

TÜRKDERM

Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi
Yıl:2001 Cilt:35 Sayı:4

Akne Hastalarında Propionibacterium Acnes ve Eritromisin Direnci: Üç Yıllık Prospektif Analiz

Çağrı Ergin*, Şeniz Ergin**, Emel Yavrucuoğlu***, Canan Kaya****

* Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları, Isparta

** (1998 -1999 yılları) Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı,

(2000 yılı) özel şifa Polikliniği, Isparta

*** Devlet Hastanesi Dermatoloji Kliniği, Isparta

**** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta

Özet

Son yıllarda akne vulgarisin antibiyotikler ile tedavisindeki başarısızlıklarının önemli nedenlerinden birinin de antibiyotiğe dirençli Propionibacterium acnes olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde 1998 yılından itibaren eritromisin içeren preparatlar akne tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada akne vulgaris lezyonlarından izole edilen Propionibacterium acnes'lerde eritromisin direncinin üç yıllık değişimi incelenmiştir. Akne vulgaris hastalarından 1998 ile 2000 yılları arasında her yıl için yıl içinde ardarda izole edilen 25 Propionibacterium acnes (toplam 75) izolasyonu yapılmıştır. Örneklerin toplanmasında deterjan fırçalama tekniği, kültür için konvansiyonel Propionibacterium acnes ortamları kullanılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi agar dilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. İzolatların 1998, 1999 ve 2000 yıllarında MIC90 değeri 0.06, 0.125 ve 0.25 mg/ml'dir. Ülkemizde de akne vulgaris hastalarında antibiyotik kullanımında bir protokol olması gerektiğini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Akne, propionibacterium, eritromisin, direnç

Ergin Ç, Ergin Ş, Yavrucuoğlu E, Kaya C. Akne hastalarında Propionibacterium acnes ve eritromisin direnci: Üç yıllık prospektif analiz. TÜRKDERM 2001; 35: 308-310

Summary

Background and design: In recent years, resistant Propionibacterium acnes is reported as one of the important factors for the therapeutic failure in treatment of acne vulgaris with antimicrobial agents. The preparations containing erythromycin are commercially available in our country since 1998. In this study the three year distribution of erythromycin resistance in Propionibacterium acnes isolated from acne patients is presented.

Materials and Methods: Of the consecutively 25 Propionibacterium acnes isolates per year (totally 75) were obtained from acne vulgaris patients between 1998 and 2000. Detergent scrub technique for sample collection and conventional methods for Propionibacterium acnes culture were done. Antimicrobial susceptibility testing were performed by agar dilution method.

Results: The MIC90 values for the isolates in 1998, 1999 and 2000 are 0.06, 0.125 and 0.25 mg/ml, respectively.

Conclusion: We suggest that a protocol is necessary for treatment of acne vulgaris with antimicrobial agents.

Key Words: Acne, propionibacterium, erythromycin, resistance

Ergin Ç, Ergin Ş, Yavrucuoğlu E, Kaya C. Propionibacterium acnes and erythromycin resistance in acne patients. Prospective analysis for three years. TÜRKDERM 2001; 35: 308-310

Pilosebace ünitenin kronik inflamatuvar bir hastalığı olan akne vulgaris, bu ünitlerin büyük ve sayıca daha yoğun olduğu yüz, göğüs ve sırt bölgesinde sıklıkla 15-25 yaşlar arasında görülür. Akne vulgaris etyopatogenezinde rol alan dört komponent; sebum üretiminde artış, anormal folliküler keratinizasyon, Propionibacterium acnes kolonizasyonunda artma ve inflamasyondur. P. acnes'in metabolik aktivitesi sonucu oluşan serbest yağ asitlerinin, papül ve püstül oluşumunda temel faktörler olduğu kabul edilmektedir^{1,2}.

Akne vulgarisin antibiyotikler ile tedavisinde amaç; hastalık patogenezinde etken olan Propionibacterium acnes sayısının azaltılarak, bakteriye bağlı inflamatuvar cevabın engellenmesidir¹⁻⁵. Makrolid antibiyotiklerin akne tedavisinde kullanılmaya başlanması ile birlikte değişik ülkelerden eritromisin dirençli propionibakteriler bildirilmiştir⁵. Akne tedavisindeki başarısızlıklarda, eritromisine dirençli P.acnes'in sorumlu olabileceği öne sürülmektedir⁴⁻⁶. Epidemiyolojik çalışmalar, direncin, ülkeler arasında farklılıklar gösterebileceğini ve bunun ülke içindeki antibiyotik kullanım politikalarına bağlı olabileceğini bildirmektedir⁷.

