

STAFİLOKOKLARDA MUPIROSİN DİRENCİ

Feriha ÖZKAN, Selma YEGANE, Alper TÜNGER,
Mehmet Ali ÖZİNEL, Ayhan TOKBAŞ

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 185 *Staphylococcus aureus* ve 70 koagülaz negatif stafilocok kökeninin mupirosine duyarlılıkları modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır. İncelenen 255 kökenden 241'i (%94.5) ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$ minimal inhibitör konsantrasyonu düzeyi ile mupirosine duyarlı bulunmuştur. Disk difüzyon testinde de aynı kökenlerin 18 mm ve üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Sonuçta disk difüzyon testi için 18 mm'lik zon çapı sınır değerinin duyarlılığın araştırılmasında uygun olduğu görüşüne varılmıştır.

SUMMARY

Mupirocin resistance in staphylococci.

The mupirocin sensitivity of 185 *Staphylococcus aureus* and 70 coagulase negative *Staphylococcus* strains isolated from various clinical specimens were investigated by modified Kirby-Bauer disk diffusion and agar dilution methods. 241 of 255 strains (94.5%) were found to be sensitive to mupirocin with minimal inhibitor concentrations equal to or lower than $4 \mu\text{g/ml}$. These 241 sensitive strains had inhibition zones equal to or greater than 18 mm by disk diffusion method. It is concluded that 18 mm is a suitable inhibition zone diameter to evaluate the mupirocin resistance by disk diffusion test.

GİRİŞ

Mupirosin (psödomonik asit A), *Pseudomonas fluorescens* tarafından üretilen ve metisiline dirençliler de dahil olmak üzere stafilocoklar, streptokoklar, bazı Gram pozitif çomaklar ile *Neisseria gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae* gibi sınırlı sayıda Gram negatif bakterilere etkili bir antibiyotiktir (4,9,12). Proteinlere yüksek oranda bağlanması ve sonuçta antibakteriyel aktivitesinin serumda belirgin olarak azalması ve hızla metabolize olması nedeniyle klinik kullanımı sadece lokal preparatları ile sınırlıdır (12,14).

Stafilocoklarda mupirosin duyarlılık testlerinin yorumlanması konusunda farklı görüşler öne sürülmektedir. Genellikle minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) 4 $\mu\text{g/ml}$ ve daha küçük olan kökenler duyarlı, 8-256 $\mu\text{g/ml}$ olan kökenler ise düşük düzeyde dirençli olarak kabul edilirler. MİK $\geq 512 \mu\text{g/ml}$ olan yüksek düzey mupirosin direncinin tedavi başarısızlıklarına yol açtığı bilinmektedir (3,5,9,12,14).

Sunulan çalışmada *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocok (KNS) kökenlerinin mupirosin duyarlılıkları agar dilüsyon yöntemi ile araştırılmış ve beş μg 'lık diskler kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile duyarlılığın saptanabileceği sınır zon çapı değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 185'i koagülaz pozitif ve 70'i koagülaz negatif olmak üzere, toplam 255 stafilokok kökeni çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin agar difüzyon yöntemi ile duyarlılıkları SmithKline Beecham Pharmaceuticals'dan sağlanan mupirosin kullanılarak 0.015-1025 µg/ml'lik seri sulandırımalarla araştırılmış (10) ve MİK değerleri ≤ 4 µg/ml olan kökenler duyarlı, 8-256 µg/ml olanlar düşük düzeyde dirençli ve ≥ 512 µg/ml olanlar da yüksek düzeyde dirençli olarak kabul edilmiştir. Ayrıca aynı kökenlerin NCCLS kriterleri (11) kullanılarak bir µg/ml'lik oksasilin diskleri (Oxoid) ile metisilin dirençleri araştırılmış ve beş µg/ml'lik mupirosin diskleri (Oxoid) ile verdikleri zon çapları belirlenmiştir.

