

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN A GRUBU BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOKLarda PENİSİLİN TOLERANSI ARANMASI*

Selma GÖKAHMETOĞLU, Nuriye KARACA, Bülent SÜMERKAN

ÖZET

Bakterisidal bir antibiyotiğin bakterilere sadece bakteriyostatik etki göstermesi antibiyotik toleransı olarak tanımlanır. Bu fenomenin penisiline toleran A grubu beta-hemolitik streptokoklara bağlı infeksiyonlarda başarısızlığa yol açması olasıdır.

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 A grubu beta-hemolitik streptokok suşuna penisilinin MİK aralığı $\leq 0.002 - 0.125 \mu\text{g/ml}$, MİK_{50} değeri $0.008 \mu\text{g/ml}$, MİK_{90} değeri $0.015 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmış, yalnız bir suş penisiline toleran ($\text{MBK}/\text{MİK} > 32$) bulunmuştur.

SUMMARY

Search for penicillin tolerance in clinical isolates of group A beta-hemolytic streptococci.

When a bactericidal antibiotic exerts only a bacteriostatic effect on a bacterial strain, the phenomenon is known as tolerance. Penicillin tolerance in group A beta-hemolytic streptococci may result in failure in the treatment of infections caused by these strains.

In this study, the MIC range of penicillin for 50 clinical isolates of group A beta-hemolytic streptococci was found as $\leq 0.002 - 0.125 \mu\text{g/ml}$, the MIC_{50} value as $0.008 \mu\text{g/ml}$, the MIC_{90} value as $0.015 \mu\text{g/ml}$. Only one strain (2%) showed penicillin tolerance ($\text{MBC}/\text{MIC} > 32$).

GİRİŞ

A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS) sıkılıkla akut farenjit ve tonsillit etkenidirler fakat nekrotizan fasiit, septisemi ve streptokokal toksik şok sendromu gibi ciddi infeksiyonlarda etken olma insidansları artmaktadır (2).

Streptokok infeksiyonlarının tedavisinde oral ya da parenteral penisilin türevleri kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda özellikle AGBHS'ların üst solunum yollarından eradikasyonunda % 10-30 oranında başarısızlık bildirilmektedir (4,6,16). Bu başarısızlığın nedenleri arasında ağız ve üst solunum yollarının normal florasını oluşturan aerop ve anaerop bakterilerin beta-laktamaz enzimi salgılayarak penisilini inaktiv etmesi, hastanın tedaviye uyum sorunu, tedavi süresinin gerekligidenden kısa tutulması, penisilinin infeksiyon bölge sine yetersiz penetrasyonu ve penisiline tolerans sayılabilir (4,6,12,13).

Tolerans, bakterisidal antibiyotiklerin etkisiyle bir bakteri suşunun üremesinin inhibe

*9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde sunulmuştur (3-8 Ekim 1999 Antalya).

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

olması fakat ölmemesini ifade eder (18). Bu durumun klinik önemi toleran suşlara bağlı infeksiyonlarda tedavinin güçleşmesi olasılığdır. İn-vitro olarak antibiyotiğin minimal bakterisidal konsantrasyonunun (MBK) minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) 32 katı veya üstüne çıkması tolerans kriteri olarak belirtilmektedir (17). Tolerans özellikle AGBHS'a bağlı infeksiyonların tedavisinde başarısızlığa yol açabilmektedir.

Bu çalışma, çeşitli klinik örneklerden izole edilen AGBHS suşlarında penisilinin MİK ve MBK düzeylerini saptamak ve bu yolla penisiline tolerans oranını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen beta-hemoliz yapmış Gram pozitif koklardan basitrasin diskile duyarlı zon veren, PYR pozitif bulunan 50 streptokok suşu, BBL Strep Grouping kit (Becton Dickinson, USA) ile AGBHS olarak tanımlanmıştır. Suşların 31'i (% 62) boğaz salgısından, 11'i eksudadan, üçü kandan, bireri deri örneği, balgam, idrar, kulak salgısı, göz salgısından izole edilmiştir.

