

KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOK İZOLATLARINDA MUPİROSİN DİRENCİ

Gülhan VARDAR-ÜNLÜ, Mehmet ÜNLÜ, Aysel YAĞMUROĞLU

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SİVAS

ÖZET

Mupirosin, Gram pozitif bakteriler ve özellikle *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu yüzeysel infeksiyonların tedavisinde topikal antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, klinik örneklerden soyutlanan 183 *S.aureus* ve 150 koagülaz negatif stafilokok (KNS) kökeninin mupirosine direnci minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) belirlenmesi ile araştırılmıştır. *S.aureus* kökenlerinin 98'i (% 53.6) metisiline dirençli, 85'i (% 46.4) metisiline duyarlı ve KNS kökenlerinin ise 66'sı (% 44) metisiline dirençli, 84'ü (% 56) metisiline duyarlı bulunmuştur. Düşük düzey mupirosin direnci, metisiline dirençli ve duyarlı *S.aureus* (MRSA ve MSSA) kökenlerinde sırası ile % 31.6 ve % 10.6, metisiline dirençli ve duyarlı KNS kökenlerinde ise sırası ile % 12.1 ve % 2.4 olarak saptanmıştır. Yüksek düzey mupirosin direnci, metisiline dirençli ve duyarlı KNS kökenlerinde sırası ile % 4.5 ve % 1.2 olarak bulunmuş olup, *S.aureus* kökenlerinde saptanmamıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgular, MRSA kökenlerinde mupirosine karşı dirençte bir artış olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, mupirosin, stafilokoklar

SUMMARY

Mupirocin Resistance of *Staphylococcus aureus* and Coagulase-negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens

Mupirocin is used as a topical antimicrobial agent in the treatment of superficial infections caused by Gram-positive bacteria, particularly by *Staphylococcus aureus*. The aim of this study is to determine the in vitro efficacy of mupirocin against staphylococci isolated from clinical specimens. Mupirocin resistance of 183 *S.aureus* and 150 coagulase-negative staphylococci (CNS) was investigated by the determination of minimum inhibitory concentration (MIC). Ninety-eight (53.6 %) of *S.aureus* strains were found methicillin resistant, 85 (46.4 %) methicillin susceptible. Sixty-six (44 %) of CNS strains were found methicillin resistant, 84 (56 %) methicillin susceptible. Low level mupirocin resistance was detected as 31.6 % and 10.6 % in methicillin resistant and susceptible *S.aureus* (MRSA and MSSA) strains, as 12.1 % and 2.4 % in methicillin resistant and susceptible CNS strains, respectively. High level mupirocin resistance was observed in 4.5 % and 1.2 % in methicillin resistant and susceptible CNS, respectively, whereas not detected in any of *S.aureus* strains tested. These results implies an increase in mupirocin resistance in MRSA strains.

Keywords: antibiotic resistance, mupirocin, staphylococci

Yazışma adresi: Mehmet Ünlü, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SİVAS

Tel.: (0346) 219 10 10/2165, GSM: (0505) 779 60 90

e-posta: unlum@yahoo.com

Alındığı tarih: 19.10.2006; revizyon kabulü: 30.11.2006

GİRİŞ

Stafilokoklar infeksiyonlara neden olan en önemli patojen mikroorganizmalardır. Stafilocoklarda antibiyotik direnci en önemli tedavi problemi olmaya devam etmektedir (6,16,22,28). Doğal olarak *Pseudomonas fluorescens* tarafından üretilen mupirosin (pseudomonik asit A), Gram pozitif bakteriler ve özellikle *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu yüzeysel infeksiyonların tedavisinde topikal bir ajan olarak kullanılmaktadır(8,33,37). *S.aureus*'un nazal taşınmasının önlenmesinde ve özellikle metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA)'un kontrolünde önemli olan(14,15,31,33) mupirosin, bir izolösün analogu olup, izolösil-tRNA sentetaz (IRS) enzimine kompetitif olarak bağlanıp protein sentezini inhibe ederek etki göstermektedir. IRS'in inhibisyonu geri dönüşümsüz ve zamana bağlı olup, mupirosin-IRS bileşeni oldukça kararlıdır(8,24). Hastalarda ve MRSA ile kolonize olmuş hastane çalışanlarında, artan mupirosin kullanımına bağlı olarak dirençli kökenler bildirilmektedir(3-5,23,27-31). *S.aureus* ve koagülaz-negatif stafilocoklarda (KNS) mupirosin direnci, düşük ve yüksek düzey olmak üzere iki grup altında değerlendirilmektedir(4,38).

