşların Penisilin G için E test yöntemi ile bakılan MİK değerleri; iki serogrup A suşunda, bir Y/W135 suşunda,

serogruplandırılmayan iki suşta orta duyarlı, diğerlerinde duyarlı olarak bulundu. MİK50 değeri: 0,023 mg/dl, MİK90 değeri: 0,38 mg/dl olarak tespit edildi. Elde edilen üç serogrup A suşunun ikisinde orta düzey penisilin direnci tespit edilirken bunların ikisi aynı sınıftaki erkek çocuklardan izole edildi. Orta düzey penisilin direnci için; cinsiyet farkı bulunmadığı, taşınan B ve C serogruplarında azalan penisilin duyarlılığı olmadığı, kardeş sayısının artışı ile direkt bir ilginin olmadığı saptandı.

Tablo-3: Penisiline orta düzey direnç gösteren suşların özellikleri

Olgu	Yaş	Sınıf	Cinsiyet	Kardeş sayısı	Bakteri	Serogrup	MİK µg/dl
1	10	3-A	E	5	<i>N. meningitidis</i>	-	0.19
2	8	1-B	K	2	<i>N. meningitidis</i>	Y/W135	<0.38
3	8	1-C	E	2	<i>N. meningitidis</i>	A	0.50
4	9	2-C	K	2	<i>N. meningitidis</i>	-	<0.75
5	9	1-C	E	2	<i>N. meningitidis</i>	A	0.75

TARTIŞMA

N. meningitidis'in tek kaynağı insandır ve sağlıklı kişilerdeki taşıyıcılık oranları çeşitli çalışmalarda epidemiler dışında % 2–10 arasında bildirilmiştir(1,7,8). Yaptığımız bu çalışmada sınıflar arası ve yaşlar arası farklılıklar vardır, ancak ortalama taşıyıcılık oranı %7 olarak bulunmuştur. Bazı sınıflarda taşıyıcılık %16'ya kadar yükselirken bazı sınıflarda hiç taşıyıcı tespit edilmemiştir. En yüksek oranın en kalabalık sınıfta, en düşük taşıyıcılığın da en az öğrenci bulunan sınıfta olmaması, okullarda mevcudu fazla sınıfta olmanın taşıyıcılıkta çok önemli bir risk faktörü olmadığını düşündürmektedir.

Bakır ve arkadaşları(9) yaşları 0–10 arasında değişen asemptomatik çocuklardaki bakteri taşıyıcılığını %1,23 bulmuş, serogrup sıklığını Y, B, A, D ve W135 şeklinde bildirmiştir. Serogrup C hiç tespit edilmemiştir. Pınar ve arkadaşları(10), İstanbul'da 9–11 yaş arası 84 öğrencideki *N. meningitidis* taşıyıcılığını %21 olarak tespit etmiş, izole edilen suşların sırasıyla C, A, B ve W135 serogrubundan olduğu görülmüştür. Suşların yaklaşık yarısı sero gruplandırılmamıştır. Manisa(11) ve İzmir'de(12) taşıyıcılık oranları sırasıyla %6,3 ve %28 olarak bulunmuş, ilk sırada serogrup C bildirilmiştir. Türkiye'de farklı zaman ve bölgelerde yapılan her üç

çalışmanın sonuçlarına göre en sık serogrup C tespit edilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda 24 *N. meningitidis*'ten sadece 1 tanesi serogrup C olarak bulundu. Bu nedenle C serogrubu *N. meningitidis* suşları hakkında daha fazla veri ve araştırmaya ihtiyaç vardır. Elimizdeki bulgular dikkate alınırsa ülkemiz için serogruplandırılabilen suşlar arasında çeşitli çalışmalarda en sık görülen serogruplar Y/W135 ve C serogruplarıdır. Taşıyıcılık oranları ise sağlıklı çocuklarda %6 ile %28 arasındadır. Fransa'da meningokok enfeksiyonlarının %50'den fazlasının serogrup B ile oluştuğu tespit edilmiş, serogrup C'nin de artan bir insidans gösterdiği gözlenmiştir(13). Son yıllarda Akdeniz ülkelerinde de C serogrubunun arttığına ilişkin veriler mevcuttur(14). *N. meningitidis* serogrup W135'e bağlı ilk salgın 2000 yılında hac mevsiminde Suudi Arabistan'da bildirilmiştir. Bu salgında gruplandırılabilen serogruplardan sık görülenler W135 ve A olmuştur(15). Salgın nedeni *N. meningitidis* serogrup W135 suşlarının daha önce hiç tespit edilmediği diğer Afrika ülkelerine de taşındığı tespit edilmiştir(16). *N. meningitidis* serogrup A, Afrika'da 1987'de ilk kez bildirilmesinden beri çeşitli salgınlara yol açmıştır(17). Genel olarak asemptomatik çocuklarda taşıyıcılık tespit edildiğinde bakterinin eliminasyonu önerilmemektedir. Eradikasyon çalışmaları ile toplumdaki taşıyıcılık ve salgınlara önlenemediğine dair veri de yoktur(7). İnsanlar için invaziv hastalık yapan *N. meningitidis* suşlarının serogrup dağılımında da serogruplandırılmayan suşlar olması bu bakterilerin de önemli olduğunu ve serogrup tayini için daha hassas metotlara ihtiyaç duyduğumuzu göstermektedir. Çalışmamızda kalabalık aile çocuklarında taşıyıcılık oranı %18'lere kadar çıkmış olmakla beraber, kalabalık sınıfta bulunma belirli bir risk faktörü olarak tespit edilmemiştir. Bu, aile içi temasın daha önemli olduğunu düşündürmektedir. Eşit sayıda örnekleme yapıldığı halde kız öğrencilerde ve oranlara bakıldığında 6 yaş çocuklarda taşıyıcılık yüksek bulunmuştur. Ancak bu verilerin daha geniş gruplarda onaylanması gerekmektedir. *N. meningitidis* 'e bağlı enfeksiyonlarda nadir de olsa orta düzey penisilin direnci görülebilir ve bu direnç penisilin bağlayan proteinlere, (özellikle PBP 2 ve 3) bağlanma ilgisinin