Ülkemizde eritromisin 1998 yılında benzoil peroksit ile kombine, 2000 yılında da saf topikal formülasyon şeklinde kullanıma sunulmuştur. Bu çalışma, toplumumuzda akne hastalarında P.acnes suşlarındaki eritromisin direncinin değişimini araştırmak amacı ile yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya; 1998, 1999 ve 2000 yıllarının 1 Eylül tarihlerinden itibaren araştırmacıların çalıştıkları sağlık kurumlarının dermatoloji polikliniklerine akne şikayeti ile başvurarak hafif ve orta dereceli akne vulgaris tanısı alan hastalar alındı. Son bir ay içinde herhangi bir nedenle antibiyotik kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Her yıla ait olarak akne lezyonlarından ardarda izole edilen 25 adet P.acnes suşu o yıla ait yıllık çalışma izolatlarını oluşturdu. Her üç yıl için 25 adet izolat sayısına 3 aylık süre içinde ulaşıldı.

Deriden propionibakterilerin toplanması amacıyla Williamson ve Kligman tarafından tanımlanan deterjanla fırçalama tekniği uygulandı⁸. Toplama ve taşıma solüsyonu olarak %0.1 Tween 80 içeren 0.075 M fosfatla tamponlanmış fizyolojik tuzlu su (PBS) kullanıldı⁹. En fazla 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılan örnekler Brewer'in tiyoglukonat besiyerine ekilerek 36.5oC'de 5 gün inkübe edildi. Tiyoglukonat besiyeri içinde göz ile üremenin görüldüğü bölgeden alınan bakteriler, %3 (w/v) glukoz ve 2 mg/ml furazolidon içeren beyin-kalp infüzyon agara yaygın ekim ile pasajlandı.

Anaerobik ortamda 36.5oC'da 7 günlük inkübasyon dönemi sonucu üreyen koloniler tiplendirildi. Propionibacterium acnes; koloni ve Gram boyama morfolojisi, aerotolerans testi, katalaz varlığı ve indol yapımı ile tanımlandı¹⁰.

Minimal inhibitör konsantrasyon (MIK) değeri beyin-kalp infüzyon agar besiyerinde agar dilüsyon yöntemi ile araştırıldı. Antibiyotik direnci araştırılacak olan P.acnes beyin-kalp infüzyon sıvı besiyerinde süspansiyon edildi. Seri dilüsyon halinde eritromisin içeren plaklar beyin-kalp infüzyon agar besiyeri kullanılarak 0.03-1024 mg/ml sınırları içinde hazırlandı. Süspansiyon edilmiş olan P.acnes bakterileri ekim öncesinde inokulumun damlasında 104 koloni oluşturan bakteri yoğunluğunda seyreltildi ve otomatik kalibre pipet ile ekildi. Plaklar 36.5oC'de 5 gün süresince anaerobik ortamda inkübe edildi. Her suş için üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MIK değeri olarak kabul edildi^{4,11}.

Bulgular

Son üç yılın son dört ayı içinde ardarda izole edilen 25 P.acnes suşunun yıllara göre eritromisine karşı MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Yıllar arasında MIC₅₀ değerinde değişme görülmezken MIC₉₀ değerleri yükselmiştir.

Tartışma

Akne vulgaris patogeneğinde, androjen sekresyonunun etkisi ile puberte döneminde pilosebace ünitede sebum üretiminde artış olur. Bunu takip eden folliküler keratin tıkaç oluşumu sonucu meydana gelen uygun anaerobik ortamda P.acnes kolonizasyonu artar. Bu bakteride bulunan lipazlar, sebum trigliseritlerini hem komedojenik hem de proinflamatuar rol oynayan serbest yağ asitlerine dönüştürür. P.acnes, nötrofil göçüne neden olan kemotaktik faktörler de salgılar. Nötrofillerden salınan lizozomal enzimler, follikül duvarını hasara uğratarak keratin ve lipidleri içeren proinflamatuar medyatörlerin dermise yayılmasına yol açar. Bu işlev sonucunda inflamatuar papül ve püstüller oluşur¹⁻³.

Aknenin şiddeti, P.acnes ve antijenik metabolitlerine karşı oluşan hipersensitivite reaksiyonu ile de doğru orantılıdır. Bu nedenle P.acnes sayısının azaltılması aknenin güncel tedavisi protokolleri arasında yer alır¹⁻⁵. Tedavi amacıyla en sık seçilen antibiyotikler arasında eritromisin, klindamisin ve tetrasiklinler bulunur.

