

HASTANE KÖKENLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TÜRLERİNDE MAKROLİD-LİNKOZAMİD-STREPTOGRAMİN B DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI*

M. Hamidullah UYANIK*, Halil YAZGI*, Dilek BİLİCİ*, Kemalettin ÖZDEN**,
Erdem KARAKOÇ*

* Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

ÖZET

Staphylococcus aureus suşlarında gelişen antimikrobiyal direnç dünyanın her yerinde nozokomiyal stafilocok enfeksiyonlarının tedavisi için önemli problemlere neden olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesinde Temmuz 2007-Haziran 2008 tarihleri arasında yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutlanan *S.aureus* suşlarındaki makrolid-linkosamid-streptogramin B (MLS_B) direncinin incelenmesidir. Bakteriler konvansiyonel metotlarla tanımlanmıştır. Direnç fenotipleri çift disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Çalışma kapsamına alınan 107 *S.aureus* suşunun 57'si (% 53) metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), 50'si (% 47) metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) olarak bulunmuştur. MRSA suşlarının % 21'inde yapısal MLS_B direnci (cMLS_B), % 30'unda ise induklenebilir MLS_B direnci (iMLS_B) saptanırken, MSSA suşlarında bu oranlar sırasıyla % 0 ve % 4 olarak bulunmuştur.

Klindamisin'in stafilocoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde önemli bir alternatif olduğu durumlarda rutin antiyotik duyarlılık testleri ile direnç profilinin saptanmasının tedavinin başarısı için gerekli olduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: disk difüzyon, hastane kaynaklı makrolid-linkozamid-streptogramin B direnci, *Staphylococcus aureus*

SUMMARY

Detection of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance in Nosocomial *Staphylococcus aureus* Strains

The antimicrobial resistance to *Staphylococcus aureus* strains causes important problems in treatment of nosocomial staphylococcal infections in all over the world.

The purpose of this study was to determine the macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLS_B) resistance in *S.aureus* strains isolated from various clinical specimens of the patients hospitalized in Yakutiye Research Hospital of Atatürk University between July 2007 and June 2008. Bacterial strains were identified by conventional methods. Resistance phenotypes were investigated using the double-disk diffusion test.

Out of 107 *S.aureus* strains 57 (53 %) were resistant to methicillin (MRSA) and 50 (47 %) were susceptible to methicillin (MSSA). The constitutive phenotype was 21 % and inducible phenotype was 30 % in MRSA, whereas the constitutive and inducible phenotypes were 0 % and 4 %, respectively, in MSSA.

Investigating the resistance patterns on routine antibiotic susceptibility tests provides therapeutic success in *S.aureus* infections where clindamycin may be an important therapeutic option.

Keywords: disk diffusion, nosocomial macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance, *Staphylococcus aureus*

Yazışma adresi: M.Hamidullah Uyanık, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

Tel: (0442) 231 69 32, GSM: (0535) 387 71 33

Alındığı tarih: 03.07.2009, revizyon kabulü: 05.08.2009

e-posta: mhuyanik@hotmail.com

*24.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.63 (29 Nisan-03 Mayıs 2009, Fethiye)

GİRİŞ

Staphylococcus aureus gerek toplum gerekse hastane kaynaklı infeksiyonlardan en sık izole edilen etkenlerdendir. *S.aureus*, Gram pozitif bakterilere bağlı bakteremilerin en sık sorumlu ajanı olmasının yanı sıra deri ve yumuşak doku infeksiyonları, cerrahi alan infeksiyonları, nekrotizan fasiit, gastroenterit, pnömoni gibi çok farklı dokularda ciddi infeksiyonlara neden olur^(2,9). Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden önceki dönemde stafilokokların ölümcül infeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Penisilin klinik kullanıma girmesi ile bu infeksiyonlar başarılı bir şekilde tedavi edilmeye başlanmışsa da penisilinaz üretimi sonucu penisilinler tedavide etkisiz hale gelmiştir. 1960'lı yıllarda klinik kullanıma giren oksasilin, nafsilin, metisilin gibi penisilinaza dirençli penisilinler ile penisilinaz sorunu çözümlenmiş ise de kısa süre sonra metisiline dirençli kökenler ortaya çıkmış ve bu kökenlerin neden olduğu infeksiyonlar giderek yaygınlaşmıştır⁽²⁰⁾.

