

# KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARINDA MAKROLİD-LİNKOZAMİD-STREPTOGRAMİN B (MLS<sub>B</sub>) DİRENÇ FENOTİPLERİ

Pınar ŞAMLIOĞLU, Gülfem ECE, Sabri ATALAY, Şükran KÖSE

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İZMİR

## ÖZET

*Tedavisi sorun oluşturan toplum ve hastane kaynaklı dirençli stafilocok infeksiyonlarında, mikrobiyoloji laboratuvarlarının görevi makrolid-linkozamid-streptogramin B direncini de ortaya koymaktır. Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında MLS<sub>B</sub> direnci ve fenotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği Mikrobiyoloji Laboratuvarında 2010-2011 yıllarında klinik örneklerden tanımlanan toplam 100 stafilocok suşu [6 Staphylococcus aureus ve 94 koagülaz negatif stafilocok (KNS)] çalışmaya dâhil edilmiştir. Metisilin direnci sefoksitin diski kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle saptanmış, MLS<sub>B</sub> direnci ise D test yöntemiyle araştırılmıştır. Altı S.aureus suşunun biri metisiline dirençli (MRSA), beşi metisiline duyarlı (MSSA); KNS suşlarının 76'sı metisiline dirençli (MRKNS), 18'i metisiline duyarlı (MSKNS) bulunmuştur. Çalışmaya dahil edilen 100 stafilocok suşunun 87'sinde indulebilir MLS<sub>B</sub> (beşi MSSA, 66'sı MRKNS, 16'sı MSKNS); dokuzunda yapısal MLS<sub>B</sub> (biri MRSA, sekizi MRKNS), dördünde efluks tipi direnç (ikisi MSKNS, ikisi MRKNS suşlarında) fenotipi tespit edilmiştir.*

**Anahtar sözcükler:** antimikrobiyal direnç, linkozamid, makrolid, MLS<sub>B</sub>, stafilocok, streptogramin

## SUMMARY

### Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) Resistance Phenotypes in Staphylococci Isolated from Clinical Samples

*The task of Clinical Microbiology Laboratories also includes to show the macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) resistance in routine practice caused by community and hospital acquired staphylococcal strains. The aim of this study was to evaluate the MLS<sub>B</sub> type resistance and their phenotypes in staphylococcal strains isolated from various clinical samples. One hundred Staphylococcus strains, 6 Staphylococcus aureus and 94 coagulase negative staphylococci [CoNS], isolated from clinical specimens in 2010-2011 at Tepecik Education and Research Hospital were included in this study. Methicillin resistance was detected by cefoxitin susceptibility using disk diffusion method. MLS<sub>B</sub> resistance was shown by D-test method. One of the six S.aureus strains was identified as methicillin resistant (MRSA), five as methicillin susceptible (MSSA); 76 of the CoNS isolates were methicillin resistant (MRCoNS), and 18 were methicillin susceptible (MSCoNS). Out of 100 isolates, eighty seven had inducible MLS<sub>B</sub> (five MSSA, 66 MRCoNS, 16 MSCoNS); nine had structural (one MRSA, eight MSCoNS) and four (two MSCoNS, two MRCoNS) had efflux type resistance.*

**Keywords:** antimicrobial resistance, lincosamide, macrolide, MLS<sub>B</sub>, Staphylococcus, streptogramin

## GİRİŞ

Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) grubu antibiyotikler, kimyasal olarak farklı yapılarda olmalarına rağmen bakteriyel

protein sentezi üzerine benzer etkiler göstermektedirler. Bu nedenle MLS<sub>B</sub> grubu antibiyotiklerden herhangi birine karşı dirence neden olan genler aynı gruba ait diğer antibiyotiklere de çapraz direnç gelişimine neden olabilmektedir<sup>(10)</sup>.