Bu çalışmada, klinik örneklerden soyutlanan 183 *S.aureus* ve 150 KNS kökenine mupirosinin in-vitro etkinliğinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) saptanarak araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2004-2005 yıllarında klinik örneklerden soyutlanan 183 *S.aureus* ve 150 KNS kökeni her hastadan bir köken olmak üzere çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin tanımlanması, koloni morfolojisi, üreme ve Gram boyanma özelliği, katalaz ve koagülaz testleri gibi klasik yöntemlerin yanısıra, Phoneix (Becton Dickinson) sistemi de kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin metisiline duyarlılık testleri, % 4 NaCl ve 6 mg/L oksasilin (Sigma) içeren Mueller-Hinton besiyeri kullanılarak agar dilüsyon yöntemi ile yapılmıştır(1). Tüm kökenlerin MİK değerleri, buyyonda dilüsyon yöntemi ile katyon ayarlı Mueller Hinton

buyyon (Becton-Dickinson) kullanılarak CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kılavuzuna göre saptanmıştır(2). Mupirosinin (SmithKline Beecham) seri dilüsyonları final konsantrasyonları 0.12-1024 mg/L olacak şekilde steril distile su ile hazırlanmıştır. Kökenler 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. *S.aureus* ATCC 25923 (MİK değeri 0.12-0.5 mg/L) kullanılarak duyarlılık testinin doğruluğu değerlendirilmiştir(10). Mupirosin için duyarlılık kırılma noktaları ≤4 mg/L (duyarlı), 8-256 mg/L (düşük-düzye direnç) ve >512 mg/L (yüksek-düzye direnç) olarak kabul edilmiştir(4,38).

BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden (cerrahi yara, kan, pü, kateter ucu, boğaz, idrar ve burun) soyutlanan 183 *S.aureus* ve 150 KNS kökeni değerlendirmeye alınmıştır. İncelenen *S.aureus* kökenlerinin 98'i (% 53.6) metisiline dirençli, 85'i (% 46.4) metisiline duyarlı, KNS kökenlerinin ise 66'sı (% 44) metisiline dirençli, 84'ü (% 56) metisiline duyarlı bulunmuştur (Tablo 1). Düşük düzey mupirosin direnci, metisiline dirençli ve duyarlı *S.aureus* kökenlerinde sırası ile % 31.6 ve % 10.6; metisiline dirençli ve duyarlı KNS kökenlerinde ise sırası ile % 12.1 ve % 2.4 olarak saptanmıştır. Yüksek düzey mupirosin direnci, metisiline dirençli ve duyarlı KNS kökenlerinde sırası ile % 4.5 ve % 1.2 olarak bulunmuş olup, *S.aureus* kökenlerinde saptanmamıştır (Tablo 1).

TARTIŞMA VE SONUÇ

S.aureus ve diğer stafilocoklar yüzeysel infeksiyonlarda önemli rol oynamaktadır. Metisilin direncine sahip ve beta-laktamaz üreten stafilocokların oluşturduğu infeksiyonların tedavisi son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli sorunlar ortaya çıkarmaktadır(6). Stafilocoklara karşı oluşan antibiyotik direnci alternatif antibiyotiklerin denenmesine yol açmaktadır. Bu tip infeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotikler oldukça sınırlı sayıdadır. Mupirosin bu antibiyotiklerden biri olup, Dünyada 1985, Türkiye'de 1991 yılında klinik kullanıma girmiştir(13). Topikal olarak burundaki *S.aureus* suşlarına karşı kullanılmaktadır(14,18,37). MİK değerine yakın düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik olduğu halde, %

Tablo 1: Metisiline duyarlı ve dirençli *S.aureus* ve KNS suşlarının mupirosine duyarlılıkları.