BULGULAR

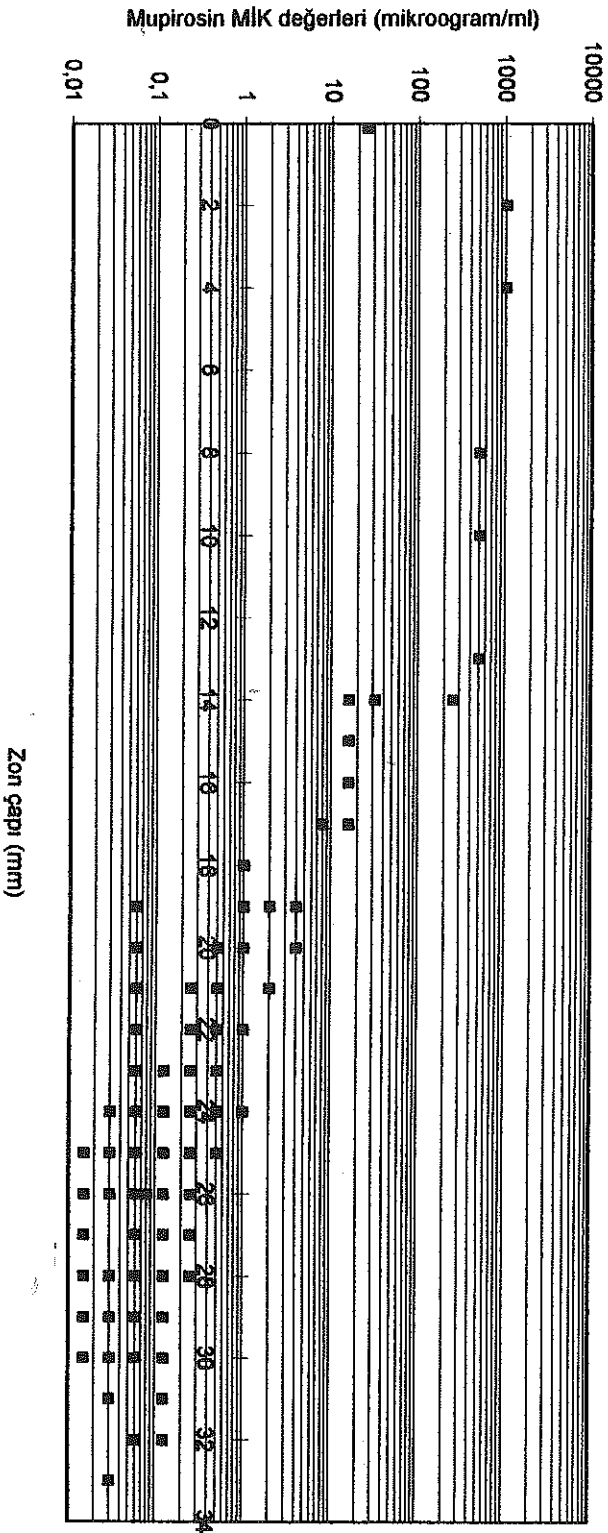
İncelenen 255 kökenden 241'inin MİK değerleri ≤ 4 µg/ml, dokuzunun 8-256 µg/ml, beşinin ≥ 512 µg/ml ve sonuçta yüksek düzey mupirosin direnci toplam % 2 olarak saptanmıştır. Araştırmaya alınan 185 *S.aureus* ve 70 KNS kökeninin metisilin duyarlılıkları ve mupirosin MİK değerleri tablo 1'de; toplam 255 bakterinin mupirosin MİK'leri ve beş µg/ml'lik mupirosin diski ile alınan disk difüzyon testi zon çapı sonuçları tablo 2'de gösterilmiştir. Şekil 1'de de 255 kökenin zon çapı-MİK scattergram'ı görülmektedir.

