

BİR ASKERİ HASTANEDE FATAL MENENJİT ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN *NEISSERIA MENINGITIDIS* SEROGRUP W-135 SUŞLARININ GENOTİPİK ÖZELLİKLERİ*

GENOTYPIC CHARACTERISTICS OF *NEISSERIA MENINGITIDIS* SEROGROUP W-135 STRAINS ISOLATED AS THE AGENT OF FATAL MENINGITIS IN A MILITARY HOSPITAL

Abdullah KILIÇ¹, Keith A. JOLLEY², Bülent BEŞİRBELLİOĞLU³, Nafiz KOÇAK⁴, Orhan BEDİR¹, Can Polat EYİGÜN³, Ahmet Celal BAŞUSTAOĞLU¹

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (abkili@gata.edu.tr)

² Peter Medawar Binası Patojen Araştırmaları, Oxford Üniversitesi, İngiltere.

³ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.

⁴ Isparta Asker Hastanesi, Isparta.

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the genetic characterization of a total of 6 *Neisseria meningitidis* serogroup W-135 strains isolated from patients with meningitis and carriers in a military hospital in 2007-2008. Suspected colonies on modified Thayer-Martin medium plates were screened for oxidase reactivity and Gram stain. If gram-negative diplococci were present, a biochemical profile by the API NH system was used for species confirmation. Pulse field gel electrophoresis typing of *NheI*-digested DNA was performed by a previously described method. Multi-locus sequence typing (MLST) was performed using the standard primers as listed on the *Neisseria* MLST website. Three distinct sequence types (STs) were identified: ST-11, ST-2754, ST-3751. One of the clinical isolates was identified as the same sequence type with Hajj isolate (ST-11) and the isolate with ST-2754 was the same as the first Turkish clinical strain isolated in 2003. These data demonstrated that along with ST-11 which is a known Hajj isolate, the ST-2754 strain causing meningococcal disease in Turkey beginning from the year 2003, should be carefully monitored.

Key words: *Neisseria meningitidis*, serogroup W-135, fatal meningitis, military recruits, Turkey.

Sayın Editör,

Neisseria meningitidis, kapsüler antijenlerine göre 13 farklı serogruba ayrılmakta ve invaziv meningo-kokkal enfeksiyonlardan en sık serogrup A, B ve C izole edilmektedir¹. Normal bir toplumda sağlıklı kişilerdeki taşıyıcılık oranının %10 civarında olduğu tahmin edilmektedir². Avrupa ülkelerinde serogrup W-135 sık görülmemekle birlikte, 2000-2001 haç mevsimini takip eden yıllarda ortaya çıkan uluslararası sal-

* V. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi'nde (24-28 Haziran 2008, Ankara) sunulmuştur.

gınlardan sonra serogrup W-135'in neden olduğu enfeksiyon sıklığı artmış ve Türk toplumunda da hasta ve taşıyıcılardan bu tipin izole edildiği bildirilmiştir^{3,4}. Bu çalışmanın amacı, menenjitli 3 hastadan ve taşıyıcı 3 kişiden izole edilen toplam 6 *N.meningitidis* serogrup W-135 izolatının genetik ve antijenik özelliklerinin araştırılmasıdır. Bir askeri hastaneye 2007-2008 yıllarında menenjit bulguları ile başvuran 3 asker (yaşları sırasıyla; 22, 23, 26) ile bu askerlerin beraber yaşadığı ve birliğin taranması sonucunda taşıyıcı olarak tespit edilen 3 asker (yaşları sırasıyla; 22, 27, 28) çalışmaya alınmıştır. Bu olguların hepsi askerlik görevine başladıkları tarihte *N.meningitidis* A+C polisakkarit aşısı ile aşılanmış askerlerdir. Menenjitli hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinin Thayer-Martin besiyerinde (Oxoid, İngiltere) yapılan kültürü sonunda gram-negatif, oksidaz pozitif bakteriler izole edilmiş ve tanımlama API NH sistemi (Bio Merieux, Fransa) ile yapılmıştır⁵. Bunun üzerine, aynı birlikte yakın temasta bulunan diğer askerlerden nazofaringeal sürüntü (NS) örneği alınarak *N.meningitidis* taşıyıcılığı araştırılmıştır. İzolatların serogruplandırılması ticari bir lam aglütinasyon yöntemi (Difco, Michigan, ABD) ile; antibiyotik duyarlılık testi ise, sip-rofloksasin, seftriakson, sefotaksim, penisilin, rifampisin ve kloramfenikol için E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile yapılmıştır⁶. İzolatların PFGE (Pulse field gel electrophoresis) ile tiplendirilmesi, daha önce tanımlandığı şekilde *NheI* enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir⁴. "Multi-locus sequence" tiplendirme (MLST), "*Neisseria* MLST" internet sitesinde (<http://pubmlst.org/neisseria/>) bulunan standart primerler kullanılarak uygulanmıştır⁷.

Çalışmamızda, serogrup W-135 klinik izolatlarından 2'sinin ST-11 (1 BOS, 1 NS izolat), 3'ünün ST-2754 (1 BOS, 2 NS izolat) ve 1'inin ST-3751 (BOS izolat) MLST tipi gösterdikleri saptanmıştır. PFGE yöntemiyle 3 farklı pulsotipe (A, B, C) ayrılan izolatların PFGE tiplerinin ST tipi ile uyumlu olduğu gözlenmiş ve 2 adet ST-11 izolatı PFGE-A; 1 adet ST-3751 izolatı PFGE-B ve 3 adet ST-2754 izolatı PFGE-C tipi olarak belirlenmiştir. ST-11 ve ST-2754 suşlarının izole edildiği 2 hasta uygun tedavi verilmesine rağmen kaybedilmiş, diğer hasta ise tedaviye cevap vermiş ve 10 gün sonra taburcu edilmiştir. Taşıyıcı hastalarda da uygun tedavi ile taşıyıcılığın ortadan kalktığı tespit edilmiştir. İzolatların tümünün E-test yöntemi ile sip-rofloksasin, seftriakson, sefotaksim, penisilin, rifampisin ve kloramfenikole in vitro olarak duyarlı oldukları görülmüştür.