Makrolid antibiyotiklerden olan eritromisin 1960'lı yıllardan beri topikal formülasyon olarak çeşitli ülkelerde akne tedavisinde kullanılmaktadır, ancak uzun süreli kullanım ile ortaya çıkan direnç sonucu akne tedavisinde başarısızlıkla karşılaşmıştır. Bu nedenle P.acnes'de eritromisine karşı direnç oranları son 20 yıldır takip edilmektedir. Direnç sorununa çözüm olması amacı ile saf topikal eritromisin formülasyonu benzoil peroksit ile kombine edilmiştir. Bu kombinasyonun eritromisine karşı olan direnci kısmen azalttığı bildirilmiştir. Ancak ülkemizde durum farklı gelişmiş, 1998 yılında önce topikal eritromisin ile benzoil peroksit jel kombinasyonu, 2000 yılında ise topikal eritromisin formülasyonu kullanıma sunulmuştur.

Makrolidlere direnç gelişiminde en önemli sorun, propionibakterilerin deri florasından eradike edilememesidir^{5,12}. Böylece uzun süreli kullanıma bağlı antibiyotiğe dirençli suşlar ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda topikal tedavi sırasında oluşabilecek subinhibitör eritromisin konsantrasyonu bakteriyel ekspresyona neden olarak dirençli

suşların ortaya çıkmasına yol açmaktadır¹³. Bir diğer olumsuz etki ise yapısal farklılıklara rağmen antibiyotiklerin moleküler bağlanma bölgelerindeki yakınlık sonucu çapraz direncin ortaya çıkmasıdır. Bu direnç özellikle eritromisin, linkozamid ve streptogramin B (MLS direnci) arasında görülmektedir. Bu antibiyotiklerden linkozamidler de akne tedavisinde kullanılan antibiyotiklerdendir. Ross JI ve ark. *P.acnes*'lerde topikal antibiyotiklere karşı henüz aydınlatılmamış direnç mekanizmaları bulunabileceğini bildirmektedir⁷. Direncin bugün için kabul edilen en büyük nedeni 23S ve 16S rRNA'yı kodlayan gendeki mutasyon sonucu antibiyotiğin hedef ribozom proteinini modifiye etmesidir^{14,15}.

Bölgemizde henüz topikal eritromisin kullanımı öncesinde veya yeni başlamışken yapılan çalışmalarda toplumumuzda eritromisin dirençli *P.acnes*'lerin bulunabileceğini belirtilmiştir^{16,17}. Sunulan çalışmada ise son üç yıl içinde artan MIC₉₀ değerleri olduğu görülmektedir. Zaman içinde direncin artması eritromisin kullanımında bir artış olduğunu düşündürmektedir.

Deri, bakteriler arası direncin kolaylıkla aktarılabileceği bir floraya sahiptir¹⁸. Sistemik antibiyoterapide kullanılan ilaçlara karşı deri florasında meydana gelen direnç sistemik enfeksiyonların tedavisinde önemli zorluklar getirecektir¹⁹. *Propionibacteriumlar* özellikle kardiyovasküler ve santral sinir sisteminin şant enfeksiyonlarında tek başına veya aerop patojenler ile birlikte hayatı tehdit eden ciddi klinik tablolara neden olmaktadır²⁰. Avrupa ülkelerinde yapılan *P.acnes*'te eritromisin direnci ile ilgili çalışmalarda, kombine formülasyonlar ile varolan direncin düşürülmekte olduğu öne sürülmektedir^{3,12,21}. Ülkemizde henüz yok denilecek kadar az olan eritromisin direnci, topikal eritromisinin kombine formülasyonlarının kullanımı ile de ortaya çıkabilecektir²². Bu durumun uzun yıllar eritromisin direnci gelişen toplumlarda gözlenmediğini, ancak ülkemizde direncin artmasında gizli, fakat önemli bir etken olabileceğini düşünmekteyiz. Eritromisine karşı *P.acnes*'te gelişen direncin akne tedavisinde klinik başarısızlıklara yol açması kaçınılmazdır. Bu nedenle ülkemizde de çeşitli ülkelerde önemle üzerinde durulan akne tedavisinde antibiyotiklerin kullanımının belirli protokollere bağlanmasını önermekteyiz^{5,23}.

Tablo I: 1998-2000 yılları arasında *P.acnes* izole edilen her yıla ait 25 hastanın demografik özellikleri ve bu suşlarda eritromisin direnci.

