

SOLUNUM SİSTEMİ İNFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN PNÖMOKOK SUŞLARININ ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Alpay Azap* ❖ Adalet Altunsoy** ❖ Kemal Osman Memikoğlu*** ❖ İsmail Balık****

ÖZET

Son yıllarda *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin ve makrolid direncinde artış gözlenmektedir. Bu çalışmada, bir yıl içerisinde solunum yolu örneklerinden izole edilen 77 pnömokok suşunun, çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. İzolatların %57.1'inin oksasilin tarama testi ile penisiline duyarlı olduğu bulunmuştur. Eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve levofloksasin duyarlılık oranları ise sırasıyla, %75.3, %85.7, %68.8 ve %96.1'dir. Eritromisine duyarlı olmayan 19 suşun 11'i (%57.9) klindamisine duyarlı (M tipi direnç), 8 tanesi ise klindamisine dirençli (MLS_B tipi direnç) bulunmuştur. Suşların tamamının vankomisin ve telitromisine duyarlıdır. Buna göre, telitromisin ve levofloksasin, penisilin dirençli pnömokok söz konusu olduğunda toplum kökenli pnömoninin tedavisinde alternatif ajanlar olarak kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus Pneumoniae*, Direnç, Makrolidler, Penisilin.

SUMMARY

In-vitro Susceptibility of Streptococcus Pneumoniae Strains Isolated from Lower Respiratory Tract Infections

An increase in penicillin and macrolide resistance rates among *Streptococcus pneumoniae* strains is a growing problem. In this study, the sensitivity patterns of 77 *S. pneumoniae* strains isolated from respiratory secretions were determined by disk diffusion method. Penicillin susceptibility rate was 57.1%. The susceptibility rates of the isolates to erythromycin, clindamycin, tetracycline and levofloxacin were 75.3%, 85.7%, 68.8%, and 96.1%, respectively. Eleven(57.9%) of the 19 isolates that were non-susceptible to erythromycin were susceptible to clindamycin (M phenotype). Telithromycin and levofloxacin may be good alternatives in the treatment of CAP when the causative agent is a penicillin resistant pneumococcus.

Key Words: *Streptococcus Pneumoniae*, Resistance, Macrolides, Penicillin.

Streptococcus pneumoniae toplum kökenli solunum sistemi infeksiyonlarına neden olan mikroorganizmaların başında gelmektedir. Toplum kökenli pnömonilerin %20-40'ından, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOA) akut alevlenmelerinin %15-25'inden ve akut sinüzit olgularının %30-40'ından *S. pneumoniae* sorumludur(1,2). 1980'li yılların sonuna kadar penisilinlerle sorunsuz olarak tedavi edilebilen pnömokok infeksiyonları, bu tarihten sonra pnömokok suşlarında penisilin direncinin dünya genelinde yaygınlaşması ile birlikte klinisyenler için sorun haline gelmiştir.

Klinik örnekten izole edilen ilk dirençli pnömokok suşunun bildirildiği 1967 yılından günümüze kadar geçen 35 yılda dünya genelinde peni-

silin dirençli (Minimal İnhibitör Konsantrasyon-MİK-: ≥ 2 mg/L) pnömokok suşlarının prevalansı %39.9'a ulaşmıştır(1). Penisilin direnci diğer antibiyotiklere direnç sorununu da beraberinde getirmektedir. Penisiline azalmış duyarlılık gösteren (MİK:0.1-1mg/L) veya penisiline dirençli pnömokok suşlarında, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin ve kotrimoksazol gibi antibiyotiklere direnç oranının, penisiline duyarlı pnömokok suşlarına kıyasla daha yüksek olduğu bilinmektedir(2,3,4). Ülkemizde pnömokoklarda penisilin direnci ilk kez 1992 yılında bildirilmiştir(5). Bu tarihten sonra çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalar, penisilin direncinde artışla birlikte diğer antibiyotiklere olan dirençte de artışı ortaya koymuştur(2,6). Bu antibiyotikler içinde makrolid grubu

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bacteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD Uzman Doktor

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bacteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD Araştırma Görevlisi

*** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bacteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD Uzman Doktor

**** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bacteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD Profesör Doktor

antibiyotiklerin ayrı bir yeri vardır, çünkü pek çok tedavi rehberinde toplum kökenli pnömonilerde birinci basamak tedavi seçeneği olarak makrolidler önerilmektedir(7,8).

