

Bir üniversite hastanesi laboratuvarında beyin omurilik sıvısı'nda izole edilen mikroorganizmaların üç yıllık geriye dönük analizi

A three years retrospective analysis of agents isolated from cerebrospinal fluid in a University Hospital

Yücel Duman, Yusuf Yakupoğulları, Mehmet Sait Tekerekoğlu, Nilay Güçlüer, Barış Otlu

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Malatya, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 01.11.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 23.12.2011

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, hastanemizde üç yıllık dönemde beyin omurilik sıvısından (BOS) izole edilen ajanların geriye dönük analizi yapıldı.

Gereç ve yöntem: Eylül 2008 ile Eylül 2011 yılları arasında laboratuvarımıza BOS örneği gönderilmiş olan hastaların sonuçları retrospektif olarak incelendi. Soyutlanan bakteri türleri konvansiyonel yöntemler, biyokimyasal testler ve/veya Phonix (BD, US) ticari identifikasyon sistemleri kullanılarak tanımlandı. Elde edilen türlerin antimikrobiyal duyarlılık testleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda çalışıldı.

Bulgular: Toplam 1408 hastaya ait BOS örneğinden 11 *Streptococcus pneumoniae*, 8 *Klebsiella pneumoniae*, 7 *Pseudomonas aeruginosa*, 7 *Acinetobacter baumannii*, 5 *Escherichia coli*, 4 *Enterococcus spp.*, 2 *Enterobacter spp.*, 25 koagülaz negatif stafilokok, 1 *Morganella morganii*, 2 *Neisseria meningitidis*, 1 *Brucella spp.*, ve 1 *Candida albicans* olmak üzere toplam 74 (%5.2) üreme saptandı. Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde 2 *S.pneumoniae* suşunda penisilin direnci saptanırken; bir *E.coli* ve iki *K.pneumoniae* suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL); üç acinetobacter ve bir pseudomonas suşunda ise karbapenem direnci saptandı.

Sonuç: Farklı bölgelerde ve hasta topluluklarında etken ve antimikrobiyal direnç epidemiyolojisinin belirlenmesi koruyucu ve tedavi edici sağlık politikaların yapılandırılmasında faydalı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Menenjit, beyin omurilik sıvısı, antimikrobiyal duyarlılık

ABSTRACT

Objectives: In this study, we aimed to investigate the agents which were isolated from cerebrospinal fluid (CSF) samples in our hospital for three years, retrospectively.

Materials and methods: The CSF samples, which were sent our laboratory, of the patients those had presumptive diagnosis of meningitis between September 2008 and September 2011 were included into the study. Isolated bacteria were identified with conventional methods, biochemical tests and/or Phonix (BD, US) kits. Antimicrobial susceptibility of the strains were investigated according to Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations.

Results: 11 *Streptococcus pneumoniae*, 8 *Klebsiella pneumoniae*, 7 *Pseudomonas aeruginosa*, 7 *Acinetobacter baumannii*, 5 *Escherichia coli*, 4 *Enterococcus spp.*, 2 *Enterobacter spp.*, 25 Coagulase-negative staphylococcus, 1 *Morganella morganii*, 2 *Neisseria meningitidis*, 1 *Brucella spp.*, and 1 *Candida albicans* were isolated (overall n:74; 5.2%) from total 1408 CSF samples. In susceptibility test, 2 *S.pneumoniae* was found as penicillin-resistant, and one *E.coli* and two *K.pneumoniae* were found as extended spectrum of beta-lactamase producers. Additionally, carbapenem resistance was detected in three *A.baumannii* and one *P.aeruginosa* strains.

Conclusion: Determination of agent profile and antimicrobial resistance pattern from different localizations and patients' groups will help to improve protective and therapeutic health policies.

Key words: Meningitis, cerebrospinal fluid, antimicrobial susceptibility.