	1998	1999	2000
Cins (E: Erkek; K: Kadın)	8 E; 17 K	10 E; 15 K	7 E; 18 K
Yaş (Ort ± SD)	17.1 ± 2.6	18.0 ± 3.1	17.4 ± 2.8
Hastalardan izolasyon oranı (%)	38.4	42.9	36.7
MIC ₅₀ (mg/ml)	£0,03	£0,03	£0,03
MIC ₉₀ (mg/ml)	0,06	0,125	0,25

Kaynaklar

1. Odom RB, James WD, Berger TG: Acne. Andrews' Diseases of the Skin'de. 9'uncu Baskı. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 2000; 284-306.
2. Cunliffe W.J, Simpson N.B: Disorders of the sebaceous glands. Textbook of Dermatology'de. Ed. Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM. 6.inci Baskı. Blackwell Science, 1998; 1927-1984.
3. Webster GF: Acne and Rosacea. Med Clin North Am, 1998; 82: 1145-1154.
4. Eady EA, Cove JH, Blake J, Holland KT, Cunliffe WJ: Recalcitrant acne vulgaris. Clinical, biochemical and microbiological investigation of patients not responding to antibiotic treatment. Br J Dermatol 1988; 118: 415-423.
5. Eady EA: Bacterial resistance in acne. Dermatology 1998; 196: 59-66.
6. Eady EA, Cove JH, Holland KT, Cunliffe WJ: Erythromycin resistant propionibacteria in antibiotic treated acne patients: association with therapeutic failure. Br J Dermatol 1989; 121: 51-57.
7. Ross JI, Snelling AM, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ, Leyden JJ, Collingnon P, Dreno B, Reynaud A, Fluhr J, Oshima S: Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic-resistant Propionibacterium acnes isolated from acne patients attending dermatology clinics in Europe, the USA, Japan and Australia. Br J Dermatol 2001; 144: 339-346.
8. Williamson P, Kligman AM: A new method for the quantitative investigation of cutaneous propionibacteria. J Invest Dermatol 1968; 45: 498-503.
9. Larson EL, McGinley KJ, Foglia AR, Talbot GH, Leyden JJ: Composition and antimicrobial resistance of skin flora in hospitalized and healthy adults. J Clin Microbiol 1986; 23: 604-608.
10. Howard BJ, Keiser JF: Anaerobic bacteria. Clinical and Pathogenic Microbiology'de Ed. Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF, Tilton RC, Comerford JC. 2'inci Baskı St.Louis. Mosby, 1994: 383-424.
11. Baron EJ, Peterson MD, Finegold SM: Methods for testing antimicrobial effectiveness. p.168-188. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 1994, 9th ed. Mosby, St Louis.
12. Eady EA, Bojar RA, Jones CE, Cove JH, Holland KT, Cunliffe WJ: The effects of acne treatment with a combination of benzoyl peroxide and erythromycin on skin carriage of erythromycin-resistant propionibacteria. Br J Dermatol 1996; 134: 107-113.
13. Weisblum B.: Inducible erythromycin resistance in bacteria. Br Med Bull 1984; 40: 47-53.
14. Eady EA, Ross JI, Cove JH, Holland KT, Cunliffe WJ: Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in cutaneous propionibacteria: Definition of phenotypes. J Antimicrob Chemother 1989; 23: 493-502.
15. Tunçkanat F: Stafilokok ve streptokoklarda makrolid-linkozmaid-streptogramin B (MLS) direnci. Mikrobiyol Bult 1999; 33: 347-355.
16. Ergin ç, Ergin ş, Yaylı G, Baysal V: Akne lezyonlarından izole edilen Propionibacterium acnes suşlarında eritromisin direnci. Mikrobiyol Bult 1999; 33: 297-302.
17. Durmaz B, Gürel M: Adolesan çağında akne vulgaris ve propionibacterium'ların rolü. XXII.Türk Mikrobiyoloji Kongresi Serbest Bildiriler Kitabı, Sivas, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No.10 1986: 49-55.
18. Parry EJ, Griffiths CM: Bacteria and antimicrobial agents in the treatment of acne. Int J Dermatol 1996; 35: 249-251.

19. Bologna SL, Edelson RL: Spread of antibiotic-resistant bacteria from acne patients to person contacts - a problem beyond skin? *Lancet* 1997; 350: 972-973.
20. Mamal Torun M, Bahar H: Propionibacterium cinsi bakteriler tarafından oluşturulan infeksiyonlar. *Infeks Derg* 1999; 13: 537-542.
21. Eady EA, Farmery MR, Ross JI, Cove JH, Cunliffe WJ: Effects of benzoyl peroxide and erythromycin alone and in combination against antibiotic-sensitive and -resistant skin bacteria from acne patients. *Br J Dermatol* 1994; 31: 331-336.
22. Ergin Ő, Ergin , Baysal V, Yaylı G: An acne study focused on erythromycin: Benzoyl peroxide alone and with topical erythromycin against Propionibacterium acnes in acne vulgaris. *Gazi Med J* 2001; 12: 59-62.
23. Eady EA, Jones CE, Tipper JL, Cove JH, Cunliffe WJ, Layton AM: Antibiotic resistant propionibacteria in acne: Need for policies to modify antibiotic usage. *BMJ* 1993; 306: 555-556.