Bu çalışmada solunum sistemi infeksiyonu olan hastalardan alınan örneklerden izole edilen pnömokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere ve bu arada ülkemizde yeni kullanıma giren ketolid grubu antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, hastanemize 1 Ekim 2002-31 Eylül 2003 tarihleri arasındaki bir yıllık süre içinde toplum kökenli pnömoni veya KOAH akut alevlenme nedeniyle başvuran, ayaktan veya çeşitli kliniklerde yatırılarak takip edilen hastalardan alınan örneklerinde üretilen 77 pnömokok suşu dahil edildi. *S. pneumoniae* idantifikasyonu için koloni morfolojisi, Gram boyanma özelliği, optokin duyarlılığı ve lateks agglütinasyon testi (Slidex pneumo-Kit BioMerioux) kullanıldı. Penisilin direnci "National Committee for Clinical Laboratory Standards- NCCLS" [M100-S13 (M2)] önerileri doğrultusunda 1 mikrogram oksasilin diski kullanılarak, disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Buna göre Oksasilin zon çapı ≥ 20 mm olan suşlar, NCCLS 2003 kriterlerinin öngördüğü şekilde penisilin duyarlı ($MİK \leq 0.06$ mg/L) olarak kabul edildi(9). Pnömokoklarda eritromisin, telitromisin, klindamisin

ve bunların yanı sıra levofloksasin, tetrasiklin ve vankomisin duyarlılıkları yine NCCLS standartları doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Antibiyotik duyarlılık testi yapılırken, besi yeri olarak %5 Koyun kanlı Mueller-Hinton Agar, besi yerine ekim için 18-20 saatlik saf pnömokok kolonilerinden 0.5 Mc Farland bulanıklığında hazırlanan suspansiyonlar kullanıldı. Antibiyotik duyarlılıkları, plakların 35°C'de, %5 CO₂'li ortamda 20 saatlik inkübasyonunun ardından zon çapları cetvel yardımıyla ölçülerek NCCLS kriterlerine göre değerlendirildi. Standart suş olarak *S. pneumoniae* ATCC 49619 kullanıldı.

Bulgular

Pnömokok suşlarından biri bronkoalveoler lavaj sıvısından, 2'si plevral sıvıdan, 4'ü kandan, 10'u trakeal aspirattan ve 60'ı balgam örneklerinden olmak üzere tamamı alt solunum yolu infeksiyonu olan hastalardan izole edildi. Yetmiş yedi suşun disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antibiyotik duyarlılıkları tablo 1'de verilmiştir.

Penisiline azalmış duyarlılık gösteren veya dirençli pnömokok suşlarında, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin gibi antibiyotiklere direnç oranının, penisiline duyarlı pnömokok suşlarına kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bulgular bu açıdan da değerlendirilmiş ve Tablo 2'deki sonuçlara ulaşılmıştır.