**İletişim adresi:** Pınar Şamlioğlu, Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İZMİR

Tel: (0232) 469 69 69/1791, GSM: (0542) 693 17 95

e-posta: psamlioglu@hotmail.com

Alındığı tarih: 23.05.2012, yayına kabul: 04.07.2012

Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) grubu antibiyotikler, stafilocoklar da dâhil olmak üzere Gram pozitif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu antibiyotikler farklı gruplara ait olmalarına karşın, antibakteriyel etkilerini bakterinin 23S rRNA ribozomal alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe etmek suretiyle gösterirler. Bağlanma bölgesinde meydana gelen mutasyonel bir değişiklik bu üç farklı antibiyotiğe birden direnç gelişmesi (MLS<sub>B</sub> direnci) ile sonuçlanır. Stafilocoklarda makrolid direnci, hedef bölgenin değişmesi, dışa atım pompaları (efluks mekanizması) ve ilacın inaktivasyonu mekanizmaları ile ortaya çıkmaktadır. En sık görülen mekanizma hedef bölge değişikliği olup (MLS<sub>B</sub> direnci), *erm* genlerince kodlanan (stafilocoklarda başlıca *ermA*, *ermB* ve *ermC*) metilaz enzimleri aracılığı ile meydana gelir. MLS<sub>B</sub> direncinin fenotipik ekspresyonu indüklenebilir (iMLS<sub>B</sub>) veya yapısal-konstitütif (cMLS<sub>B</sub>) olabilir. Makrolid direnci, dışa atım mekanizmasına bağlı olarak da gelişebilmektedir. Bu şekilde gelişen dirence makrolid-streptogramin B (MS<sub>B</sub>) direnci adı verilir ve bu tür direnç stafilocoklarda *msrA* geni tarafından kodlanır. Üçüncü mekanizma, antibiyotiklerin çeşitli enzimlerce inaktive edilmesidir ki, bu mekanizma stafilocoklarda nadir görülür<sup>(5-8)</sup>. *Mef* geni varlığı nedeniyle oluşan pompa sistemine bağlı M fenotipi, 14 ve 15 üyeli makrolidlere karşı direnç, linkozamid ve streptogramin antibiyotiklere karşı ise duyarlılığı ile tanımlanır. İlaç inaktivasyon mekanizması (L fenotipi), eritromisine (E) duyarlı ancak klindamisine (CL) dirençli kökenlerde düşünülmelidir<sup>(6)</sup>.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 2010-2011 yıllarında gönderilen çeşitli klinik örneklerden (kan, yara yeri, bronko-alveoler lavaj sıvısı, balgam, apse, periton sıvısı, trakeal aspirat, eklem sıvısı, beyin-omurilik sıvısı, plevra sıvısı) izole edilen suşlardan % 5 koyun kanlı agar besiyerinde koloni morfolojisi, Gram boyanma özelliği, katalaz testi ve kart koagülaz testi ile *Staphylococcus*

*aureus* veya koagülaz negatif stafilocok (KNS) olarak tanımlanan bakteriler çalışmaya alınmıştır. Metisilin duyarlılıkları, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda, sefoksitin (30 µg) diski kullanılarak belirlenmiştir. Bu suşların MLS<sub>B</sub> direnç fenotipinin belirlenmesinde, eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri kullanılmıştır. Bakteri suşu Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerine yayıldıktan sonra eritromisin ve klindamisin diskleri, aralarında 15 mm olacak şekilde yerleştirilmiştir. Plaklar aerop ortamda 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Klindamisin diskinin üreme zonunun, eritromisin diskinin kenarında düzleşme olması (D zonu olarak tanımlanan bölgenin oluşması) indüklenebilir klindamisin direnci (iMLS<sub>B</sub>) olarak tanımlanmıştır. Klindamisin ve eritromisin disklerinin çevresinde inhibisyon zonu oluşturmayan suşların MLS<sub>B</sub> grubu antibiyotiklere yapısal olarak (konstitütif, cMLS<sub>B</sub>) dirençli olduğu kabul edilmiştir. Eritromisin diski çevresinde inhibisyon zonu yokken klindamisin diski çevresinde D zon olmadan inhibisyon zonu olması efluks tipi direnç olarak değerlendirilmiştir. Kontrol suşu olarak *S.aureus* ATCC 29123 kullanılmıştır<sup>(2,13)</sup>.

## BULGULAR

Çalışmaya 100 stafilocok suşu alınmıştır. Tanımlanan altı *S.aureus* suşunun biri (% 17) metisiline dirençli (MRSA), beşi (% 83) metisiline duyarlı (MSSA) bulunmuştur. KNS suşlarının 76'sı (% 81) metisiline dirençli (MRKNS), 18'i (% 19) metisiline duyarlı (MSKNS) bulunmuştur. Çalışmaya dahil edilen 100 stafilocok suşunun 87'sinde indüklenebilir MLS<sub>B</sub> (beş MSSA, 66 MRKNS, 16 MSKNS), dokuzunda yapısal MLS<sub>B</sub> (bir MRSA, sekiz MRKNS), dördünde

**Tablo.** *S.aureus* ve KNS suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri [n=%].

Fenotip	MSSA	MRSA	MSKNS	MRKNS	Toplam
iMLS <sub>B</sub>	5		16	66	87
cMLS <sub>B</sub>		1		8	9
Efluks			2	2	4

efluks tipi direnç (iki MSKNS, iki MRKNS) fenotipi tespit edilmiştir (Tablo).