Ülkemizden bildirilen meningokokkal enfeksiyonlu olguların çoğunda etken serogrup W-135'tir^{4,8}. *N.meningitidis* serogrup W-135 ST-11 ve ST-2754 tipleri daha önce Türkiye'deki menenjit olguları ve taşıyıcılarından izole edilmiş olmasına rağmen ST-3751 bu çalışmada ilk kez bildirilmektedir. ST-3751 tipi dünyada ise ilk kez 2001 yılında Brezilya'da menenjitli bir hastadan, 2004 yılında da Fransa'da bakteremisi olan bir hastadan izole edilmiştir⁹.

Önceleri sporadik olgulara neden olan *N.meningitidis* serogrup W-135'in, Mart 2000 tarihinde Hac ziyareti esnasında ortaya çıkan ve daha sonra 2002 yılında tekrarlayan salgınlardan sorumlu olduğu anlaşılmıştır¹⁰. 2000 yılındaki salgında, Hac ziyaretinden dönen kişiler ve onlarla yakın teması olan 10 ülkeden 400 kişide *N.meningitidis* W-135 varlığı saptanmıştır¹¹. 2000-2001 yıllarında ortaya çıkan salgınlardan sonra, serogrup W-135 diğer İslam ülkelerinde olduğu gibi Türkiye'de de izole edilmeye başlanmıştır^{4,12}. Çalışmamızda izole edilen serogrup W-135 izolatlarının 3 farklı klonu (ST-11, ST-2754 ve ST-3751) ait oldukları görülmüştür. Hac klonu olarak da bilinen serogrup W-135 ST-11, 2004 yılında 2 menenjitli ve 2 taşıyıcı askerden⁴, 2006 yılında ise 2 taşıyıcı askerden izole edilmiştir⁸. Serogrup W-135 ST-2754 klonu ise Türkiye'de 2003 yılında menenjitli bir hastadan ilk kez izole edildikten sonra 2004 yılında menenjitli bir askerden⁴, 2006 yılında ise menenjitli 2 asker ve 1 asker taşıyıcıdan izole edilmiştir⁸. Serogrup W-135 ST-2754 klonu, 2002 yılında ilk kez Almanya'da menenjitli bir hastadan izole edilmiştir⁹. Yaklaşık olarak 9 milyon Türk işçisi Almanya'da çalışmakta ve hemen hemen her yıl Türkiye'deki akrabalarını ziyaret etmektedirler. Serogrup W-135 ST-2754 klonunun Almanya'dan Türkiye'ye uluslararası transfer yoluyla taşınmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, *N.meningitidis* serogrup W-135 ST-11 hastalandırıcılık özelliği yüksek Hac izolatı olarak bilinen izolat ile birlikte serogrup W-135 ST-2754 izolatının da Türkiye'de menenjit olgularına neden olduğu ve dikkatli bir şekilde izlenmesi gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Wang JF, Caugant DA, Li X, et al. Clonal and antigenic analysis of serogroup A *Neisseria meningitidis* with particular reference to epidemiological features of epidemic meningitis in the People's Republic of China. *Infect Immun* 1992; 60: 5267-82.
2. Tyski S, Grzybowska W, Dulny G, Berthelsen L, Lind I. Phenotypical and genotypical characterization of *Neisseria meningitidis* carrier strains isolated from Polish recruits in 1998. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 350-3.
3. Trotter CL, Chandra M, Cano R, et al. A surveillance network for meningococcal disease in Europe. *FEMS Microbiol Rev* 2007; 31: 27-36.
4. Kiliç A, Urwin R, Li H, Saracli MA, Stratton CW, Tang YW. Clonal spread of serogroup W-135 meningococcal disease in Turkey. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 222-4.
5. Dominguez A, Cardenosa N, Izquierdo C, et al; Working Group on Meningococcal Disease in Catalonia. Prevalence of *Neisseria meningitidis* carriers in the school population of Catalonia, Spain. *Epidemiol Infect* 2001; 127: 425-33.
6. Vazquez JA. Resistance testing of meningococci: the recommendations of the European Monitoring Group on Meningococci. *FEMS Microbiol Rev* 2007; 31: 97-100.
7. Jolley KA, Brehony C, Maiden MC. Molecular typing of meningococci: recommendations for target choice and nomenclature. *FEMS Microbiol Rev* 2007; 31: 89-96.
8. Kiliç A, Jolley KA, Gul HC, Saracli MA, Besirbellioglu B, Basustaoglu A. Genetic and antigenic characterization of *Neisseria meningitidis* strains isolated from Turkish recruits in 2006. *Intern Med* 2008; 47: 1949-50.
9. http://pubmlst.org/perl/mlstdbnet/mlstdbnet.pl?page=query&file=pub-nm_isolates.xml. (Erişim tarihi: Ekim 2008).
10. Dull PM, Abdelwahab J, Sacchi CT, et al. *Neisseria meningitidis* serogroup W-135 carriage among US travelers to the 2001 Hajj. *J Infect Dis* 2005; 191: 33-9.
11. World Health Organization. Meningococcal disease, serogroup W-135 (update). *Wkly Epidemiol Rec* 2001; 76: 213-4.
12. Doganci L, Baysallar M, Saracli MA, Hascelik G, Pahsa A. *Neisseria meningitidis* W-135, Turkey. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 936-7.