

METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARINDA GLİKOPEPTİD VE LİNEZOLİD DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Murat DİZBAY*, Ayşe Bilge SİPAHİ**, Özgür GÜNAL*, Filiz KIRCA**, Laser ŞANAL**, Kayhan ÇAĞLAR**, Kenan HİZEL*, Dilek ARMAN*

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ANKARA

**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a (MRSA) bağlı nosokomiyal ve toplum kökenli enfeksiyonların sıklığında artış gözlenmektedir. Morbidite ve mortalitesi yüksek olan bu enfeksiyonların tedavisinde glikopeptid antibiyotikler ilk seçenek olarak kullanılmaktadırlar. Ancak son yıllarda glikopeptidlere azalmış duyarlılık gösteren suşlarla gelişen enfeksiyonlar bildirilmektedir. Çalışmamızda hastane kökenli MRSA izolatlarının glikopeptid direnci yönünden araştırılması ve ülkemizde yakın zamanda klinik kullanıma giren linezolid duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada nosokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 120 MRSA izolatı yer almıştır. Glikopeptid direnci açısından 4 µg/ml vankomisin içeren brain-heart infusion agar'da (BHI-V4 agar) tarama yapılmış ve üreme olan suşlarda E-test yöntemi ile minimal inhibitör konsantrasyon düzeyi belirlenmiştir. BHI-V4 agar tarama yönteminde sadece bir suşta tek koloni şeklinde üreme izlenmiştir. Bu suşa E-test yöntemi ile vankomisinin MİK düzeyi 3 µg/ml olarak saptanmıştır. Linezolid duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile saptanmış, MRSA izolatlarının hepsi linezolide duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak hastanemizde izole edilen MRSA suşları arasında glikopeptid ve linezolid direnci saptanmamıştır.

Anahtar sözcükler: direnç, linezolid, MRSA, vankomisin

SUMMARY

Investigation of Glycopeptid and Linezolid Resistance among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates

In last decades, an increase was observed in the frequency of community and nosocomially acquired infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Glycopeptide antibiotics are the first choice of antibiotics in the treatment of these infections which have high morbidity and mortality rates. Recently, however, infections developed with the strains which show decreased susceptibility to glycopeptides were reported. In our study, we aimed to investigate the susceptibility to glycopeptides and linezolid of nosocomial MRSA isolates. 120 MRSA strains isolated from nosocomial infections were screened for glycopeptide resistance using brain-heart infusion agar containing 4 µg/ml vancomycin (BHI-V4). In the presence of growth in BHI-V4 agar, the MIC values of strains were detected by E-test. In BHI-V4 agar screening method, only one strain yielded growth as one colony. By E-test the MIC value of vancomycin for this strain was detected as 3 µg/ml. Susceptibility to linezolid was determined by disk diffusion method. All MRSA isolates in this study were found susceptible to linezolid.

In conclusion, resistance to glycopeptides and linezolid among nosocomial MRSA isolates was not detected in our hospital.

Keywords: linezolid, MRSA, resistance, vancomycin

Yazışma adresi: Özgür Günal. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ANKARA
Tel.: (0312) 202 54 29; GSM: (0505) 254 31 67
e-posta: ozgurgunal@yahoo.com.tr
Alındığı tarih: 31.01.2007, revizyon kabulü: 26.02.2007

GİRİŞ

Son yirmi yılda nozokomiyal ve toplum kökenli infeksiyonlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) sıklığı dünya çapında artmıştır ve glikopeptid antibiyotikler MRSA infeksiyonlarının tedavisinde en etkili ilaçlardır⁽⁶⁾. Ancak yakın zamanda önce vankomisine duyarlılığı azalmış olan *S.aureus*, 2002 yılında ise vankomisine yüksek düzeyde dirençli (MİK >32 mg/l) *S.aureus* suşları bildirilmiştir^(3,6,11,14). Klinik örneklerde VISA'nın (vancomycin intermediate *S.aureus*) saptanması hasta bakımı ve infeksiyon kontrolünde önemlidir⁽¹⁰⁾. Çünkü klinikte tedaviyi yönlendiren çoğunlukla rutin duyarlılık testleri olmakla birlikte bu testler vankomisine azalmış duyarlılık gösteren suşları tanımlamakta yetersiz kalabilmektedir⁽¹⁷⁾.

