

STAFİLOKOK SUŞLARINDA SLAYM FAKTÖR POZİTİFLİĞİ, METİSİLİN VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Kadriye KART YAŞAR, Yeşim AYBAR BİLİR, Filiz PEHLİVANOĞLU, Gönül ŞENGÖZ

S.B. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden Haziran 2009-Mart 2011 arasında izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocoklarda (KNS) metisilin direnci, "slime" (slaym) oluşumu ve antibiyotik direnci araştırılmıştır.

Çalışmaya 139 *S.aureus*, 94 KNS suşu alınmıştır. Toplam 233 suşun 182'si (% 78.1) yara ve apse, 43'ü (% 18.5) kan, altısı (% 2.6) trakeal aspirat örneğinden, ikisi (% 0.9) göz sürüntüsünden izole edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle izolasyon ve identifikasyonu yapılan suşların antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle; slaym yapımı ise Kongo kırmızılı agar yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. *S.aureus* suşlarının 106'sı (% 76) metisiline duyarlı, 33'ü (% 24) metisiline dirençli; KNS suşlarının 64'ü (% 68) metisiline duyarlı, 30'u (% 32) metisiline dirençli bulunmuştur. *S.aureus* suşlarında slaym pozitifliği % 39, KNS suşlarında % 30 oranında saptanmıştır. Hiçbir suşta glikopeptid direnci saptanmamıştır. Slaym oluşturan stafilocoklar arasında antibiyotik direnci daha yüksek bulunmamış, aksine slaym oluşturmamayanlarda metisilin ve antibiyotik direnç oranları daha yüksek saptanmıştır.

Sonuç olarak, hastanemizde izole edilen stafilocok suşlarındaki slaym yapımı, *S.aureus* ve KNS suşlarında benzer bulunmuştur. Ancak bu çalışmada, slaym oluşturmamayan suşlarda metisilin direnci ve paralel olarak antibiyotik direnç oranları daha yüksek saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: koagülaz negatif stafilocoklar, metisilin direnci, MRSA, slaym, slime, *Staphylococcus aureus*

SUMMARY

The Relations between Slime Factor Positivity, Methicillin and Antibiotic Resistance in Staphylococci

Methicillin and antibiotic resistance, and slime production of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci (CNS) isolated from various clinical specimens were investigated.

During the period of June 2009 and March 2011, 139 *S.aureus* and 94 CNS strains isolated from various clinical specimens were included in the present study. Out of the 233 isolates 182 (78.1 %) strains were obtained from abscess and wound samples, 43 (18.5 %) from blood, six (2.6 %) from tracheal aspiration and two (0.9 %) from eye swap samples. Isolation and identification procedures were performed by conventional methods. Antibiotic susceptibilities were searched by disk diffusion method while slime production was searched by Congo red agar method. Among 139 *S.aureus* isolates, 106 (76 %) were found susceptible to methicillin and 33 resistant (24 %); 64 (68 %) CNS strains were found susceptible to methicillin and 30 resistant (32 %). Slime production was detected in 39 % of *S.aureus* and in 30 % of CNS strains. All isolates were susceptible to glycopeptides. Antibiotic and methicillin resistance were found higher among slime nonproducers in contrast to the expectation.

These results indicated that, slime production ratio among *S.aureus* and CNS were similar in our hospital. However, methicillin and antimicrobial resistance were significantly higher in slime negative strains in this study.

Keywords: coagulase-negative staphylococci, methicillin resistance, MRSA, slime, *Staphylococcus aureus*

İletişim adresi: Kadriye Kart Yaşar. S.B. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Aksaray, İSTANBUL

Tel: (0212) 529 44 00/2115, GSM: (0532) 466 36 09

e-posta: kadriyeyasar@hasekihastanesi.gov.tr

Alındığı tarih: 18.04.2011, yayına kabul: 24.05.2011

GİRİŞ

Stafilokok infeksiyonları, yara infeksiyonundan yabancı cisim infeksiyonuna, pnömoneiden osteomyelitte, endokarditten sepsise uzanan geniş bir dağılıma sahiptir. Özellikle metisiline dirençli stafilokoklar, tedavisi güç ve mortalitesi yüksek infeksiyonların önemli etkenlerindedir.