azalması şeklinde gelişir(3). Bugüne kadar ülkemizde penisiline dirençli meningokok bildirilmemiştir(18). Çalışmamızda elde edilen suşların penisiline çoğunlukla duyarlı olduğu görülmüş, beş suşta orta düzey penisilin direnci tespit edilmiştir. Özellikle salgınlara neden olan *N. meningitidis* serogrup A suşlarından ikisinde orta düzey direnç saptanması dikkat çekicidir. Meningokoklarla oluşan invaziv hastalığı önlemek ve salgınlara oluşmasına engel olmak için kalabalık yaşam koşullarının olduğu durumlarda aşı uygulaması yapılmaktadır. Ancak toplum sağlığını koruyabilmek için yapılan aşının o an için toplumda dolaşan serogrupları içermesi gereklidir. Bu nedenle de hastalıkları oluşturan suşlar kadar hastalık dönemleri arasında toplumda taşınan suşların serolojik dağılımlarının bilinmesi de önem taşımaktadır. Çünkü hiçbir semptom olmaksızın boğazda *N. meningitidis*'in insidansı arttığında bir epidemiy ihtimali de artacaktır.

KAYNAKLAR

1. Fazlı ŞA. *Neisseria ve Branhamella*. In: Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 371-96
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. *Neisseria species and Moraxella catarrhalis*. *Diagnostik Microbiology*. 5th eds. New York: Lippincott, 1997: 491-537
3. Apicella MA. *Neisseria meningitidis*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2498-513.
4. Swartz M. *Acute Bacterial Meningitis*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 1660-67
5. Ertem S. *Akut Bakteriyel Menedjit: Etiyoloji ve Epidemiyoloji*. In: Eraksoy H, Yenen Ş. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000: 1-5
6. CLSI 2004. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. (Approved standard M7-A6. CLSI)

7. Block C, Raz R, Frasci CE, et al. Re-emergence of meningococcal carriage on three-year follow-up of a kibutz population after whole-community chemoprophylaxis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1993; 12: 505–11.
8. King WJ, MacDonald NE, Wells G, et al. Relationship between parental and children's oropharyngeal colonization with *Neisseria meningitidis*. *J Pediatr*, 1995; 126:937–939.
9. Bakır M, Yağcı A, Ülker N et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in relation to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* colonization in healthy children: Apropos of 1400 children sampled. *European Journal of Epidemiology*, 2001; 17(11):1015–18.
10. Pınar M, Çağatay AA, Özsüt H ve ark. İstanbul'da bir ilkokulda asemptomatik *Neisseria meningitidis* taşıyıcılığı. *Klinik Dergisi*, 2001; 14(1): 17–18.
11. Gazi H, Sürücüoğlu S, Özbakkaloğlu B ve ark. Manisa'da ilkokul çağındaki çocuklarda *N. meningitidis* taşıyıcılığı ve izole edilen suşlarda penisilin direnci. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı 2002: 295;76.
12. Coşkun Ş, Yanıkyürek S, Ağzitemiz M. İzmir ilinde görülen Epidemik meninjitin epidemiyolojik karakterlerinin ortaya konmasına yönelik alan çalışması. *Infeksi Derg*, 1990; 4(3): 431–5
13. Institut Pasteur Homepage. Director: Jean-Michel Alonso. 2006
14. Berron S, de la Fuente L, Martin E, Vazquez JA. Increasing incidence of meningococcal disease in Spain associated with a new variant of serogroup C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1998; 17: 85–89.
15. Lingappa JR, Al-Rabeah AM, Hajjeh R et al. Serogroup W135 meningococcal disease during the Hajj, 2000. *Emerg Infect Dis*, 2003; 9(8):1028.
16. Lal G, Balmer P, Joseph H et al. Development and evaluation of a tetraplex flow cytometric assay for quantitation of serum antibodies to *Neisseria meningitidis* serogroups A, C, Y, and W-135. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004; 11(2):272–79.
17. Norheim G, Arne Hoiby E, Caugant DA et al. Immunogenicity and bactericidal activity in mice of an outer membrane protein vesicle vaccine against *Neisseria meningitidis* serogroup A disease. *Vaccine*, 2004; 22(17–18):2171–80.
18. Kurt H. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları. TINWEB Sitesi. 2005