Yeni bir antimikrobiyal olan linezolid, vankomisine dirençli suşlar da dahil MRSA, koagülaz negatif stafilokoklar, enterokoklar ve penisiline dirençli pnömokoklar gibi Gram pozitif bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisi için geliştirilmiştir^(2,12). Ülkemizde yakın zamanda klinik kullanıma girmiştir. Hem intravenöz hem de oral formunun bulunması nozokomiyal infeksiyonların yanısıra toplum kaynaklı infeksiyonlarda da kullanım avantajı sağlamaktadır. Ancak nadir de olsa literatürde linezolide direnç saptanabilmektedir^(1,13,15,16).

Bu çalışmada nozokomiyal MRSA izolatlarında glikopeptid direnci taramasının yapılması ve linezolid direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Ocak-Haziran 2005 arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan hastalardan alınmış olan çeşitli klinik örneklerden izole edilen 120 MRSA izolatı yer almıştır. Metisilin direnci 1 µg oksasilin içeren diskler kullanılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre Kirby-Bauer yöntemiyle saptanmıştır. 10 mm ve altındaki değerler dirençli olarak kabul edilmiş-

tir⁽⁴⁾. İzolatların glikopeptid direncini araştırmak için 4 µg/ml vankomisin içeren brain-heart infusion agara (BHI-V4) 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlanmış olan bakteri süspansiyonundan 10'ar µl ekim yapılmıştır. Üreme olan suşlardan 2 McFarland bulanıklıkta süspansiyon hazırlanarak BHI agara ekim yapılmış ve vankomisin E-test stribi ile minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) tayini yapılmıştır. 4 µg/ml ve altındaki değerler vankomisine duyarlı olarak kabul edilmiştir⁽⁴⁾. Linezolid duyarlılığı CLSI standartlarına göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak saptanmıştır. 21 mm ve üzerindeki değerler duyarlı olarak kabul edilmiştir⁽⁴⁾. Kontrol suşları olarak *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilmiş MRSA suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: *Staphylococcus aureus* suşlarının izole edildiği klinik örnekler.

Örnek	Sayı
Yara/apse/pü	52
Kan	11
Eklem/periton/plevra sıvısı	5
BAL/balgam	15
Endotrakeal aspirat	23
Kateter	6
Diğer*	8
Toplam	120

*BOS, burun, kulak akıntısı.

Çalışmaya alınan nozokomiyal MRSA izolatlarında, BHI-V4 agar tarama yöntemi ile sadece bir suşta tek koloni şeklinde üreme izlenmiştir. Bu suşta E-test yöntemi ile vankomisin MİK düzeyi bakılmış ve 3 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmaya alınan bütün suşlar vankomisine duyarlı olarak kabul edilmiştir. Ancak heterorezistans yönünden popülasyon analizi yapılmamıştır. Çalışılan 120 MRSA izolatının hepsi linezolide duyarlı bulunmuştur.

TARTIŞMA

Glikopeptidlere azalmış duyarlılığı olan *S.aureus* suşları (MİK 8-16 µg/ml) ilk olarak Japonya'dan ve daha sonra Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve Kore'den bildirilmiştir^(6,11,14). Bu suşlar periyodlar halinde ve uzun süreli vankomisin kullanılan ve iyileşmeyen hastalarda ortaya çıkmıştır⁽⁶⁾. 2006 CLSI kriterlerine göre *S.aureus*'taki vankomisin duyarlılık sınırları değiştirilmiş olup 4-8 µg/ml arasındaki değerler glikopeptidlere azalmış duyarlılık olarak kabul edilmiştir⁽⁵⁾. Ancak bu çalışma 2005 yılında gerçekleştirilmiş olduğu için 2005 yılındaki CLSI kriterleri kullanılmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda şimdiye kadar *S.aureus* suşlarında glikopeptid direnci gösterilmemiştir. Bir çalışmada vankomisin direnci araştırılan 50 MRSA ve 50 MSSA izolatında % 6 oranında vankomisine orta düzeyde duyarlılık saptanmıştır⁽⁹⁾. Hacettepe Üniversitesi'nde 256 MRSA suşunun incelendiği bir çalışmada VISA saptanmamış, ancak yapılan popülasyon analizinde 46 izolat hetero-VISA olarak değerlendirilmiştir⁽¹⁴⁾. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda stafilocoklar arasında vankomisin direnci saptanmamış olup, MRSA suşlarının % 0.3'ünde vankomisine, % 0.8'inde teikoplani-ne azalmış duyarlılık gösterilmiştir⁽⁷⁾. Çalışmamızda vankomisine azalmış duyarlılık gösteren suş izole edilmemesine karşın özellikle nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen MRSA suşlarının vankomisine azalmış duyarlılık yönünden izlenmesinin önemli olduğu düşünülmüştür.