Stafilokoklar, adheransı kolaylaştıran "slime" (slaym, biyofilm) oluşturabilme yeteneğine sahiptirler Slaym, ekzopolisakkarit, teikoik asit ve proteinden oluşan bir yapıdır⁽⁴⁾. Slaym oluşturan mikroorganizmaların protez, endotrakeal tüp, kateter gibi biyomateryalleri kaplayan biyofilmler oluşturması kolaylaşır. Slaym bakteriyi fagositozdan korur, nötrofillerin etkisini önler ve lenfosit aktivitesini azaltır⁽⁹⁾. Slaym üreten suşlar, antibakteriyel tedaviye, slaym oluşturmaya göre dirençli olabilirler⁽²⁰⁾.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilokok (KNS) suşlarında metisilin direnci, slaym oluşturma ve antibiyotiklere direnç durumu araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Haziran 2009-Mart 2011 arasında, ayaktan ya da yatarak izlenen hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 139 *Staphylococcus aureus*, 94 KNS suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların izolasyon ve identifikasyonu konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. Bakteriler % 5 koyun kanlı agar ve çukulatamsı agara ekilerek 35°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Koloni morfolojisi, Gram boyaması ve mikroskopik görünümüne göre stafilokok öngörülen suşların varlığı araştırılmıştır. Koagülaz pozitif suşlar *S.aureus* olarak adlandırılmıştır.

Metisiline direnç sefoksitin diskiyle (30 µg, Oxoid), diğer antibiyotiklere direnç disk difüzyon yöntemi ile (Oxoid) Mueller Hinton agar (Oxoid) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre belirlenmiştir⁽⁶⁾.

Stafilokok suşlarının slaym yapma özellikleri Kongo kırmızılı agar yöntemi kullanılarak

araştırılmıştır. Kongo kırmızılı besiyeri litrede 10 g agar, 50 g sükröz, 37 g beyin-kalp infüzyon buyyonu ve 0.8 g Kongo kırmızısı içecek şekilde hazırlanmıştır. Besiyerlerine tek koloni düşürme şeklinde yapılan ekimler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Koyu kırmızı-siyah koloni oluşturan suşlar slaym pozitif, pembe renkli koloni oluşturanlar ise slaym negatif olarak değerlendirilmiştir⁽¹²⁾.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 233 suştan 139'u *S.aureus*, 94'ü KNS olarak identifiye edilmiştir. Suşların 182'si (% 78.1) yara ve apse, 43'ü (% 18.5) kan, sekizi diğer örneklerinden izole edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Stafilokok suşlarının materyal dağılımı [n (%)].

Materyal	S.aureus n:139	KNS n:94	Toplam n:233
Yara-apse	123 (52.8)	59 (25.3)	182 (78.1)
Kan	9 (3.9)	34 (14.6)	43 (18.5)
TAK	6 (2.6)	0	6 (2.6)
Göz sürüntüsü	1 (0.4)	1 (0.4)	2 (0.9)
Toplam	139 (59.7)	94 (40.3)	233

TAK: Trakeal aspirat kültürü, oranlar 233 suşa göre alınmıştır.

S.aureus suşlarının 106'sı (% 76) metisiline duyarlı (MSSA), 33'ü (% 24) metisiline dirençli (MRSA); KNS suşlarının 64'ü (% 68) metisiline duyarlı, 30'u (% 32) metisiline dirençli bulunmuştur. *S.aureus* suşlarında slaym pozitifliği % 39 iken, KNS suşlarında % 30 olarak saptanmıştır. Kandan izole edilen 43 suşun yedisi (% 16.3) slaym pozitif bulunmuştur. Slaym oluşturan ve oluşturmaya dirençli stafilokoklar arasında, metisilin direnci açısından anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (Tablo 2).

Araştırılan suşlarda glikopeptidlere azalmış duyarlılık ya da direnç saptanmamıştır. Slaym pozitif ve negatif suşların antibiyotik direnci karşılaştırıldığında, pozitif olanlarda beklenen direnç yüksekliği görülmemiştir (Tablo 3). Aksine metisilin direnci ve genel antibiyotik direnci, slaym negatif stafilokoklarda daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 2. Stafilokok suşlarında slaym oluşturma ve metisilin direncinin karşılaştırılması [n (%)].