Yazışma Adresi /Correspondence: Dr. Yücel Duman

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Malatya, Türkiye Email: yucel.duman@inonu.edu.tr
Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2012, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

GİRİŞ

Menenjit 1805 yılında, Cenevre'deki bir epidemi sırasında "serobrospinal ateş" olarak tanımlanmış olan, çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu, beyni saran zarların akut inflamasyonudur.^{1,2} Yaş, coğrafi farklılıklar, mevsim, toplumun belirli etkenlere karşı aşılı olup olmaması, genetik yapı, sosyoekonomik koşullar gibi risk faktörlerine bağlı olarak değişmekle birlikte Dünyada ve ülkemizde en sık en sık tespit edilen etkenleri; *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* tip b ve *Haemophilus influenzae*'dir.³⁻⁶

Menenjitin erken ve etkin olarak tedavi edilmesi hastalığın klinik sonuçları üzerinde olumlu etki gösterir. Tedavi edilmeyen hastalarda kafa içi basınç artışına bağlı gelişen komplikasyonlar, sepsis ve çoklu organ yetmezlikleri nedeniyle yüksek mortalite veya kalıcı nörolojik fonksiyon kayıpları görülür. Uygun tedaviye rağmen menenjit olgularında ölüm hızı %5-35 olarak bildirilmiştir.¹ Ülkemiz istatistiklerine göre, menenjitler, tanımlanmış enfeksiyon nedeni ölümünün 2. en sık nedeni olup 2008 yılında yaklaşık 130 hasta bu enfeksiyondan dolayı kaybedilmiştir.⁷ Erken tanı ve tedavinin son derece önemli olduğu bu hastalıkta menenjit bulguları ile gelen olgular hızla değerlendirilmeli ve hemen uygun antimikrobiyal tedavi başlanmalıdır. Bu sayede ölüm oranını azaltmak ve komplikasyonsuz iyileşme oranını artırmak mümkün olacaktır.⁸

BOS'tan izole edilen mikroorganizmalar ve bunların antimikrobiyal direnç özellikleri toplumlarda farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca, son yıllarda uygulamaya giren yeni aşılarda birlikte etken profilinde değişim olabilmektedir. Bu çalışmada, hastanemizde son 3 yılda Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen BOS örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar

Haziran 2008 ile Eylül 2011 yılları arasında Turgut Özal Tıp Merkezi'nin değişik kliniklerinden menenjit ön tanısıyla laboratuvarımıza BOS örneği gönderilmiş olan hastaların sonuçları, defter kayıtlarından ve hastane bilgi sisteminden retrospektif olarak incelendi. Laboratuvara farklı zamanlarda

gönderilen BOS örnekleri aynı isimli hastadan ise tek örnek olarak kabul edildi.

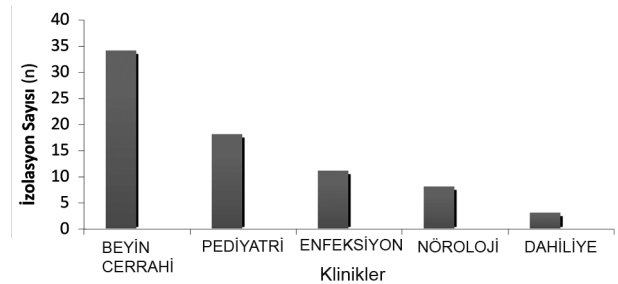
Kültür ve antibiyotik duyarlılık testleri

Laboratuvara gönderilen tüm BOS örnekleri ilk olarak 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant kısım alınarak Gram boyama yapılarak mikroskopik olarak incelendi. Örnekten kanlı agar, Eozin Metylen Blue (EMB) ve çikolatamsı besiyeri tek koloni ekimi yapıldı. Plaklar 37°C'de 18-48 saat, çikolatamsı besiyeri ise %5 CO₂'li etüvde 72 saat inkübe edildi. Üreme olan örneklerden mikroorganizmaların identifikasyonu konvansiyonel yöntemlerle; koloni yapısı ve üreme özellikleri, biyokimyasal testler ile yapıldı. Gerekli olduğunda Phonix (BD, US) ticari identifikasyon sistemleri kullanıldı.

İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agarda Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) kriterlerine göre yapıldı ve sonuçlar CLSI standartlarına göre değerlendirildi.⁹

BULGULAR

Yaklaşık 3 yıllık sürede 1408 BOS örneği kültür işlemine alındı. Toplam 74 hastanın BOS kültüründe üreme saptandı. Üreme olan hastaların 39'si erkek, 35'i bayandı. Ortalama yaş 39.77 ± 27.108 dir. Yirmi beş hastada koagülaz negatif stafilokok (KNS), 11 hastada *Streptococcus pneumoniae*, 8 hastada *Klebsiella pneumoniae*, 7 hastada *Pseudomonas aeruginosa*, 7 hastada *Acinetobacter baumannii*, 5 hastada *Escherichia coli*, 4 hastada *Enterococcus spp.*, 2 hastada *Enterobacter spp.*, 1 hastada *Morganella morganii*, 2 hastada *Neisseria meningitidis*, 1 hastada *Brucella spp.*, ve 1 hastada *Candida albicans* üredi.