## TARTIŞMA

Stafilokokların etken olduğu özellikle deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde klindamisin sık kullanılan bir antibiyotiktir. Penisilin grubu ilaçlara alerjisi olan hastalarda penisiline alternatif bir ilaçtır. Ancak son zamanlarda artan MLS<sub>B</sub> direnci nedeniyle tedavide sorunlar yaşanabilmektedir. Klindamisine karşı indüklenebilir direncin araştırılması bu tedavi başarısızlığının önlenmesi açısından önemlidir<sup>(12)</sup>.

Stafilokoklarda MLS<sub>B</sub> grubu antibiyotiklere karşı direnç ya *msrA* geni tarafından kodlanan ve makrolidler yanında B grubu streptograminlere dirençten sorumlu olan aktif dışarı atma mekanizmasıyla (efluks) ya da daha sık olarak görülen bakteri ribozomunda bulunan hedef molekülde değişiklik meydana gelmesiyle oluşur. Yapısal dirence sahip suşlar tüm MLS<sub>B</sub> grubu antibiyotiklere dirençlidirler. İndüklenebilir direnç ise makrolid grubu antibiyotiklerden olan, eritromisin veya azitromisin gibi güçlü metilaz indükleyicilerinin varlığında ortaya çıkar. Zayıf indükleyiciler olan spiramisin, klindamisin ve kinupristin varlığında iMLS<sub>B</sub> direnci taşıyan suşlar yanlışlıkla duyarlı olarak görülürler. Bu nedenle iMLS<sub>B</sub> direnci disk difüzyon yöntemiyle indüksiyon testi yapılarak gösterilmelidir. Klindamisin, stafilokokların neden olduğu infeksiyonlarda etkin ve güvenilir olarak geniş kullanım bulmasına rağmen, son zamanlarda gelişen iMLS<sub>B</sub> direnci nedeniyle tedavide sorunlara neden olmaktadır. iMLSB direnci araştırılmadığı takdirde klindamisine yanlış olarak duyarlılık saptanacak ve bu durum tedavide başarısızlığa yol açacaktır<sup>(1,4,5,9, 11)</sup>.

Sarıbaş ve ark.<sup>(8)</sup>'nin Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastane'sinden yaptıkları çalışmada klinik örneklerden izole edilen 381 *S.aureus* ve 94 koagülaz-negatif stafilokok (KNS) suşu incelenmiştir. Suşlarda MLS<sub>B</sub> direncinin araştırılmasında disk yaklaşırma yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan *S.aureus* suşlarının 112 (% 29.4)'si ve KNS suşlarının 58 (% 61.7)'i

eritromisine dirençli bulunmuştur. Eritromisine dirençli suşlar içinde en yaygın direnç paterni olarak indüklenebilir MLS<sub>B</sub> (iMLS<sub>B</sub>) direnci saptanmıştır. iMLS<sub>B</sub> direnci eritromisine dirençli *S.aureus* suşlarında % 56.2, KNS suşlarında ise % 41.4 olarak belirlenmiştir. Yapısal (konstitüsyonel) MLS<sub>B</sub> direnci (cMLS<sub>B</sub>) ise *S.aureus* suşlarında % 40.2, KNS'lerde % 34.5 oranlarında gözlenmiştir. Makrolid-streptogramin B (MS<sub>B</sub>) direnç paterni yalnızca KNS'lerde % 24.1 oranında saptanmıştır<sup>(8)</sup>.

Ankara'da birbirine yakın zaman içerisinde yapılan iki ayrı çalışmada Dizbay ve ark.<sup>(3)</sup> MRSA'larda cMLS<sub>B</sub> direnç oranını % 64.6, iMLS<sub>B</sub> direnç oranını % 6.2; Doğruman ve ark.<sup>(4)</sup> ise cMLS<sub>B</sub> direnç oranını % 50.8, iMLS<sub>B</sub> direnç oranını % 20.6 olarak bulmuştur.