Günümüzde metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) kökenlerinin görülme sıklığı ülkelere, bölgelere, hastanelere ve hatta aynı hastane içindeki servislere göre bile farklılıklar gösterebilmektedir^(15,17,18). Hastane kökenli stafilokoklarda metisilin direnci toplumdan izole edilenlere göre belirgin olarak daha sıktır. MRSA'lar beta-laktam antibiyotiklere dirençli olmasına rağmen farklı gruptan birçok antibiyotığe de yüksek oranda dirençlidirler. MRSA tedavisinde uzun yıllardır kullanılan vankomisine de son yıllarda orta duyarlı ve dirençli suşların geliştiği bildirilmektedir. Bu nedenle glikopeptidlerin tedavide dikkatli kullanılması önerilmektedir⁽²⁰⁾.

Son yıllarda Gram pozitif bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotiklerin kimyasal yapıları farklı olmakla birlikte etki mekanizmaları birbirine benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla MLS_B antibiyotiklerden herhangi birinde dirence neden olan genler aynı gruba ait diğer antibiyotiklerde de çapraz direnç gelişimine neden olabilmektedir. MLS_B grubu antibiyotiklere direnç, fenotipik olarak indüklenebilir veya

yapısal direnç şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Eritromisine direncin efluks nedeniyle olduğu durumlarda eritromisine dirençli olan suş klindamisine duyarlı olarak saptanmakta iken, makrolid direncinin ribozomal metilasyondan kaynaklandığı durumlarda ilgili suş klindamisine duyarlı (indüklenebilir direnç) veya klindamisine dirençli (yapısal direnç) olabilmektedir^(10,16,19,20).

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen hastane kökenli *S.aureus* suşlarında yapısal (cMLS_B) ve indüklenebilir (iMLS_B) klindamisin direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Temmuz 2007-Haziran 2008 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yakutiye Araştırma Hastanesi'nde yatmakta olan hastalardan alınan çeşitli klinik örneklerden (kan, yara yeri, idrar, balgam) soyutlanan 107 *S.aureus* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. *S.aureus* suşlarının tanımlanması kanlı agar besiyerindeki koloni morfolojisi, Gram pozitif boyanma özelliği, katalaz testi ve tüpte koagülaz testi değerlendirilerek yapılmıştır. Metisilin direnci sefoksitin 30 µg (Oxoid) diski kullanılarak, iMLS_B direnci ise D-test yöntemi ile CLSI kriterlerine göre disk difüzyon ile değerlendirilmiştir⁽⁴⁾. Eritromisin ve klindamisin diskinin çevresinde inhibisyon zonunun oluşmaması durumu ise yapısal cMLS_B direnci olarak değerlendirilmiştir⁽²²⁾. Çalışmaya alınan suşlarda eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı olup indüklenebilir direnç göstermeyen kökenler MS fenotipi (efluks) olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 107 *S.aureus* suşunun 57'si (% 53) MRSA, 50'si (% 47) metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) olarak bulunmuştur. Duyarlılık testi yapılan MRSA suşlarının 12'si (% 21) klindamisine, 32'si (% 56) ise eritromisine dirençli olarak bulunmuştur. MSSA suşlarında ise klindamisine direnç saptanmazken, 2 (% 4) suşa eritromisine karşı direnç tespit edil-

miştir.

MRSA suşlarının % 21'inde cMLS_B, % 30'unda ise iMLS_B direnci saptanırken, MSSA suşlarında bu oranlar sırasıyla % 0 ve % 4 olarak bulunmuştur. cMLS_B ve iMLS_B direnci MRSA suşlarında MSSA suşlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.05). Test edilen *S.aureus* suşlarında saptanan direnç fenotipleri tabloda gösterilmiştir.

Tablo. Hastane kaynaklı MSSA ve MRSA'larm direnç fenotipleri.

Fenotip	MRSA (n=57)	MSSA (n=50)
cMLSB	12 (% 21)	0
iMLSB	17 (% 30)	2 (% 4)
MS	3 (% 5)	0

Eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı 20 MRSA suşunun 17'sinde (% 85), iki MSSA suşunun ise her ikisinde indüklenebilir klindamisin direnci saptanmıştır.

TARTIŞMA

Stafilokokal infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotik grupları arasında makrolid ve linkozamidler de yer almaktadır^(13,14). Son zamanlarda kullanıma giren streptograminler de benzer etki mekanizmasına sahiptir. Bu antibiyotikler özellikle deri ve yumuşak doku infeksiyonları başta olmak üzere stafilokoklarla oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır^(14,21).

Stafilokoklarda makrolid direnci, hedef bölge modifikasyonu, antibiyotiğin aktif eflüks pompası ile atılması ve ilacın inaktivasyonu ile gerçekleşmektedir. *erm* genleri hedef bölge modifikasyonundan sorumlu iken, *msrA* aktif eflükstan sorumludur. Bu gene sahip stafilokoklarda yalnız makrolid ve streptograminlere direnç gelişimi söz konusudur⁽⁵⁾.