Tolerans belirlenmesi için tüp dilüsyon yöntemi kullanılmış, duyarlılık testi için NCCLS'in önerilerine uyulmuştur (14). Mueller-Hinton buyyonunda penisilinin 8-0.004 µg/ml'lik sulandırımları hazırlanmıştır. Logaritmik üreme fazındaki bakteri inokulumu hazırlanması için kanlı besiyerine azaltma yöntemi ile yayılan streptokok kolonilerinden 4-5 adet alınıp, 4 ml Todd-Hewitt buyyonuna ekilerek 37°C'de 4-5 saat bekletilmiştir. Streptokok süspansiyonlarının bulanıklığı McFarland 0.5 numaralı standarda göre ayarlanmıştır. Bu bakteri süspansiyonu 10⁶ CFU/ml olacak şekilde diltüe edilmiştir. Bu inokulumdan 1 ml alınıp yine 1 ml antibiyotikli besiyeri içeren tüplere aktarılmıştır. Böylece yaklaşık 5x10⁵ CFU/ml bakteri yoğunluğu elde edilmiştir. Ayrıca antibiyotik konsantrasyonunun iki kat azaldığı dikkate alınmıştır. Her bir tüpe % 3 oranında lize at kanı ilave edilmiştir. Tüpler 37°C'de 16-20 saat bekletildikten sonra gözle görülebilir bulanıklığın olmadığı en düşük penisilin yoğunluğu (üremeyi inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu) MİK olarak belirlenmiştir. Üreme olmayan tüplerden kanlı agarlara ekim yapılarak bakterinin % 99.9'unu öldüren konsantrasyondan MBK değeri bulunmuştur. MBK/MİK (≥ 32) oranından penisilin toleransı belirlenmiştir. Kontrol suşi olarak *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 kullanılmıştır.

BULGULAR

Tümü duyarlı olan suşlar için MİK aralığı $\leq 0.002 - 0.125 \mu\text{g}/\text{ml}$, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 0.008 µg/ml ve 0.015 µg/ml olarak saptanmıştır. AGBHS suşlarına karşı penisilin G'nin MBK/MİK oranları tabloda gösterilmiş, boğaz salgısından izole edilen bir suşun (% 2) penisiline toleran olduğu belirlenmiştir.

Tablo. 50 AGBHS suşi için penisilin G'nin MBK/MİK oranları.

MBK/MİK	1	2	4	8	16	32	>32
Sayı (%)	21 (42)	9 (18)	12 (24)	2 (4)	5 (10)	-	1 (2)

TARTIŞMA

Son yıllarda streptokok türlerinde penisilin toleransının yüksek oranda saptandığına ve bu durumun streptokok infeksiyonlarında penisilin tedavisindeki başarısızlıkla yakından ilgili olduğuna ilişkin bildiriler artmıştır (4,7). *Streptococcus pyogenes* suşlarında penisiline % 16-91 arasında tolerans olduğu bulunmuştur (10). Ancak in-vitro tolerans saptanması her zaman klinik koşullarla paralellik göstermemektedir. Feldman ve ark. (6) akut farenjitli çocukların % 12'sini penisilinle tedavi edemezken, bu hastalardan elde ettikleri hiçbir suşun penisiline toleran olmadığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Chaudhary ve ark. (3) penisilin ile eradike edilemeyen suşları incelemiştir, hiçbirinde tolerans saptamamışlardır.

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 AGBHS suşunda penisilin toleransı tüp dilüsyon yöntemi ile araştırılmış, 1 (% 2)'nde tolerans olduğu belirlenmiştir. Ergüven ve ark. (5) inceledikleri β-hemolitik streptokoklarda penisiline % 8 oranında tolerans olduğunu göstermişlerdir. Gürler ve Erdeniz (9) 70 β-hemolitik streptokokun birinde tolerans saptamışlardır. Babacan ve ark. (1) 40 AGBHS suşunun 3 (% 7.5)'ünde; Gürdoğan ve ark. (8) ise 150 AGBHS suşunun 9 (% 6)'unda penisiline tolerans saptamışlardır. Onağ ve ark. (15)'nin 1998 yılında mikrodilüsyon yöntemiyle yaptıkları çalışma ile Kaloglu ve ark. (11)'nın yaptıkları çalışmada AGBHS'larda penisilin toleransı saptanmamıştır.