Slaym oluşturma	S.aureus, n:139			KNS, n:94			Toplam n:233		
	MS	MR	MS+MR	MS	MR	MS+MR	MS	MR	MS+MR
Pozitif	46	8	54 (39)	24	4	28 (30)	70	12	82 (35)
Negatif	60	25	85 (61)	40	26	66 (70)	100	51	151 (65)
Toplam	106 (76)	33 (24)	139	64 (68)	30 (32)	94	170 (73)	63 (27)	233

MS: metisilin duyarlı, MR: metisilin dirençli

Tablo 3. Slaym pozitif ve negatif suşlarda antibiyotik direnç yüzdeleri [n (%)].

Antibiyotikler	Slaym pozitif, n:82	Slaym negatif, n:151
Vankomisin	0	0
Teikoplanin	0	0
Siprofloksasin	11 (13)	56 (37)
Trimetoprim-sulfametoksazol	0	17 (11)
Gentamisin	5 (6)	35 (23)
Tigesiklin	2 (2)	2 (1)
Eritromisin	30 (37)	76 (50)
Klaritromisin	9 (11)	36 (29)
Sefoksitin	12 (15)	51 (34)

TARTIŞMA

Stafilokoklarda metisilin direncinin artışı ve diğer bazı antibiyotiklere direnci de beraberinde getirmesi, bu infeksiyonların tedavisini ve kontrolünü zorlaştırmaktadır. Hastane kaynaklı infeksiyonların en sık görülen ve en önemli etkeni olan MRSA suşları, son yıllarda toplum kökenli infeksiyonlarda da karşımıza çıkmaktadır.

Çok merkezli bir çalışmada Avrupa'daki bazı hastanelerde 1999-2002 yılları arasındaki MRSA infeksiyonu prevalansı % 40'ın üzerinde bildirilirken, 2006 yılı itibari ile bu oran % 60'lara ulaşmıştır^(18,19). Ülkemizde ise MRSA oranı % 9-40 arasında bildirilmektedir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızı oluşturan 233 stafilokok suşunda saptadığımız metisilin direnci % 27 olmuştur. KNS suşlarında metisilin direnci genellikle *S.aureus* suşlarına nazaran daha yüksek saptansa da, çalışmamızdaki 139 *S.aureus* suşu içinde metisiline direnç oranı KNS suşlarındaki orana yakındır. Ülkemizde bazı merkezlerde MRSA oranları genel oranlardan daha yüksek bulunabilmektedir. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde 2000-2004 yılları arasındaki sürveyans

sonuçlarına göre stafilokok suşlarındaki MRSA oranı % 70'tir⁽¹⁾. Bununla beraber, Arabacı ve Oldacay⁽²⁾'in 2008 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada da izole edilen 84 *S.aureus* suşundaki metisilin direnci % 41.6 olarak bildirilmiştir. Bu durum ülkemizde de son yıllarda MRSA oranlarının Karadenizli⁽¹⁵⁾'nin bildirdiği değerleri aşmış olabileceğini düşündürmektedir.

Stafilokoklar; kateter, suni kalp kapakları, vb. yabancı cisimlerin bulunduğu hastalarda sıklıkla kronik seyirli infeksiyonlara yol açarlar. Bakteriler, yabancı cisim üzerine yapışarak, virülans faktörü olduğu bilinen biyofilm tabakasını üretmeye ve bu tabakanın içinde vücudun savunma sisteminden gizlenmeye başlar. Sonuçta biyofilm içindeki bakteriler, antibiyotiklerin etkisinden korunurlar. Çalışmamızdaki stafilokoklar içinde toplamda slaym oluşturma oranı % 35.2 iken, bu oran *S.aureus* suşlarında % 38.9, KNS suşlarında ise % 29.8 olup *S.aureus* suşlarında slaym oluşturma daha yüksek saptanmıştır. Çelik ve ark.⁽¹⁰⁾ da, 118 stafilokok suşunda slaym oluşturma oranlarını KNS için % 65 ve *S.aureus* için % 73 olarak bildirmiş, fakat aralarında anlamlı fark olmadığını belirtmiştir. Arabacı ve Oldacay⁽²⁾ da, KNS ve *S.aureus* suşlarında % 40 oranında slaym yapımı tespit etmişlerdir. Bozkurt ve ark.⁽⁷⁾, üç farklı metodla slaym yapımını araştırdıkları çalışmalarında, 205 KNS suşunun % 50'sinde en azından bir metodla, % 40'ında ise üç metodla birden slaym yapımını göstermişlerdir. Yine ülkemizden yapılan başka bir çalışmada ise, KNS ve *S.aureus* suşlarında slaym yapımı sırasıyla % 60 ve % 84 olarak saptanmış, kan kültürlerinden izole edilen KNS'lerdeki slaym oranı ise % 39 olarak bildirilmiştir⁽⁶⁾. Çalışmamızdaki 43 stafilokok suşu kan kültürlerinden izole edilen suşlardı ve slaym