Makrolid ve linkozamidlerde en yaygın görülen direnç gelişimi *erm* genleri ile olanlardır. Stafilokoklarda *erm* genleri ile direnç geliştiğinde makrolid, linkozamid ve streptogramin B arasında çapraz direnç gelişimi de söz konusu olmakta, bu durum MLS_B fenotipinde direnç

gelişimi olarak adlandırılmaktadır. Yapısal ve indüklenebilir MLS_B direncinden sıklıkla *erm(A)* ve *erm(C)* genleri sorumludur⁽¹⁾.

Stafilokoklarda cMLS_B varlığında tüm makrolidlere, linkozamidlere ve streptogramin B'ye direnç söz konusu iken streptogramin A'ya direnç gelişimi yoktur^(3,10). iMLS_B fenotipinde olan suşlarda tüm makrolidlere, linkozamidlere ve streptogramin B'ye dirençli olarak bildirilmelidir. MS tipi direnç mekanizmasında sadece makrolidlere karşı direnç söz konusudur⁽¹⁰⁾.

Yunanistan'da 2002-2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada MRSA'larda cMLS_B direnci % 47, iMLS_B direncini % 15, MSSA'larda ise bu oranlar sırasıyla % 13 ve % 20 bulunmuştur⁽⁸⁾. Güney Kore'de 2004 yılında yapılan çalışmada ise MRSA'larda cMLS_B direnci % 79, iMLS_B direnci % 4, MSSA'larda ise bu oranlar sırasıyla % 6 ve % 9 olarak saptanmıştır⁽¹²⁾.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Yılmaz ark.⁽²³⁾ 2003-2005 yılları arasında Trabzon'da izole ettikleri MRSA'larda cMLS_B direncini % 44.2, iMLS_B direncini % 24.4; MSSA'larda ise cMLS_B direncini % 4.5 ve iMLS_B direncini % 14.8 oranında bulmuşlardır. Aktaş ve ark.⁽¹⁾ 2003-2004 yılları arasında İstanbul'da 22 MRSA suşunda cMLS_B oranını % 63, iMLS_B ve MS fenotip direnç oranını % 18 olarak bulmuşlardır. Isparta'da 2006 yılında izole edilen stafilokoklarla yapılan bir çalışmada MRSA'larda cMLS_B % 23.7, iMLS_B % 25.4; MSSA'larda ise aynı sırayla % 2.0 ve % 8.9 oranında fenotipik direnç saptanmıştır⁽³⁾.

Çalışmamızda ise MRSA suşlarının % 21'inde cMLSB, % 30'unda ise iMLS_B direnci tespit edilmiştir. MSSA suşlarında ise cMLS_B saptanmışken, iMLS_B direnci % 4 olarak bulunmuştur.

Ankara'da birbirine yakın zaman içerisinde yapılan 2 ayrı çalışmada Dizbay ve ark.⁽⁶⁾ MRSA'larda cMLSB direnç oranını % 64.6, iMLS_B direnç oranını % 6.2; Doğruman Al ve ark.⁽⁷⁾ ise cMLS_B direnç oranını % 50.8, iMLS_B direnç oranını % 20.6 olarak bulmuştur. Schreckenberger ve ark.⁽¹⁸⁾ tarafından aynı bölgede bulunan iki farklı hastanede yapılan çalışmada MRSA'larda iMLS_B direnç oranlarını % 7 ve % 12; MSSA'larda cMLS_B oranlarını % 3 ve % 20 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak aynı bölgede ya da hastanedeki

direnç oranlarının farklılık gösterebildiği anlaşılmaktadır. Antibiyotik kullanımı, direnç gelişimi ile ilişkili önemli bir neden olmakla birlikte; hastaneler, bölgeler ve ülkeler arasında görülen direnç oranlarındaki farklılıklar tek bir nedene bağlanmayıp birçok faktörle (sosyal, kültürel, ekonomik, mesleki, eğitimsel ve yönetsel) ilişkilendirilmektedir⁽¹¹⁾.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları çeşitli bölgelerde yapılan çalışmalarla karşılaştırdığımızda bölgemizden soyutlanan MRSA'larda cMLS_B fenotipindeki direnç oranının daha düşük olduğu, iMLS_B oranının ise daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bölgemizden soyutlanan MSSA'larda ise her iki direnç fenotipinin de daha düşük olduğu görülmektedir.