Tablo 1. Pnömokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	Duyarlı n(%)	Orta Duyarlı n(%)	Dirençli n(%)
Oksasilin	44(57.1)	—	33 (42.9)
Eritromisin	58 (75.3)	8 (10.4)	11 (14.3)
Telitromisin	77 (100)	0	0
Klindamisin	66 (85.7)	4 (5.2)	7 (9.1)
Vankomisin	77 (100)	0	0
Tetrasiklin	53 (68.8)	2 (2.6)	22 (28.6)
Lefovfloksasin	74 (96.1)	3 (3.9)	0

Tablo 2. Oksasiline duyarlı olan ve duyarlı olmayan pnömokok suşlarının diğer antibiyotiklere duyarlılıkları

	Eritromisin	Telitromisin	Klindamisin	Tetrasiklin	Levofloksasin
OX duyarlı (n:44)	40(90.9)	44(100)	41(93.2)	34(77.3)	43(97.7)
OX dirençli (n:33)	18(54.5)	33(100)	34(77.3)	19(57.6)	31(93.9)

Tartışma

S. pneumoniae, toplum kökenli pnömonilerin en sık nedeni olduğu gibi ölümlü sonuçlanan toplum kökenli pnömoni (TKP) olgularında da ilk sırada yer alan etiyojik ajandır(10). Makrolid grubu antibiyotikler, hem pnömokoklara hem de atipik mikroorganizmalara etkinlikleri nedeniyle özellikle hastaneye yatması gerekmeyen TKP olgularının ampirik tedavisinde ilk seçenek olarak önerilmektedir(7,8,10). Uzun yıllar TKP tedavisinde ilk seçenek antibiyotik olarak kullanılmaları, düşük yan etki profiline sahip yeni nesil üyelerin getirdiği kullanım kolaylığının da katkısı ile makrolidlerin fazlaca reçete edilmelerine neden olmuştur. Fazla kullanım beraberinde direnç sorunu da getirmiştir.

Tablo 3'te çeşitli ülkelerden bildirilen makrolid direnç oranları görülmektedir.

Tablo 3. Çeşitli pnömokok suşlarının makrolidlere direnç oranları

Ülke	Makrolid direnci				Kaynak
	%	Yıl	%	Yıl	
ABD	22.7	1198	27.5	2000	11
İspanya	10	1989	34	1997	12
İtalya	7	1993	33	1997	13
Belçika	24	1995	28.5	1997	14
Kanada	-	-	11.1	2000	15
Tayvan	-	-	74	1997	16
Türkiye	-	-	9.1	1996-99	2
Türkiye	-	-	4	1998	17

Pnömokoklarda makrolid direnci temel olarak iki mekanizmadan kaynaklanır. Bunlardan birincisi antibiyotiğin bağlanma hedefinde (ribozom) değişiklik meydana gelmesidir. Fenotipik açıdan "MLS_B fenotipi" olarak tanımlanan bu mekanizmada, "eritromisin ribozom metilasyon geni" (ermB) tarafından kodlanan metilaz enziminin neden olduğu ribozomal değişiklik, yüksek düzeyde eritromisin direncinin (MİK>64mg/L) yanı sıra linkozamidler ve streptograminlere de direnç gelişimine neden olur. Bu tür direnç coğrafi olarak Avrupa ve Güney Afrika'da yaygındır. İkinci direnç mekanizması bir efluks pompası aracılığıyla antibiyotiğin hücre dışına atılmasıdır. Fenotipik açıdan "M fenotipi" olarak tanımlanan bu mekanizmadan "makrolid efluks geni" (mefE) sorumludur. Bu mekanizmaya sahip pnömokok suşları, eritromisine orta düzeyde direnç (MİK:1-32mg/L) gösterirler ve hemen tamamı 16 üyeli makrolidlere (rokitamisin, josamisin, spiramisin vb), linkozamidlere ve streptograminlere duyarlıdır. M tipi direnç, Kuzey Amerika'da yaygın görülmektedir. Her iki direnç mekanizması transpozonlar aracılığı ile bakteriler arasında aktarılabilir(2,7,10).