oranı % 16.3 olarak bulunmuştur. Çalışmamızı oluşturan stafilocokların % 66'sı *S.aureus* suşlarıydı ve büyük çoğunluğu, diyabetik ayak yarası veya apse materyallerinden izole edilmişlerdi. Çalışma sonuçlarımızla uyumlu benzer bu çalışmalar yanında, yine ülkemizden bildirilen bazı çalışmalarda özellikle KNS'lerdeki slaym oluşturma oranı oldukça yüksek bulunmuştur^(9,20). Bunun nedeni, bu çalışmalardaki izolatların dirençli nozokomiyal izolatlardan kaynaklanabileceği gibi, klinik izolat olup olmamalarına veya hastaneler arası farklılıklara da bağlı olabilir.

Slaym oluşturan bakterilerde antibiyotik duyarlılığının azaldığı ve tedavi başarısızlığı ile slaym yapımı arasında doğrudan bir ilişki olduğuna ait bilgiler yıllardır bilinmektedir^(5,11,17). Ülkemizden yapılan çalışmalarda, slaym oluşturan suşların diğer antibiyotiklere direnç oranlarının, slaym oluşturmamayanlardan anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir^(3,4,7,13,20). Çalışmamızda ise, slaym yapımı olan suşlarda, slaym üretmeyen suşlardan daha yüksek antibiyotik direnci saptanmamıştır. Aksine, slaym oluşturmamayan suşlarda metisilin direnci ve diğer antibiyotiklere direnç daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde, Karadenizli ve ark.⁽¹⁶⁾ da, slaym üreten ve üretmeyen KNS suşlarında fusidik asit duyarlılığı açısından farklılık olmadığını belirlemişlerdir. Jones ve ark.⁽¹⁴⁾'nin çalışmasında ise, slaym yapan ve yapmayan stafilocoklarda metisilin direncinin farklılık göstermediği gösterilmiştir. Bu durum, izole edilen suşların gerçek patojen veya kontaminan olup olmadıklarıyla ilgili olabilir. Çalışmamızdaki suşların neredeyse tümü, hastalık etkeni olarak saptanan izolatlardı.

Sonuç olarak hastanemizden izole edilen stafilocok suşlarındaki slaym yapım oranı, literatürle uyumludur. Bu oranın *S.aureus* suşlarında daha yüksek bulunmasının, slaym yapımıyla patojenite arasındaki ilişkiye bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu çalışmada slaym oluşumu ile antibiyotik direnci arasında paralel bir ilişki gözlenmemiş, aksine slaym negatif izolatlar daha dirençli bulunmuştur. Slaym oluşturmamayan izolatlarda metisilin direnci de daha yüksek bulunduğundan, yüksek antibiyotik direncinin buna bağlı olabileceği düşünülmüş-