Bir oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid 50S ribozomal alt birimine bağlanıp protein sentezini inhibe ederek etki gösterir ve diğer antimikrobiyal ajanlarla çapraz direnç göstermez. Linezolidin MRSA, metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocoklar, vankomisin ve ampisiline dirençli enterokoklar, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* ve eritromisine dirençli beta-hemolitik streptokokların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir^(2,12). Linezolid direnci çok yaygın olmasa da özellikle *Enterococcus faecium* suşlarında daha sık görülmektedir ve linezolid

dirençli suşlarla gelişen nozokomiyal salgın bildirilmiştir⁽⁸⁾. Stafilocoklarda linezolid direnci ise çok nadirdir. 2001'de ilk olarak yayınlanan linezolid direncinden⁽¹⁶⁾ bu yana yapılan çeşitli sürveyans programlarında linezolid direnci % 0.1'den daha az olarak bildirilmiştir^(1,13,15). Çalışmamızda MRSA izolatları arasında linezolide direnç saptanmamıştır. Ülkemizde yeni klinik kullanıma giren linezolidin MRSA ile oluşan infeksiyonların tedavisinde uygun bir seçenek olduğu, direnç durumunun ise takip edilmesi gerektiği düşünülmüştür. Bu çalışma, linezolid direncinin takibi açısından en azından hastane-mizde bir temel veri oluşturacaktır.

KAYNAKLAR

1. Anderegg TR, Sader HS, Fritsche TR, Ross JE, Jones RN: Trends in linezolid susceptibility patterns: report from the 2002-2003 worldwide Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum (ZAAPS) Program, Int J Antimicrob Agents 2005;26(1):13-21.
2. Betriu C, Redondo M, Boloix A, Gomez M, Culebras E, Pizarro JJ: Comparative activity of linezolid and other new agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and teicoplanin-intermediate coagulase-negative staphylococci, J Antimicrob Chemother 2001;48(6):911-3.
3. Centers for Disease Control and Prevention: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin, United States, MMWR 2002;51:565-7.
4. Clinical and Laboratory Standard Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S15, Wayne, PA (2005).
5. Clinical and Laboratory Standard Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement, CLSI Document M100-S16, Wayne, PA (2006).
6. Denis O, Nonhoff C, Byl B, Knoop C, Bobin-Dubreux S, Struelens MJ: Emergence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a Belgian hospital: microbiological and clinical features, J Antimicrob Chemother 2002;50(3):383-91.
7. Derbentli Ş: Stafilocoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye Haritası, ANKEM Derg 2005;19(Ek 2):54-60.
8. Dobbs TE, Patel M, Waites KB, Moser SA, Stamm AM, Hoesley CJ: Nosocomial spread of *Enterococcus faecium* resistant to vancomycin and linezolid in a tertiary care medical center, J Clin Microbiol 2006;44(9):3368-70.
9. Gülay Z, Biçmen M, Atay T, Öktem İMA, Yuluğ N: *Staphylococcus aureus* suşlarının fusidik asit ve glikopeptid antibiyotiklere duyarlılığının incelenmesi, Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg 2000;14(3):227-31.

10. Marlowe EM, Cohen MD, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA: Practical strategies for detecting and confirming vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus: a tertiary-care hospital laboratory's experience, *J Clin Microbiol* 2001;39(7):2637-9.
11. Miller NC, Rudoy RC: Vancomycin intermediate-resistant Staphylococcus aureus, *Orthop Nurs* 2000;19(6):45-8.
12. Muller-Serieys C, Drugeon HB, Etienne J et al: Activity of linezolid against Gram-positive cocci isolated in French hospitals as determined by three in-vitro susceptibility testing methods, *Clin Microbiol Infect* 2004;10(3):242-6.
13. Mutnick AH, Enne V, Jones RN: Linezolid resistance since 2001: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, *Ann Pharmacother* 2003;37(6):769-74.
14. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Çolakoglu S, Hascelik G: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):519-23.
15. Styers D, Sheehan DJ, Hogan P, Sahn DF: Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among Staphylococcus aureus: 2005 status in the United States, *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006;5:2.
16. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G et al: Linezolid resistance in a clinical isolate of Staphylococcus aureus, *Lancet* 2001;358(9277):207-8.
17. Walsh TR, Bolmström A, Qvarnström A et al: Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides, *J Clin Microbiol* 2001;39(7):2439-44.