	Toplam		Duyarlı		DD Direnç ^a		YD Direnç ^b	
	n	% ^c	n	% ^d	n	% ^d	n	% ^d
<i>S. aureus</i>	183		143	78.1	40	21.8	0	
MRSA	98	53.6	67	68.4	31	31.6	0	
MSSA	85	46.4	76	89.4	9	10.6	0	
KNS	150		136	90.7	10	6.7	4	2.7
MRKNS	66	44.0	55	83.3	8	12.1	3	4.5
MSKNS	84	56.0	81	96.0	2	2.4	1	1.2

^aDD Direnç: düşük düzey direnç (MİK 8-256 mg/L); ^bYD Direnç: yüksek-düzye direnç (MİK > 512 mg/L); ^c *S.aureus* ve KNS içindeki oranlar; ^dSatır içindeki toplama göre oranlar.

2'lik konsantrasyon içeren topikal uygulamalarda bakterisidal olarak etkilidir⁽⁴⁾.

Mupirosinin klinik kullanımından çok kısa süre sonra stafilocoklarda direnç görülmüştür^(3,29,30). Dünyada çok merkezli ve ülkemizdeki çalışmalarda mupirosine dirençli stafilocoklar bildirilmiştir (Tablo 2). Stafilocoklarda mupirosine direnç gelişimi düşük ve yüksek düzey olmak üzere iki şekilde olabilmektedir. Düşük düzey direnç daha fazla görülmekte olup, kromozomal izolosil-tRNA sentetaz genindeki nokta mutasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yüksek düzey direnç ise, plazmidle taşınan yeni bir genin alımıyla ilgilidir. Bu gen mupirosine afinitesi olmayan yeni stafilocokal izolosil-tRNA sentetaz kodlamaktadır^(4,12,15). Düşük ve yüksek düzey direnç hem *S.aureus* hem de KNS suşlarında saptanmaktadır. Koagülaz negatif stafilocoklar yüksek düzey direnç geni mupA için rezervuar olabilir ve KNS suşlarından *S.aureus*'a aktarımı in-vitro olarak gösterilmiştir^(17,29,36).

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, metisiline dirençli ve duyarlı *S.aureus* suşlarında sırası ile % 31.6 ve % 10.6, metisiline dirençli ve duyarlı KNS suşlarında % 12.1 ve % 2.4 oranında düşük düzeyde mupirosin direnci saptanmıştır. Düşük düzeyde dirence *S.aureus* suşlarında daha yüksek oranda rastlanmasına karşılık yüksek düzeyde mupirosin direncine sadece KNS suşlarında rastlanmıştır (Tablo 1). Ülkemizde mupirosin direnci birçok araştırmacı tarafından da saptanmıştır (Tablo 2). Çalışmamızda, diğer çalışmalara paralel olarak, mupirosin direnci metisiline dirençli stafilocoklarda daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak, mupirosinin hastanemizde izole ettiğimiz stafilocoklara karşı etkin ve tedavide kullanılabilecek alternatif bir topikal antibiyotik olduğu düşünülmektedir. Tedavi veya profilaktik amaçla kullanılan mupirosine direnç gelişimini engellemek için antimikrobiyal duyarlılık testinin yapılması ve sonuçlar dikkate alınarak tedavi uygulanması gerekmektedir.

Tablo 2: Türkiye'de ve Dünyada yapılmış çalışmalarda stafilocoklarda saptanan mupirosine direnç oranları (%).

Kaynak	Yıl	MSSA	MRSA	MSKNS	MRKNS
Kaya ve ark. ⁽¹⁹⁾	1995	12.9	16.6	11.1	16.6
Koşan ve ark. ⁽²⁰⁾	1995	2.0	5.0	0.0	0.0
Öztürk ve ark. ⁽²⁶⁾	1996	6.0	23.0	21.0	38.0
Fidan ve ark. ⁽⁹⁾	1997	-	3.5	-	-
Öngen ve ark. ⁽²⁵⁾	2000	3.0	5.0	25.0	41.0
Şencan ve ark. ⁽³⁵⁾	2003	6.5	14.3	-	-
Gündüz ve ark. ⁽¹³⁾	2005	10.8	14.0	22.5	28.2
Şenbayrak-Akçay ve ark. ⁽³⁴⁾	2005	-	9.0	-	-
Schmitz ve ark. ⁽³²⁾	1998	3.0	6.2	10.6	14.2
Deshpande ve ark. ⁽⁷⁾	2002	1.3	13.8	6.2	32.4
Yun ve ark. ⁽³⁸⁾	2003	0.3	4.7	4.0	23.0
Kresken ve ark. ⁽²¹⁾	2004	0.5	16.6	0.7	18.2
Gales ve ark. ⁽¹¹⁾	2004	1.7	5.4	4.6	33.7
Bu çalışma	2006	10.6	31.6	3.6 ^x	16.7 ^x