Yaşar ve ark.<sup>(12)</sup>'nin yaptığı çalışmada izole edilen 35 *S.aureus* suşunun 14'ü metisiline dirençli, 21'i metisiline duyarlı; 65 KNS'nin 41'i metisiline dirençli, 24'ü metisiline duyarlı bulunmuştur. Çift disk indüksiyon testi ile makrolid dirençleri araştırılan stafilokok suşlarının 79'unda MLS<sub>B</sub> direnç fenotiplerinden biri tespit edilmiştir. İndüklenebilir fenotip-D-test-pozitif 28 (% 35), M fenotipi 24 (% 30), konstitüsyonel (yapısal) fenotip 23 (% 29), L fenotipi 4 (% 5) suшта saptanmıştır. *S.aureus* suşlarında en sık yapısal direnç fenotipi % 62, KNS suşlarında ise M fenotipi (% 60) ve indüklenebilir tip (% 59) görülmüştür.

Ülkemizden iki çalışmada en sık saptanan direnç fenotipinin indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci olduğu bildirilmiştir<sup>(8,10)</sup>.

Çalışmamızda 100 stafilokok suşunun 87'sinde indüklenebilir MLS<sub>B</sub> (beşi MSSA, 66'sı MRKNS, 16'sı MSKNS), dokuzunda yapısal MLS<sub>B</sub> (biri MRSA, sekizi MRKNS), dördünde efluks tipi direnç (ikisi MSKNS, ikisi MRKNS) fenotipi tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile diğer çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda da en sık rastlanan direnç fenotipinin indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci olduğu saptanmıştır<sup>(8,10)</sup>.

## SONUÇ

Hastane ve toplum kökenli stafilokok infeksiyonları tedavide sorun oluşturur.

Stafilokoklara uygulanan rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde eritromisin dirençli suşlar tespit edildiğinde, bu suşların MLS<sub>B</sub> direnci yönünden de değerlendirilmesi gereklidir. Bu grup mikroorganizmalarda MLS<sub>B</sub> direncinin rutin olarak ortaya konması, klinisyenin bu tür enfeksiyonlarda uygun ve etkili tedaviye güvenle başlamasına katkıda bulunacaktır. Her laboratuvarında kolay uygulanabilir, ucuz, tekrarlanabilir bir test olan D-test yöntemi, tedavi başarısızlığının önlenmesi için uygulanmalı ve sonucu klinisyene bildirilmelidir.

### KAYNAKLAR

1. Aktas Z, Aridogan A, Kayacan CB, Aydin D. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey, *J Microbiol* 2007;45(4):286-90. PMID:17846580
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement M100-S21, CLSI, Wayne, PA (2011).
3. Dizbay M, Günel Ö, Özkan Y, Özcan Kanat D, Altunçekiç A, Arman D. Nozokomiyal stafilokok izolatları arasında yapısal ve indüklenebilir klindamisin direnci, *Mikrobiyol Bul* 2008;42(2):217-21. PMID:18697419
4. Doğruman AF, Akca G, Aykan B, Sipahi AB, Çağlar K. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında kinupristin/dalfopristin, linezolid duyarlılıkları ve makrolit-linkozamid-streptogramin B direnci, *İnfeksiyon Derg* 2008;22(3):153-63.
5. Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, Jorgensen JH. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4740-4. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.10.4740-4744.2003> PMID:14532213 PMCID:254362
6. Gönüllü N, Karaköse AR, Çatal F, Küçükbasmacı Ö, Altinkum S, Torun MM. Klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009;39(1-2):12-5.
7. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(12):2823-30. PMID:10582867 PMCID:89572
8. Saribaş Z, Tunçkanat F, Özçakır O, Ercis S. Stafilokok klinik izolatlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) ve telitromisin direncinin araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(2):177-86. PMID:20549951
9. 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. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.6.2777-2779.2004> PMID:15184468 PMCID:427875
10. Uyanık MH, Yazgı H, Bilici D, Özden K, Karakoç E. Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* türlerinde makrolid-linkozamid-streptogramin B direncinin araştırılması, *ANKEM Derg* 2009; 23(2):66-70.
11. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(3):577-85. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.39.3.577> PMID:7793855 PMCID:162587
12. Yaşar KK, Bilir YA, Pehlivanoglu F, Gürsoy S, Şengöz G. Stafilokok suşlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) direnç fenotipi, *Haseki Tıp Bül* 2011;49(3):102-4.
13. Yılmaz G, Aydin K, Iskender S, Caylan R, Koksal I. Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci, *J Med Microbiol* 2007;56(Pt 3):342-5. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.46761-0> PMID:17314364