Grafik 1. Menenjit vakalarının kliniklere göre dağılımı

Tanımlanan menenjit hastalarının tedavi görmekte olduğu kliniklere göre dağılımı Grafik 1'de gösterilmiştir. Suşların 34'ü (%45.94) Beyin Cerrahi, 18'i (%24.32) Pediatri, 11'i (%14.86) Enfeksiyon, 8'i (%10.81) Nöroloji ve 3'ü (%4.05) Dahiliye

servisinde yatan hastalardan izole edildi. Yine suşların ikisi 2 yaş altında, 8'i 2-5 yaş grubunda, 8'i 6-15 yaş aralığındaki hastalardan izole edildi. İzle edilen suşların antibiyotik duyarlılıkları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç oranları

Mikroorganizma Türleri	Antibiyotik Direnci* (n/%)									
	Va	Pen	AMP	CAZ	MEM	CN	CIP	SXT	C	Çoklu Direnç**
Gram pozitifler										
KNS (n:25)	0	23 (92)				7 (28)	10 (40)	13 (52)		16 (64)
<i>S.pneumoniae</i> (n:11)	0	2 (18.2)	0	0	0		0		0	
<i>Enterococcus spp</i> (n:4)	0	2 (50)	2 (50)			1 (25)	1 (25)		0	
Gram negatifler										
<i>N.meningitidis</i> (n:2)		0	0	0	0		0	0	0	
<i>E.coli</i> (n:5)			2 (40)	1 (20)	0	1 (20)	1 (20)	2 (40)		1 (20)
<i>K.pneumoniae</i> (n:8)			8 (100)	2 (25)	0	2 (25)	2 (25)	3 (37.5)		2 (25)
<i>E.cloaca</i> (n:2)			2 (100)	0	0	0	0	0		
<i>M.morganii</i> (n:1)			0	0	0	0	0	0		
<i>A.baumannii</i> (n:7)				7 (100)	3 (42.8)	5 (71.4)	5 (71.4)			3 (42.83)
<i>P.aeruginosa</i> (n:7)				2 (28.5)	1 (14.2)	0	3 (42.8)			1 (14.2)

* Va:vankomisin; P:penisilin; AMP:ampisilin; CAZ:seftazidim; MEM:meropenem; CN:gentamisin; CIP:siprofloksasin; SXT:ko-trimoksazol; C:kloramfenikol. ** Çoklu direnç: stafilkoklar için metisilin direnci; Gram negatif enterik basiller için: ESBL

TARTIŞMA

Günümüzde menenjitler, geçen yüz yıla oranla antimikrobiyal tedavi ve aşılarla ulaşılan gelişmelere rağmen küresel halk sağlığı açısından morbidite ve mortalitesi yüksek, önemli komplikasyonlara yol açabilen ciddi bir tehdit olmaya devam etmektedir.^{10,11} Bakteriyel menenjitlerin gelişmiş ülkelerde görülme sıklığı 100.000'de 5 vaka, gelişmekte olan ülkelerde ise bundan 10 kat fazladır.¹² Çeşitli bakteriler menenjite neden olabilir ancak yeni doğan dönemi hariç menenjit vakalarının %80'den fazlasına *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tip b ve *Neisseria meningitidis* tarafından oluşturulmaktadır.^{2,10,13}

Gelişmiş ülkelerde *S.pneumoniae*, *H.influenzae* tip b'ye karşı spesifik aşuların rutin aşı programına girmesinden sonra bu mikroorganizmalardan kaynaklı menenjit vakalarında azalma görülmüştür.^{13,14} Amerika'da yapılan çalışmalarda *H.influenzae* tip b'nin insidansı 100000'de 2.9'dan 0.2'lere gerile-