^x Düşük + yüksek düzeyde direnç

KAYNAKLAR

- Alfa MJ, Ongsansom E, Hoban S et al: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Optimization of the agarscreen plate method, Diagn Microbiol Infect Dis 1994;18(2):121-4.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (Çeviri Editör Gür D): Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları; Onbeşinci Bilgi Eki, M100-S15; CLSI: Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
- Cookson BD: Mupirocin resistance in staphylococci, J Antimicrob Chemother 1990;25(2):497-501.
- Cookson BD: The emergence of mupirocin resistance: a challenge to infection control and antibiotic prescribing practice, J Antimicrob Chemother 1998;41(1):11-8.
- Cookson B: Clinical significance of emergence of bacterial antimicrobial resistance in the hospital environment, J Appl Microbiol 2005;99(5):989-96.
- Çetinkaya Y, Ünal S: Metisilin dirençli Staphylococcus aureus enfeksiyonları: epidemiyoloji ve kontrol, Flora 1996;1(3 Ek):3-16.
- Deshpande LM, Fix AM, Pfaller MA, Jones RN, SENTRY Antimicrobial Surveillance Program(2000): Correlations of results from disk diffusion, Etest and reference dilution methods, Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 42(4):283-90.
- Farmer TH, Gilbert J, Elson SW: Biochemical basis of mupirocin resistance in strains of Staphylococcus aureus, J Antimicrob Chemother 1992;30 (5):587-96.
- Fidan I, Akyar I, Türet S, Rota S: Metisilin direncinin üç ayrı yöntemle saptanması ve metisiline dirençli suşların in vitro mupirosin duyarlılığının araştırılması, Mikrobiyol Bül 1997;31(4):345-50.
- Finlay JE, Miller LA, Poupard JA: Interpretive criteria for testing susceptibility of staphylococci to mupirocin, Antimicrob Agents Chemother 1997;41(5):1137-9.
- Gales AC, Andrade SS, Sader HS, Jones RN: Activity of mupirocin and 14 additional antibiotics against staphylococci isolated from Latin American hospitals: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, J Chemother 2004;16(4):323-8.
- Gilbert J, Perry CR, Slocombe B: High-level mupirocin resistance in Staphylococcus aureus: evidence for two distinct isoleucyl-tRNA synthetases, Antimicrob Agents Chemother 1993;37(1):32-8.
- Gündüz T, Tosun S, Demirel MM: Bir çocuk hastanesinde izole edilen stafilocokların mupirosin duyarlılığı, İnfeksiyon Derg 2005;19(3):345-7.
- Hill RL, Duckworth GJ, Casewell MW: Elimination of nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with mupirocin during a hospital outbreak, J Antimicrob Chemother 1988;22(2):377-84.
- Hudson IR: The efficacy of intranasal mupirocin in the prevention of staphylococcal infections: a review of recent experience, J Hosp Infect 1994;27(2):81-98.
- Huebner J, Goldmann DA: Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens, Annu Rev Med 1999;50:223-36.
- Hurdle JG, O'neill AJ, Mody L, Chopra I, Bradley SF: In vivo transfer of high-level mupirocin resistance from Staphylococcus epidermidis to methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with failure of mupirocin prophylaxis, Antimicrob Chemother 2005;56(6):1166-8.