Tablo 1. *S.aureus* ve KNS kökenlerinin metisilin duyarlılıkları ve mupirosin için MİK değerleri.

| | S.aureus (n:185) | | | KNS (n:70) | | |
|------------|-----------------------------|-------|------|-----------------------------|-------|------|
| | Mupirosin MİK (µg/ml) ≤4 | 8-256 | ≥512 | Mupirosin MİK (µg/ml) ≤4 | 8-256 | ≥512 |
| Metisiline | | | | | | |
| Dirençli | 49 | 3 | 1 | 37 | 2 | 2 |
| Duyarlı | 130 | 1 | 1 | 25 | 3 | 1 |

Tablo 2. 255 stafilokok kökeni için mupirosinin MİK'ları ile 5 µg'lik disk ile alınan zon çaplarının karşılaştırılması.

| Zon çapı (mm) | MİK (µg/ml) | | |
|---------------|-------------|-------|------|
| | ≤4 | 8-256 | ≥512 |
| ≤ 14 | 0 | 3 | 5 |
| 15-17 | 0 | 6 | 0 |
| ≥ 18 | 241 | 0 | 0 |
| Toplam | 241 | 9 | 5 |



Şekil 1. İncelenen 255 stafilyokok kökeninin mupirosin MİK-zon çapı ilişkisi.

TARTIŞMA

Mupirosin deri infeksiyonlarına neden olan birçok mikroorganizmaya etkinliği ve düşük direnç oranları nedeniyle ideal bir topikal antibiyotiktir. Güçlü antistafilokoksik etkinliği nedeni ile koagülaz negatif ve pozitif stafilocoksik deri infeksiyonları ve hastane çalışanları ile hastaların burnundan metisiline dirençli stafilocok kolonizasyonunun eradikasyonu başlıca klinik kullanım alanlarıdır (1,8,12,14).

Mupirosin, izolösil-t RNA bağlantısını sağlayan izolösil-t RNA sentetaz enzimine bağlanarak bakteriyel RNA ve protein sentezini inhibe eder (4,6,12). Sadece mupirosinde var olan bu etki mekanizması nedeniyle, diğer antimikrobialer ile bu antibiyotik arasında çapraz direnç söz konusu değildir. Stafilocoklarda mupirosin direnci, genellikle ilacın uzun süre kullanımına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Düşük düzeyde direncin izolösil-t RNA bağlanma bölgesine ilacın girişindeki değişikliklere; yüksek düzeyde direncin ise modifiye izolösil-t RNA sentetazı kodlayan aktarılabılır bir plazmide bağlı olduğu kabul edilmektedir (6,13). Bu nedenle yüksek düzeyde direncin enterokoklar ya da *Pseudomonas* türleri gibi diğer bakterilerden de konjugasyon yolu ile kazanılabileceği ileri sürülmektedir (4,6,7,12,13).

Stafilokoklarda düşük ve yüksek düzey olmak üzere iki farklı mupirosin direnci tanımlanmıştır (6,12). Düşük düzeyde direncin klinik önemi tam açık değildir. Çünkü topikal uygulama ile 20000 µg/ml ve üzerindeki antibiyotik düzeylerine ulaşılmaktadır (12). Ancak, yüksek düzeyde direncin tedavi başarısızlıklarına yol açtığı bilinmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda uzun süren mupirosin tedavisi ile hastalarda dirençli stafilocok kökenlerinin ortaya çıktığı gösterilmiş ve bu nedenle direnç gelişiminin engellenmesi amacıyla ilaç uygulamasının sürekli değil, kesintili olması gerektiği önerilmiştir (2,9,12).

