

KISA BİLDİRİ:
**BRUCELLA SUŞLARININ STREPTOMİSİN, RİFAMPİSİN,
SİPROFLOKSASİN VE TETRASİKLİN İÇİN E-TEST DUYARLILIK
SONUÇLARI***

SHORT COMMUNICATION:

E-TEST SUSCEPTIBILITY RESULTS OF *BRUCELLA* STRAINS FOR
STREPTOMYCIN, RIFAMPICIN, CIPROFLOXACIN AND TETRACYCLINE

G. ŞENGÖZ**, **K. KART YAŞAR****, **S. BATI KUTLU****
Y. BİLGİN DURDU**, **R. ÖZDEMİR****, **Ö. NAZLICAN****

ÖZET: *Brucella* türlerinin in vitro olarak birçok antibiyotiğe duyarlı olmalarına karşın, bu bakteriler için duyarlılık testleri henüz tam olarak standardize edilmemiştir ve sınır (break point) değerleri hakkında yeterince bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen toplam 43 *Brucella* suşunun E-test ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin araştırılması amaçlanmıştır. E-test, streptomisin ve rifampisin için suşların tümüne uygulanmış, ancak olanaksızlıklar nedeniyle sadece 27'sinde tetrasiklin ve 17'sinde siprofloksasin bu yöntemle çalışılabilmiştir. MİK aralığı streptomisin için 0.025-1 mg/L, rifampisin için 0.19-1.5 mg/L, tetrasiklin için <0.016-0.032 mg/L ve siprofloksasin için 0.094-0.64 mg/L olarak belirlenmiştir. Bir suşta rifampisin için orta duyarlılık saptanmıştır. Sonuç olarak, halen bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin söz konusu olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Brucella, E-test, antimikrobiyal duyarlılık.

ABSTRACT: Although *Brucella* species are susceptible to many antimicrobial agents in vitro, the susceptibility tests for these bacteria are not well standardized and the break point values are not described yet clearly. The aim of this study was to investigate the minimum inhibitory concentration (MIC) values of 43 *Brucella* strains isolated from blood cultures by E-test. Streptomycin and rifampicin E-tests were performed for all of the strains, however, tetracycline and ciprofloxacin were tested for only 27 and 17 strains, respectively. The MIC interval for streptomycin

*Çalışmanın bir bölümü 23rd World Congress of Pathology and Laboratory Medicine (WASPALM, 22-26 September 2005, İstanbul-Türkiye)'de poster olarak sunulmuştur.

**Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

was 0.025-1 mg/L, for rifampicin 0.19-1.5 mg/L, for tetracycline <0.016-0.032 mg/L, and for ciprofloxacin 0.094-0.64 mg/L. One strain was found intermediately susceptible to rifampicin. In may be concluded that development of resistance is not eligible against antibiotics which are currently used for brucellosis therapy.

Key words: Brucella, E-test, antimicrobial susceptibility.

GİRİŞ

Ülkemiz için yaygın ve önemli bir zoonoz olan bruselloz tedavisinin başarısı, ilaçların kombine olarak kullanılmasına bağlıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ikili, bazı durumlarda üçlü antibiyotik uygulamasını önermektedir¹. *Brucella* türlerinin antibiyotik duyarlılık testleri için henüz tam anlamıyla standardize edilebilmiş yöntemler geliştirilmediğinden, bu bakterilere rutin duyarlılık testleri önerilmemektedir. Mikrodilüsyon, agar dilüsyon ve E-test gibi MİK değerinin saptanabildiği testler, en uygun yöntemler olmakla birlikte sonuçların nasıl yorumlanacağı açık değildir, zira bu bakteriler için direnç veya duyarlılık sınır değerleri tam olarak belirlenmemiştir².

Bu çalışmada, bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin MİK değerlerinin belirlenmesi ve varsa gelişmekte olan direnç durumunun saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 2003-Eylül 2005 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda kan kültürlerinden izole edilen 43 *Brucella* suşu alındı. Otomatize BACTEC (bioMerieux, Fransa) sisteminde üreme saptandığında (3-4.günler) çukulatamsı besiyerine pasajlandı. %5-10 CO₂'li ortamda (fanus içinde) 48-72 saat sonra üreyen şüpheli (küçük, parlak, düzgün kenarlı, hemoliz ve pigment yapmayan) kolonilerden Gram boyama ve biyokimyasal testler yapıldı. Gram negatif kokobasil şeklinde görülen, katalaz pozitif, oksidaz pozitif, McConkey agarda üremeyen, üç şekerli demirli (TSI) besiyerine yerleştirilen kurşun asetat emdirilmiş kağıt şeritte H₂S oluşumu ile siyah renk oluşturan ve Christensen üre agarda üreaz aktivitesi gösteren bakteriler *Brucella spp.* olarak tanımlandı³.