Ankara'da yapılan iki ayrı çalışmanın her ikisinde de MRSA'larda MS fenotipinde direnç saptanmamıştır^(6,7). Dizbay ve ark.⁽⁶⁾ çalışmalarında 68 MSSA kökeninden birinde MS fenotipinde direnç bulmuştur. Aktaş ve ark.⁽¹⁾ ise 22 MRSA kökeninin 4 (% 18)'ünde ve 2 MSSA kökeninin birinde MS fenotipinde direnç saptamışlardır. MS fenotipindeki direnç oranı bölgemizden soyutlanan MRSA'larda % 5 olarak bulunmuş iken MSSA'larda saptanmamıştır.

Stafilokoklara uygulanan rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde eritromisin dirençli suşlar tespit edildiğinde, bu suşların makrolid-linkozamid-streptogramin B direnci yönünden de değerlendirilmesi olası tedavi başarısızlıklarının önüne geçilmesinde önemli bir yaklaşım olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Aktas Z, Aridogan A, Kayacan CB, Aydın D: Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey, J Microbiol 2007;45(4):286-90.
2. Cercenado E, Ruiz de Gopegui E: Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Enferm Infecc Microbiol Clin 2008;26 (Suppl 13):19-24.
3. Cetin ES, Gunes H, Kaya S, Aridogan BC, Demirci M: Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates, Int J Antimicrob Agents 2008;31(4):364-8.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement M100-S18, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2008).
5. Çavuşoğlu C (Konu çevirisi): Patojen bakterilerde antimikrobiyal direnç genlerinin saptanması ve tanımlanması, "Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (çeviri editörleri): Klinik Mikrobiyoloji" kitabında s.1248-67, Atlas Kitapçılık, Ankara (2009).
6. Dizbay M, Günel O, Ozkan Y, Ozcan Kanat D, Altunçekiç A, Arman D: Nozokomiyal stafilokok izolatları arasında yapısal ve indüklenebilir klindamisin direnci, Mikrobiyol Bül 2008;42(2):217-21.
7. Doğruman Al F, Akca G, Aykan B, Sipahi AB, Çağlar K: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus suşlarında kinupristin/dalfopristin, linezolit duyarlılıkları ve makrolit-linkozamid-streptogramin B direnci, İnfeksiyon Derg 2008;22(3):153-63.
8. Fokas S, Fokas S, Tsironi M, Kalkani M, Dionysopouloy M: Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant Staphylococcus spp., Clin Microbiol Infect 2005;11(4):337-40.
9. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M et al: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in three communities, N Engl J Med 2005;352(14): 1436-44.
10. Gülay Z: Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu, Toraks Derg 2002;3(1):75-88.
11. Köksal İ: Global direnç oranlarında bölgesel farklılıklar: Neden? EKMUD Bilimsel Platformu, Ankara, 5-8 Ekim (2006).
12. Lim HS, Lee H, Roh KH et al: Prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococcal isolates at a Korean tertiary care hospital, Yonsei Med J 2006;47(4):480-4.
13. Maravic G: Macrolide resistance based on the erm-mediated rRNA methylation, Curr Drug Targets Infect Disord 2004;4(3):193-202.
14. Patel M, Waites KB, Moser SA, Cloud GA, Hoesley CJ: Prevalence of inducible clindamycin resistance among community and hospital-associated Staphylococcus aureus isolates, J Clin Microbiol 2006;44(7):2481-4.
15. Peters G, Becker K: Epidemiology, control and treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Drugs 1996;52(Suppl 2):50-4.
16. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H: Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants, Antimicrob Agents Chemother 1999;43(12):2823-30.

17. Savaş L, Duran N, Önen Y, Savaş N, Erayman M: Prospective analysis of antibiotic susceptibility patterns of MRSA in a Turkish University Hospital, Turk J Med Sci 2005;35:323-7.
18. Schreckenberger PC, Ilendo E, Ristow KL: Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci in a community and a tertiary care hospital, J Clin Microbiol 2004;42(6):2777-9.
19. Sesli Çetin E, Güneş H, Aynali A, Kaya S, Ardoğan BC, Demirci M: Makrolid-linkozamid-streptogramin B direnci gözlenen klinik stafilokok izolatlarında fusidik asidin in-vitro aktivitesinin değerlendirilmesi, ANKEM Derg 2008;22(2):59-63.
20. Ulusoy S: Çoğul dirençli Gram pozitif bakteriler, "Doğanay M, Ünal S (eds): Hastane İnfeksiyonları" kitabında s.247-67, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2003).
21. Ulusoy S: Streptograminler (kinopristin/dalfopristin), ANKEM Derg 2004;18(Ek 2):174-7.
22. Weisblum B: Erythromycin resistance by ribosome modification, Antimicrob Agents Chemother 1995;39(3):577-81.
23. Yılmaz G, Aydın K, Iskender S, Caylan R, Koksall I: Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci, J Med Microbiol 2007;56(3):342-5.