diği gösterildi.¹⁵ Çalışmamızda ise üç yıllık sürede hiçbir menenjit vakasında *H.influenzae* izole edilememiş, sadece iki vakada ise *N.meningitidis* izole edilmiştir. İki *N.meningitidis* suşunun izole edilip, *H.influenzae*'nin izole edilememesi; örneklerin alınmasında veya laboratuvara ulaştırılmasında meydana gelen gecikmeler, *Neisseria* ve *Haemophilus* cinsi bakterilerin hassas ve zor üremelerine bağlı olarak yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasından kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Streptococcus pneumoniae, toplum kaynaklı bakteriyel menenjitlerin en sık etiyolojik ajanıdır. Gelişmekte olan ülkelerde, invaziv pnömokokal hastalıklar (menenjit dahil), 5 yaş altı çocuklarda yılda tahminen 0,7 ila 1,0 milyon ölüm ile, morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir. Dünya Sağlık Örgütü, ulusal immünizasyon programlarına konjuge pnömokok aşısının eklenmesini tavsiye etmiş, ancak Dünya Sağlık Örgütüne üye 193 ülkeden sadece 26'sının ulusal immünizasyon

programlarına girebilmiştir.^{16,17} Aşılama çalışmalarını ulusal immünizasyon programına alan ülkelerde insidansı azalma eğilimindedir.¹⁶ Konjuge pnömokok polisakkarit aşısı ülkemizde 2008 yılında rutin aşı uygulamasına girmiştir.¹⁸ Sunulan çalışmada üç yıllık sürede 11 (%15) *S.pneumoniae* suşu izole edilmiştir. Ülkemizde yapılan çeşitli yayınlarda *S.pneumoniae* penisilin direnci %3 ile %38.^{7,19-21} arasında bildirilmiştir. Sunulan çalışmamızda 2 (%18.2) suşa penisilin direnci rastlanmıştır.

Amerika'da yapılan bir çalışmada; 27 yıllık değerlendirmede 493 bakteriyel menenjit vakasının %40'ı hastane kökenli olarak bildirilmiştir.²² Hastane kaynaklı menenjitlerde gram negatif bakteriler ön plana çıkmaktadır.¹³ Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda %17.1 ile %68.4^{23,24} arasında gram negatif bakteriler menenjit etkeni olarak izole edilmiştir. En sık olarak; *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* hastane kaynaklı menenjit etkeni olarak saptanmıştır.²⁴⁻²⁶ Çalışmamızda üreme belirlenen örneklerde, ilk sırada gram negatif enterik bakteriler görülmekte olup toplam 30 (%41.1) gram negatif bakteri izole edilmiştir. Gram negatif bakterilerin, izolatlar içinde sayısının fazla olması hastane kaynaklı enfeksiyonların toplum kaynaklı enfeksiyonlara oranla çok fazla arttığını göstermektedir. Çalışmada izole edilen enterik bakterilerden 1 *E.coli* ve 2 *K.pneumoniae* suşunda GSBL pozitif saptanmıştır. Üç *Acinetobacter* ve bir *Pseudomonas* suşu ise karbapenem dirençli olarak bulunmuştur. *P.aeruginosae* suşlarına karşı en etkili antimikrobiyal olarak aminoglikozidler saptanmıştır.

Yapılan çeşitli çalışmalarda %14.9 ile %64 arasında BOS kültürlerinden KNS izole edilmekte, metisilin dirençli KNS oranı ise hastaneden hastaneye %30 ile %64 arasında değişmektedir.^{23,27,28} Sunulan çalışmada 25 (%19.7) KNS suşu izole edilmiş, suşların 16'sı (%64) metisilin dirençli bulunmuştur.

Sonuç olarak koruyucu ve önleyici sağlık hizmetlerinin yaygınlaşması ile BOS'tan izole edilen mikroorganizma profili değişmektedir. İnvaziv işlemlerin artması, hastanede yatış süresinin uzaması, serebrospinal sıvı şant uygulamaları gibi nedenler ile hastane enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar BOS'tan daha sık izole edilmektedir. Dolayısıyla her hastanenin kendi antibiyotik kullanım politikalarının geliştirilmesi, hastanede izole edilen etken profili ve antimikrobiyal direnç oranlarının