18. Kampf G, Kramer A: Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with an antiseptic soap and nasal mupirocin among colonized patients-an open uncontrolled clinical trial, *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004;Jun 3:9.
19. Kaya D, Kaptanoğlu S, Kiraz N, Kaya E: Mupirocinin stafilocok suşlarına in-vitro etkisi, *ANKEM Derg* 1995;9(4):332-6.
20. Koşan E, Kocabeyoğlu Ö, Keskin K, Özperçin İ, Birinci İ, Fidan A: Mupirocinin stafilocok, streptokok, ve *Enterococcus faecalis* suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması *ANKEM Derg* 1995;9(1):17-9.
21. Kresken M, Hafner D, Schmitz FJ, Wichelhaus T.A: Prevalence of mupirocin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*: results of Antimicrobial Resistance Surveillance Study of the Paul-Ehrlich Society for Chemotherapy, 2001, *Int J Antimicrobial* 2004;23(6):577-81.
22. Laupland KB, Church DL, Mucenski M, Sutherland LR, Dele Davies H: Population based study of the epidemiology of and risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections, *J Infect Dis* 2003;187(9):1452-9.
23. Miller MA, Dascal A, Portnoy J, Mendelson J: Development of mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after widespread use of nasal mupirocin ointment, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17(12):811-3.
24. Nakama T, Nureki O, Yokoyama S: Structural basis for the recognition of isoleucyl-adenylate and an antibiotic, mupirocin, by isoleucyl-tRNA synthetase, *J Biol Chem* 2001;276(50):47387-93.
25. Öngen B, Otağ F, Gürler N, Töreci K: Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında fusidik asit ve diğer antimikrobik maddelere direnç, *ANKEM Derg* 2000;14(1):36-8.
26. Öztürk R, Midilli K, Ergin S, Aygün G: Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde yatan hastalardan izole edilen stafilocokların antimikrobik maddelere duyarlılığı, *ANKEM Derg* 1996;10(1):48-51.
27. Petinaki E, Spiliopoulou I, Kontos F et al: Clonal dissemination of mupirocin-resistant staphylococci in Greek hospitals, *J Antimicrob Chemother* 2004;53(1):105-8.
28. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Kugler KC Beach ML: Survey of blood stream infections attributable to gram-positive cocci: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. SENTRY Participants Group, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33(4):283-97.
29. Rahman M, Connolly S, Noble WC, Cookson B, Phillips I: Diversity of staphylococci exhibiting high-level resistance to mupirocin, *J Med Microbiol* 1990;33(2):97-100.
30. Rahman M, Noble WC, Cookson B, Baird D, Coia J: Mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Lancet* 1987;330(8555):387-8.
31. Schmitz FJ, Jones ME: Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? *Int J Antimicrob Agents* 1997;9(1):1-19.
32. Schmitz FJ, Lindenlauf E, Hofmann B et al: The prevalence of low and high-level mupirocin-resistance in staphylococci from 19 European hospitals, *J Antimicrob Chemother* 1998;42(4):489-95.
33. Sutherland R, Boon RJ, Griffin KE, Masters PJ, Slocombe B, White AR: Antibacterial activity of mupirocin (pseudomonic acid), a new antibiotic for topical use, *Antimicrob Agents Chemother* 1985;27(4):495-8.
34. Şenbayrak-Akçay S, Oğuzoğlu N, Şengöz-İnan A, Küçükercan M, Çobanoğlu F: Deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının fusidik asit ve mupirocin duyarlılığı, *KLİMİK Derg* 2005;18(3):117-20.
35. Şencan İ, Kaya D, Çatakoğlu N, Şahin İ, Bahtiyar Z, Yıldırım M: Hemodiyaliz hastalarında burunda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı, *İnfeksiyon Derg* 2003;17(1):31-4.
36. Udo EE, Jacob LE, Mokadas EM: Conjugative transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus haemolyticus* to other staphylococci, *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(3):693-5.
37. Wertheim HF, Verveer J, Boelens HA, van Belkum A, Verbrugh HA, Vos MC: Effect of mupirocin treatment on nasal, pharyngeal, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* in healthy adults, *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(4):1465-7.
38. Yun HJ, Lee SW, Yoon GM et al: Prevalence and mechanisms of low- and high-level mupirocin resistance in staphylococci isolated from a Korean hospital, *J Antimicrob Chemother* 2003;51(3):619-23.