İzolatların MİK değerleri; streptomisin (SM), rifampisin (RIF), tetrasiklin (TC) ve siprofloksasin (CIP) için E-test şeritleri (AB Biodisk, İsveç) kullanılarak araştırıldı. Üretici firmanın önerilerine göre, %5 koyun kanı eklenmiş Mueller Hinton agar besiyerine, McFarland 0.5 bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu yayılarak üzerine E-test şeridi yerleştirildi. %5-10 CO₂'li ortamda, 35°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra değerlendirildi. Sonuçlar, CLSI'nin güç üreyen bakteriler için önerdiği duyarlılık kriterlerine göre yorumlandı⁴.

BULGULAR

Çalışmaya alınan *Brucella* izolatlarının SM, RIF, TC ve CIP için MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. CLSI'nin güç üreyen bakteriler için önerdiği duyarlılık kriterleri dikkate alındığında, izolatların çalışılan antibiyotikler

için verilen duyarlılık sınırları içinde kaldığı görülmüş, ancak bir izolatin rifampisin için MİK değeri orta duyarlı olarak bulunmuştur.

Tablo I: Antibiyotiklerin MİK Aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ Değerleri

Antibiyotik	Suş Sayısı	MİK Aralığı (mg/L)	MİK ₅₀ (mg/L)	MİK ₉₀ (mg/L)	Güç Üreyen Bakteriler İçin Duyarlılık Sınırı
Streptomisin	43	0.025-1	0.5	0.75	*
Rifampisin	43	0.19-1.5	0.75	1	≤1
Tetrasiklin	27	<0.016-0.032	0.023	0.09	≤1
Siprofloksasin	17	0.094-0.64	0.16	0.38	<1

* *Haemophilus* cinsi bakterilerde, 100 suşun MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 2 ve 4 mg/L olarak bulunmuştur⁹.

TARTIŞMA

Brucella türleri, in vitro olarak tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, florokinolonlar, ko-trimoksazol, kloramfenikol, rifampisin ve birçok beta-laktam antibiyotiğe duyarlılık göstermektedir⁶⁻⁸. Bakterinin hücre içi yerleşim göstermesi nedeniyle, tedavide kullanılacak ajanın makrofajların içine geçen ve lizozom içi pH'da aktif bir ajan olması gereklidir.

Brucella bakterileri için antibiyotik duyarlılık testleri henüz standardize değildir; duyarlılık testlerinde E-test gibi MİK değerini belirleyen yöntemler önerilmektedir. E-test yöntemi, diğer MİK belirleyen yöntemlerle karşılaştırıldığında oldukça pratik olmasına karşın maliyeti son derece yüksektir. Çalışmamızda, *Brucella* izolatlarının MİK değerlerinin belirlenmesinde E-test tercih edilmiş, ancak ekonomik olumsuzluklar nedeniyle tetrasiklin ve siprofloksasin için çalışılan suş sayısı sınırlı kalmıştır. Gür ve arkadaşlarının⁹ çalışmasında E-testi, kinolonlar için %82, rifampisin için %91, azitromisin için %95 ve doksisisiklin için %100 oranında diğer yöntemlerle uyumlu bulunmuştur. E-test yöntemi ile yapılan diğer bir çalışmada, *B. melitensis* suşlarının doksisisiklin, siprofloksasin, ko-trimoksazol ve rifampisin için MİK₉₀ değerleri belirlenmiş ve bizim çalışmamıza benzer olarak en yüksek MİK değerleri rifampisin için bulunmuştur¹⁰. Çalışmamızda, bir suşun rifampisin için MİK değeri 1.5 mg/L bulunmuş, CLSI önerilerine göre güç üreyen bakterilerde rifampisin için MİK değerleri ≤1 mg/L ise duyarlı, 1-2 mg/L ise orta duyarlı kabul edildiğinden, bu suş orta duyarlı olarak değerlendirilmiştir¹¹. Ülkemiz gibi *Mycobacterium tuberculosis* için rifampisin direnç oranlarının yüksek sayılabileceği bir bölgede, *Brucella* suşları arasında rifampisin için azalmış duyarlılığın olduğu suşların saptanması dikkat çekicidir.