periyodik olarak belirlenmesi, ampirik tedavinin düzenlenmesinde yol gösterici olması yanında morbidite ve mortalite oranlarının azalacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Ross KL: Bacterial meningitis, "Ross KL (ed): Central Nervous System Infectious Disease and Therapy, Marcel Dekker Inc., New York .1997: 99-126.
2. Tunkel AR, Scheld WM. Acute meningitis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth ed. New York: Churchill Livingstone, 2005:1083-126.
3. Silva WA, Pinheiro AM, Coutinho LG, Marinho LAC, Lima LFA. Epidemiological profile of acute bacterial meningitis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2010; 43(4): 455-7.
4. Özdemir H, Tapısız A, Çiftçi E, İnce E, Doğru Ü. Çocuklarda akut bakteriyel menenjit. Çocuk Enf Derg 2010;4(1):9-14.
5. Segreti J, Harris AA. Acute bacterial meningitis. Infect Dis Clin North Am 1996; 10(6): 797-809.
6. Traore Y, Tameklo TA, Njanpop-Lafourcade BM et al. Incidence, seasonality, age distribution and mortality of pneumococcal meningitis in Burkina Faso and Togo. Clin Infect Dis 2009;48(2): 181-9.
7. Pehlivanoglu F, Yaşar KK, Şengöz G. Beyin omurilik sıvısından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2011;25(1):1-5.
8. Heyderman RS, Lambert HP, O'Sullivan I et al: Early management of suspected bacterial meningitis and meningococcal septicaemia in adults. J Infect 2003;46(2):75-7.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute.2008.Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. eighteenth informational supplement ; CLSI, Wayne, PA
10. World Health Organization: Initiative for vaccine research. Bacterial Infections. 2009 [http://www.who.int/vaccine_research/diseases/soa_bacterial/en/index2.html]. WHO, Geneva.
11. World Health Organization: Control of epidemic meningococcal disease. 1999. Who, Geneva.
12. Schut ES, Gans J, van de Beek D. Community-acquired bacterial meningitis in adults. Review. Pract Neurol 2008; 8(1): 8-23.
13. Harrison LH. Prospects for vaccine prevention of meningococcal infection. Clin Microbiol Rev. 2006; 19(1): 142-64.
14. Saez-Llorens X, McCracken GH Jr. Bacterial meningitis in children. Lancet 2003; 361(9375): 2139-48.
15. Neuman HB, Wald ER. Bacterial meningitis in childhood at the Children's Hospital of Pittsburgh: 1988-1998. Clin Pediatr (Phila) 2001; 40(11): 595-600.
16. Brouwer MC, Tunkel AR, Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev 2010;23(3): 467-92.
17. Centers for Disease Control and Prevention. 2008. Progress in introduction of pneumococcal conjugate vaccine-world-

- wide, 2000-2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 57(42): 1148-51.
18. Esel D, Doğanay M, Alp E, Sumerkan B. Prospective evaluation of blood cultures in a Turkish university hospital: epidemiology, microbiology and patient outcome. Clin Microbiol Infect 2003; 9(10): 1038-44.
 19. Yurdakul AS, Calisir HC, Atasever M, Ordulu L, Ogretensoy M. Resistance to penicillin among the *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. Eur Respir J 2001; 18(2): 436.
 20. Zarakolu P, Soyletir G, Gur D, Unal S. Antimicrobial resistance patterns of respiratory pathogens: a local report from Turkey. Clin Microbiol Infect 2003; 9(12): 1257-8.
 21. Fırat M, Ersoy Y, Esel D, Bayraktar M, Caylan R, Durmaz R. Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of pneumococci strains isolated from meningitis patients. Mikrobiyol Bult 2006;40(3):169-77.
 22. Durand ML, Calderwood SB, Weber DJ et al: Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes, N Engl J Med. 1993;328(1):21-8.
 23. Sümer Z, Bakıcı Z, Özüm Ü Menenjit Ön Tanılı Hastaların BOS Örneklerinin Bir Yıllık Bakteriyolojik İnceleme Sonuçlarının Değerlendirilmesi. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2000; 22(3): 127-30.
 24. Bulut C, Tekiner A, Yetkin M.A, Hatipoğlu C A, Bayar M.A, Tulek N. Beyin Cerrahi Girişimleri Sonrası Gelişen Hastane Kokenli Menenjitlerin Değerlendirilmesi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2005; 9(4): 218-24.
 25. Palabıyıkoglu I, Tekeli E, Cokca F et al. Nosocomial meningitis in a university hospital between 1993 and 2002. Hosp Infect 2006;62(1):94-7.
 26. Saba R, İnan D, Günseren F, Özçelik FT, Mamıkoğlu L: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde nozokomiyal menenjitler. Hastane İnfeksiyon Derg 2000;4(1):47-50.
 27. Sarguna P, Lakshmi V. Ventriculoperitoneal shunt infections. Ind J Med Microb 2006;24(1):52-4.
 28. Güçlü AÜ, Kılıç A, Küçükkaaslan A ve ark. Beyin omurilik sıvılarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Gülhane Tıp Dergisi 2005;47(2): 204-8.