Çalışmamızda eritromisine duyarlı olmayan (orta duyarlı ve dirençli) 19 suştan 8 tanesi (%42.1) aynı zamanda klindamisine de dirençli idi (MLS_B tipi direnç). Eritromisine duyarlı olmayan 11 (%57.9) suş ise klindamisine duyarlı olarak tespit edildi(M tipi direnç). Ülkemizi Avrupa bölgesine dahil edecek olursak, çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar, literatürde belirtilenin aksine ülkemizde, Kuzey Amerika'dakine benzer şekilde M tipi direncin daha yaygın olabileceğini göstermektedir. Pnömokoklarda makrolid direncine ilişkin ülkemiz verileri farklı rakamlar vermektedir. Bu konuda en çok sayıda izolatu içeren çok merkezli bir çalışmada, 1996-1999 yılları arasında solunum yolu örneklerinden izole edilen 735 pnömokok suşunda eritromisine direnç oranı %9.1 olarak bulunmuştur(2).

Ketolidler, makrolid-linkozamid-streptogramin grubunda yer alan yeni sınıf antibiyotiklerdir. Bu sınıfın klinik kullanıma giren ilk üyesi olan telitromisin, 14 üyeli makrolidlerin (eritromisin A) yarı-sentetik türevidir. Telitromisin, makrolid dirençli ribozomlara güçlü bir şekilde bağlanarak antibakteriyel etki gösterdiği gibi Makrolid, Linkozamid, Streptogramin (MLS) grubu antibiyotiklere çapraz direnç oluşturma potansiyeli de son derece düşüktür(2,18). İn vitro çalışmalarda telitromisinin, direnç mekanizmasından bağımsız olarak makrolid dirençli pnömokoklar üzerinde güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu gösterilmiştir(18). Fogarty ve arkadaşlarının yaptıkları ve telitromisinin klinik ve bakteriyolojik etkinliğini araştıran bir çalışmada, eritromisin MİK değerinden bağımsız olarak bütün pnömokok suşlarının telitromisine duyarlı oldukları gösterilmiştir(1). Farklı araştırmacıların yapmış oldukları başka çalışmalarda da makrolid dirençli pnömokokların telitromisine duyarlı oldukları gözlenmiştir (19,20,21). Bizim çalışmamızda da 77 pnömokok izolatu tamamı, eritromisin ve/veya penisilin dirençliler de dahil olmak üzere telitromisine duyarlı olarak saptanmıştır.

Çalışmamızın disk difüzyon tekniği ile yapılmış olması, bulmuş olduğumuz penisilin duyarlılık oranının yorumlanmasını güçleştirmektedir. Bu yöntemle penisiline direnç düzeyi tespit edilememektedir. Ayrıca disk difüzyon yöntemi ile penisiline dirençli olduğu tespit edilen suşların yaklaşık 1/3'ünün MİK tayini yapıldığında gerçekte penisiline duyarlı oldukları tespit edilebilmektedir(22). Kliniğimizde 1992-1994 yıllarında çeşitli örneklerden izole edilen 108 pnömokok suşu üzerinde agar dilüsyon yöntemi ile yapılan bir çalışmada, suşların %48'inin (55 suş) penisilin