Tetrasiklinler bruselloz tedavisinde en sık kullanılan ajanlar olduğu halde, çalışmamızda ve ülkemizden yapılmış benzer bir çalışmada en düşük MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerine sahiptir¹¹. Bu durum, bu grup antibiyotiklerin günümüzde sınırlı enfeksiyonların tedavisinde seçici olarak kullanılıyor olmasından kaynaklanabilir.

Yeni florokinolonlar, oral biyoyararlanımlarının iyi olması, yüksek doku konsantrasyonlarına ulaşmaları, hücre içine penetrasyonları ve *Brucella* türlerine in vitro etkileri nedeniyle bruselloz tedavisinde ilgi çeken antimikrobiyaller

arasındadır^{12,13}. İspanya'da yapılan bir çalışmada, klinik örneklerden izole edilen 68 *B. melitensis* suşunda siprofloksasin için MİK değerleri 0.5-1 mg/L olarak bulunmuştur². Ancak florokinolonlarla yapılan monoterapide yüksek oranda relaps ve ayrıca tedavi esnasında direnç gelişimi görülmektedir; bu nedenle bruselloz tedavisinde tek başına kullanılmaları uygun değildir^{14,15}.

Çalışmamızda, halen bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı bu bakterilerin duyarlılık sınırları içinde bulunduğu belirlenmiştir. Ancak, hastalığın kronik gidişi, geç tanımlanması, kullanılan tedavinin uzun süreli ve yan etkili olması tedavi başarısızlıklarına ve komplikasyon gelişimine neden olmaktadır. Dolayısıyla, endemik bölgelerin tespit edilerek hayvan brusellozunun önlenmesi, hızlı tanı ve tarama yöntemlerinin geliştirilmesi ve hasta uyumunun daha iyi olduğu kısa süreli tedavi seçeneklerinin kullanıma girmesi bruselloz mücadelesinde büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Young EJ. *Brucella* species, p: 2389. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
2. Gobernado M, Canton E, Santos M. In vitro activity of ciprofloxacin against *Brucella melitensis* (Letter). Eur J Clin Microbiol 1984; 3: 371.
3. Bilgehan H. Aerop Gram olumsuz küçük basiller, s: 199- 228. Klinik Mikrobiyoloji; Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 2000, 10.baskı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 12th Informational Supplement. NCCLS Document M100-S12, Vol: 22, 2002. CLSI, Wayne, Pa.
5. Wiedemann B, Grimm H. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends, p: 900. In: Lorian V (ed), Antibiotics in Laboratory Medicine. 1996, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
6. Bocsh J, Linares J, Lopez de Goicoechea MJ, Ariza J, Cinsal MC, Martin R. In vitro activity of ciprofloxacin, ceftriaxone and five other antimicrobial agents against 95 strains of *Brucella melitensis*. J Antimicrob Chemother 1986; 17: 459-61.
7. Wendel HW. Modern chemotherapy for brucellosis in humans. Rev Infect Dis 1990; 12: 1060-99.
8. Ariza J, Bosch J, Gudiol F, Linares J, Vildarich PF, Martin R. Relevance of in vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* to relapse rate in human brucellosis. Antimicrob Agents Chemother 1986; 30: 958-60.
9. Gür D, Kocagöz S, Akova M, Ünal S. Comparison of E-test to microdilution for determining in vitro activities of antibiotics against *Brucella melitensis*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2337-9.
10. Bodur H, Balaban N, Aksaray S, et al. Biotypes and antimicrobial susceptibilities of *Brucella* isolates. Scand J Inf Dis 2003; 35: 337-8.
11. Baykam N, Esener H, Ergönül Ö, Eren Ş, Çelikkbaş AK, Dokuzoğuz B. Invitro antimicrobial susceptibility of *Brucella* species. Int J Antimicrob Agents 2004; 23: 405-7.
12. Quadri SMH, Ueno Y. Antibacterial activity of the new fluoroquinolone CI-960 against clinical isolates of *Brucella melitensis* and its comparison with ciprofloxacin, lomefloxacin, fleroxacin, pefloxacin and norfloxacin (Abstract), p: 185. In: Tümbay E, Hilmi S, Anđ Ö (eds), *Brucella* and Brucellosis in Man and Animals. 1991, Turkish Microbiology Society Publication, Vol: 16. İstanbul.
13. Akova M, Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S, Gür D. Quinolones in the treatment of human brucellosis. Comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 1831-4.
14. Al Sibia MB, Halım MA, El-Shaker MM, Khan BA, Quadri SMH. Efficacy of ciprofloxacin for the treatment of *Brucella melitensis* infections. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 150-2.
15. Lang R, Banai M, Lishner M, Rubinstein E. Brucellosis. Int J Antimicrob Agents 1995; 5: 2003-8.