Yillardır penisilin streptokok infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olmuştur. Ancak yapılan çeşitli çalışmalarla toleran AGBHS suşlarının varlığı bu suşlarla olan infeksiyonlarda daha dikkatli ve titiz davranışması konusunda uyarı niteliği taşımaktadır. Özellikle kapalı toplumlarda ortaya çıkan epidemilerde ve endokardit, menenjit gibi ciddi infeksiyonlarda, etken organizmaya karşı antibiyotiğin MİK ve MBK değerleri belirlenmeli ve gerekiyorsa alternatif tedavilere gidilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- Babacan KF, Topkaya A, Uzuner A: Beta-hemolitik streptokokların penisilin toleransı, *İnfeksiyon Derg* 11:1 (1997).
- 2- Bisno AL: *Streptococcus pyogenes*, "Mandell GL, Bennett JE; Dolin R (eds): *Principles and Practices of Infectious Diseases*, 4. baskı" kitabında s. 1786, Churchill Livingstone, New York (1995).
- 3- Chaudhary S, Bilinsky SA, Hennessy JL, Soler SM, Wallace SE, Schacht CM, Bisno AL: Penicillin V and rifampin for the treatment of group A streptococcal pharyngitis: a randomized trial of 10 days penicillin vs. 10 days penicillin with rifampin during the final 4 days of therapy, *J Pediatr* 106:481 (1985).
- 4- Dagan R, Ferne M: Association of penicillin-tolerant streptococci with epidemics of streptococcal pharyngitis in closed communities, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8:629 (1989).
- 5- Ergüven S, Çerikçioğlu N, Arıstan S, Berkman E: Boğaz kültürlerinden izole edilen beta-hemolitik streptokoklarda penisilin toleransı, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 20:263 (1990).
- 6- Feldman S, Bisno AL, Lott L, Dodge R, Jackson RE: Efficacy of benzathine penicillin G in group A streptococcal pharyngitis: reevaluation, *J Pediatr* 110:783 (1987).
- 7- Grahn E, Holm SE, Ross K: Penicillin tolerance in β-hemolytic streptococci isolated from patients with tonsillitis, *Scand J Infect Dis* 19:421 (1987).

- 8- Gürdoğan K, Şenol E, Arslan H, Karakuş R, Çağlar K: Grub A beta-hemolitik streptokoklarda penisilin toleransının beta-laktamaz disk yöntemi ile araştırılması ve bazı antibiyotiklere in-vitro direnç durumları, *Mikrobiyol Bult* 33:105 (1999).
- 9- Gürler B, Erdeniz H: Boğaz salgılarından izole edilen beta-hemolitik streptokoklarda penisilin toleransının araştırılması, *ANKEM Derg* 10:38 (1996).
- 10- Handwerger S, Tomasz A: Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria, *Rev Infect Dis* 7:368 (1985).
- 11- Kaloglu G, Tuncer İ, Baysal B: Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta-hemolitik streptokoklarda penisilin toleransı ve eritmisin direncinin araştırılması, *Mikrobiyol Bult* 32:9 (1998).
- 12- Kim KS, Kaplan EL: The association of penicillin tolerance with failure to eradicate group A streptococci from patients with pharyngitis, *J Pediatr* 107:681 (1985).
- 13- Milatovic D, Adam D, Hamilton H, Matermen E: Cefprozil versus penicillin V in treatment of streptococcal tonsillopharyngitis, *Antimicrob Agents Chemother* 37:1620 (1993).
- 14- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, Fourth edition, Approved Standard, NCCLS document M7-A4, Wayne (1997).
- 15- Onağ A, Oksel F, Özbakkaloğlu B, Şengül AZ, Çetinkaya Z: Çocuk hastalarda A grubu beta-hemolitik streptokokların antibiyotik toleransı (ön çalışma), *İnfeksiyon Derg* 12:447 (1998).
- 16- Smith TD, Huskins WC, Kim KS, Kaplan EL: Efficacy of β -lactamase-resistant penicillin and influence of penicillin tolerance in eradicating streptococci from the pharynx after failure of penicillin therapy for group A streptococcal pharyngitis, *J Pediatr* 110:777 (1987).
- 17- Sümerkan B, Gökahmetoğlu S: MIC, MBC testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları, *Flora* 3:91 (1998).
- 18- Törccı K: Bakterilerde antibiyotik toleransı, "Çalangu S, Eraksoy H, Özsüt H (eds): *İnfeksiyon Hastalıkları '92*" kitabında s. 39, Tıp Kitapları Dizisi: 2, Yüce Yayıncılı, İstanbul (1992).