Stafilokoklarda mupirosin duyarlılık testleri henüz tam standardize edilmemiştir. Birçok çalışmada 4 µg/ml'den daha düşük olan MİK değerleri duyarlılık, 8-256 µg/ml düşük düzeyde direnç ve 512 µg/ml ve üzeri de yüksek düzeyde direnç belirtisi olarak kabul edilmektedir (12). Sunulan bu çalışmada aynı sınır değerler esas alındığında 185 *S.aureus* kökeninden 179'u mupirosine duyarlı, dördü düşük düzeyde, ikisi de yüksek düzeyde dirençli olarak belirlenmiştir. Yetmiş KNS kökeninden 62'si duyarlı, beşi düşük, üçü de yüksek düzeyde dirençli bulunmuştur. Aynı kökenlerin disk difüzyon yöntemi ile 5 µg'lık diskler kullanılarak yapılan duyarlılık testlerinde, düşük düzeyde direnç saptanan toplam dokuz bakterinin tümünün 18 mm'den, yüksek düzeyde dirençli beş bakterinin ise 14 mm'den daha dar zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. Duyarlı olarak saptanan 241 kökenin tümünde zon çapları 18 mm ve daha geniş olarak ölçülmüştür. Scattergram'da 18 mm'lik zon çapı ile duyarlılık sınırı arasındaki ilişki görülmektedir. Sonuç olarak, klinik ve laboratuvar araştırmalarında genellikle kabul edilen yukarıdaki MİK değerleri doğrultusunda, disk difüzyon yöntemi ile 5 µg'lık diskler kullanılarak yapılan duyarlılık testlerinde 14 ve 18 mm'lik zon çaplarının düşük ve yüksek düzeyde direnci belirlemede uygun olduğu yorumu yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Boelaert JR: Staphylococcus aureus infection in haemodialysis patients. Mupirocin as a topical strategy against nasal carriage: A review. *J Chemother* 4 (Suppl 2): 19 (1994).
- 2- Cookson B: Failure of mupirocin resistant staphylococci to inactivate mupirocin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8: 1038 (1989).

- 3- Cookson BD: Mupirocin resistance in staphylococci, *J Antimicrob Chemother* 25: 497 (1990).
- 4- Farmer TH, Gilbert J, Elsen SW: Biochemical basis of mupirocin resistance in strains of *Staphylococcus aureus*, *J Antimicrob Chemother* 30: 587 (1992).
- 5- Fuchs PC, Jones RN, Borry AL: Interpretive criteria for disk diffusion susceptibility testing of mupirocin, a topical antibiotic, *J Clin Microbiol* 28: 608 (1990).
- 6- Gilbert J, Perry CR, Slocombe B: High-level mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*: Evidence for two distinct isoleucyl-t RNA synthetases, *Antimicrob Agents Chemother* 37: 32 (1993).
- 7- Janssen DA, Zarins LT, Schaberg DR, Bradley S F, Terpenning MS, Kauffman CA: Detection and characterization of mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob Agents Chemother* 37: 2003 (1993).
- 8- Kauffman CA, Terpenning MS, Xiang HE, Zarin LT, Ramsey MA, Jorgensen KA, Sottile WS, Bradley SF: Attempts to eradicate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a long-term care facility with the use of mupirocin ointment, *Am J Med* 94: 371 (1993).
- 9- Naguib MH, Naguib MT, Flournoy DJ: Mupirocin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from veterans hospital, *Chemotherapy* 39: 400 (1993).
- 10- NCCLS: National Control Committee for Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically*, Document M7-A2, Villanova (1992).
- 11- NCCLS: National Control Committee for Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*, 5.ed, Document M2-A5, Villanova (1993).
- 12- Tunkel AR: Topical antibacterials, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4. baskı" kitabında, s.381, Churchill Livingstone Inc, New York (1995).
- 13- Yanagisawa T, Lee JT, Wu HC, Kawakami M: Relationship of protein structure of isoleucyl-t RNA synthetase with pseudomonic acid resistance of *Escherichia coli*. A proposed mode of action of pseudomonic acid as an inhibitor of isoleucyl-t RNA synthetase, *J Biol Chem* 269: 24304 (1994).
- 14- Ward A, Campoli Richards DM: Mupirocin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use *Drugs* 32: 425 (1986).