MİK değerinin 0.1mg/L'nin altında olduğu gözlenmiş, sadece bir suşta penisiline direnç (MİK \geq 2 mg/L) saptanmıştır(23). Aynı klinikte 10 yıl arayla yapılan iki çalışma karşılaştırıldığında; penisilin duyarlılık oranlarında bir azalma olmadığı, aksine istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte bir artış (1992-94'te suşların %48'i, 2002-03'te %57.1'i penisilin duyarlı, p = 0.403) olduğu gözlenmiştir. Çalışma yöntemleri farklı olduğundan dirençlilik oranları karşılaştırılamamıştır. Ancak, 10 yıl içerisinde penisilin duyarlılık oranında azalma olmaması olumlu bir gelişme olarak yorumlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Fogarty CM, Kohno S, Buchanan P, Aubier M, Baz M. Community-acquired respiratory tract infections caused by resistant pneumococci: clinical and bacteriological efficacy of the ketolide telithromycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 51:947-55.
2. Gür D. Solunum Sistemi Patogenleri ve Türkiye'deki Direnç Durumları. S:9-14. Arman D, Ulusoy S (ed): Üst Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Tedavisi. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara 2003.
3. Hoban DJ, Doern GV, Fluit AC, Roussel-Delvallez M, Jones RN. Worldwide Prevalence of Antimicrobial Resistance in Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, and Moraxella catarrhalis in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32(Suppl 2):S81-93.
4. Goldsmith CE, Moore JE, Murphy PG. Pneumococcal resistance in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997; 40(Suppl A):S11-18.
5. Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE. Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1992;26:307-13.
6. Öncül O, Çavuşlu Ş, Yenen OŞ. Penisiline dirençli pnömokoklar ülkemiz için gerçekten bir sorun mu? *Flora* 1999;4(Ek2):3-23.
7. Hyde TB, Gay K, Stephens DS et al. Macrolide resistance among invasive streptococcus pneumoniae isolates. *JAMA* 2001;286:1857-1862.
8. Toraks Derneği Solunum Sistemi Enfeksiyonları Çalışma Grubu. Erişkinlerde Toplum Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi 2002. *Toraks Dergisi* 2002; Cilt 3 Ek 3.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Disk Diffusion Supplemental Tables. M100-S13 (M2-A8) January 2003, pp:48-49.
10. Lynch PL, Martinez FJ. Clinical Relevance of Macrolide resistant Streptococcus pneumoniae for Community Acquired Pneumoniae. *Clin Infect Dis* 2002;34(Suppl 1):S27-46
11. Karlowsky JA, Thornsberry C, Jones MA et al. Factors associated with relative rates of antimicrobial resistance among Streptococcus pneumoniae in the United States: Results from the TRUST Surveillance Program (1998-2002). *Clin Infect Dis* 2003;36:963-70.
12. Baquero F, Garcia-Rodriguez JA, Garcia de Loma J et al. antimicrobial resistance of 1,113 S. pneumoniae isolates from patients with respiratory tract infections in Spain. Results of a 1 year (1996-1997) multicenter surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:357-9.
13. Oster P, Zanchi A, Cresti S et al. Patterns of macrolide resistance determinants among community acquired S. pneumoniae isolates over a 5-year period of decreased macrolide susceptibility rates. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2510-2.
14. Lagrou K, Petermans WE, Verhaegen J, et al. Macrolide resistance in Belgian Streptococcus pneumoniae. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:191-21.
15. Low DE, de Azavedo J, Weiss K et al. Antimicrobial resistance among clinical isolates of S. pneumoniae in Canada during 2000. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1295-1301.
16. Fung CP, Hu BS, Lee SC et al. Antimicrobial resistance of S. pneumoniae isolated in Taiwan: an island-wide surveillance study between 1996 and 1997. *J Antimicrob Chemother*; 2000;45:49-55.
17. Kaleli İ Akşit F. Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci. *Flora* 1999;4:287-92.
18. Ackerman G, Rodloff AC. Drugs of the 21st century: telithromycin (HMR 3647)-the first ketolide. *J Antimicrob Chemother*; 2003;51:479-511.
19. Jalava J, Kataja J, Seppala H, Houvinen P. In vitro activities of the novel ketolide telitromycin against erythromycin-resistant Streptococcus species. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(3):789-93.
20. Hamilton Miller JMT, Shah S. Comparative invitro activity of ketolide HMR 3647 and four macrolides against gram positive cocci of known erythromycin susceptibility status. *J Antimicrob Chemother*; 1998; 41: 649-53.
21. Reinert RR, Bryskier A, Lütticken R. In-vitro activities of the new ketolide antibiotics HMR 3004 and 3647 against S. pneumoniae in Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1509-11.
22. Öncül O, Çavuşlu Ş, Özsoy MF, Altunay H, Yenen OŞ. Pnömonik suşlarında penisilin direncinin araştırılması. *Klinik Dergisi*, 1999;12(1):3-8.
23. Kılıç B, Altay G. Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin duyarlılığı. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1996;30(4):333-341.