tür. Bu konuda, daha fazla sayıda suş sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Akoğlu H, Zarakolu P, Altun B, Ünal S. Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2005 yıllarında izole edilen hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının epidemiyolojik ve moleküler özellikleri, *Mikrobiyol Bült* 2010;44(3):343-55. PMID:21063984
2. Arabacı FE, Oldacay M. Sağlık çalışanlarının burun kültürlerinden izole edilen stafilocoklarda metisilin direnci ve slime yapımı pozitifliği, *İnfeksiyon Derg* 2008;22(3):165-8.
3. Aral M, Keleş E, Okur E, Alp HC, Yılmaz M. The pathogenicity and antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from the maxillary and ethmoid sinuses, *Rhinology* 2004;42(3):131-6. PMID:15521665
4. Ay S, Tekerekoğlu MS, Bayraktar M, Abut L, Duman B. Klinik örneklerden izole edilen koagülaz negatif stafilocok türlerinde "slime" oluşumu ve antibakteriyellere duyarlılığı, *ANKEM Derg* 2002;16(1):40-3.
5. Boussard P, Pithsy A, Devleeschouwer MJ. Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagetype of coagulase-negative staphylococci, *J Clin Pharm Ther* 1993;18(4):271-4. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2710.1993.tb00587.x> PMID:8227235
6. Boynuvara B, Gulhan T, Gurturk K, Alisarli M, Ogun E. Evolution of slime production by coagulase negative staphylococci and enterotoxigenic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various human clinical specimens, *J Med Microbiol* 2007;56(10):1296-300. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47140-0> PMID:17893164
7. Bozkurt H, Kurtoğlu MG, Bayram Y, Keşli R, Berktaş M. Correlation of slime production investigated via three different methods in coagulase-negative staphylococci with crystal violet reaction and antimicrobial resistance, *J Int Med Res* 2009;37(1):121-8. PMID:19215681
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement, CLSI M100-S20, p.60-74, Clinical and

- Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2010).
9. Çelik İ, Cihangiroğlu M, Çabalak M, Sevim E, Akbulut A, Kılıç SS. Hastane kaynaklı koagülaz negatif stafilokoklarda fosfomisin duyarlılığı ile metisilin direnci ve slaym yapımı ilişkisi, *ANKEM Derg* 2005;19(3):139-43.
 10. Çelik İ, Cihangiroğlu M, Sevim E, Çabalak M, Akbulut A. Sağlık çalışanlarının burunlarından izole edilen koagülaz pozitif ve negatif stafilokoklarda metisilin direnci ve slime pozitifliği, *Fırat Tıp Derg* 2005;10(3):123-6.
 11. Diaz-Mitoma F, Harding GKM, Hoban DJ, Roberts RS, Low DE. Clinical significance of a test for slime production in ventriculoperitoneal shunt infections caused by coagulase-negative staphylococci, *J Infect Dis* 1987;156(4):555-60.
<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/156.4.555>
 12. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci, *J Clin Pathol* 1989;42(8):872-4.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.42.8.872>
PMid:2475530 PMCID:1142068
 13. Gürdoğan K, Dizbay M, Aktaş F. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokoklarda slime üretiminin dört farklı yöntemle araştırılması ve slime yapımı ile antimikrobiyal duyarlılık ilişkisi, *Flora* 1999;4(3):195-8.
 14. Jones JW, Scott RJD, Morgan J, Pether JVS. A study of coagulase negative staphylococci with reference to slime production, adherence, antibiotic resistance patterns and clinical significance, *J Hosp Infect* 1992;22(3):217-27.
[http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701\(92\)90046-O](http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701(92)90046-O)
 15. Karadenizli A. Hastanelerde metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol politikaları ve MRSA, *Hastane İnfeksiyon Derg* 2002;6(1):12-8.
 16. Karadenizli A, Meric M, Gulenc S, Akhan S, Gundes S, Willke A. The relation between slime production and resistance to fucidic acid of *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures, *Microbiol Infect* 2001;7(Suppl 1):80.
 17. Kotilainen P, Nikoskelainen J, Huovinen P. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococcal blood isolates with special reference to adherent, slime-producing *Staphylococcus epidermidis* strains, *Scand J Infect Dis* 1991; 23(3):325-32.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365549109024318>
PMid:1882198
 18. Shrestha B, Pokhrel BM, Mohapatra TM. Phenotypic characterization of nosocomial isolates of *Staphylococcus aureus* with reference to MRSA, *J Infect Dev Ctries* 2009;3(7):554-60.
<http://dx.doi.org/10.3855/jidc.474>
 19. Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002, *Emerg Infect Dis* 2004;10(9): 1627-34.
PMid:15498166
 20. Yıldırım N, Sezen İY, Ardiç N, İleri Ç. Farklı klinik örneklerden izole edilen koagülaz-negatif stafilokokların slime faktör üretimlerinin ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2008;22(4):209-14.