

# KLİNİK METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARINDA DAPTOMİSİN ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

## In vitro Susceptibility of Daptomycin in Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Clinical Samples

Esin Dogantekin<sup>1,2</sup>, Sibel Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zirve Üniversitesi, Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Gaziantep  
<sup>2</sup>Bingöl Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bingöl

### ÖZ

**Amaç:** Tüm dünyada ve Türkiye'de metisiline dirençli stafilocoklara bağlı enfeksiyonlar tedaviye yanıtızlık ve maliyet artışı gibi önemli sorunlara neden olmaktadır. Daptomisin Gram pozitif hücre zarına bağlanarak dirençli suşlara karşı hızlı bakterisidal etki gösteren bir antibiyotiktir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamıza laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden izole edilen 26 metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) suşu dahil edilmiştir. Daptomisin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) yöntemiyle belirlenmiş ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. MİK değeri  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilen izolatlar daptomisine duyarlı kabul edilmiştir. İzolatların diğer antibiyotiklere duyarlılıkları ise CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanmıştır.

**Bulgular:** Çalışılan tüm MRSA suşları daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur. MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.125  $\mu\text{g/ml}$ , 0.25  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda, daptomisinin MRSA suşlarında in vitro etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Daptomisin, MRSA suşları ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği olarak düşünülebilir.

**Anahtar kelimeler:** Daptomisin, E test, MİK, MRSA, Staphylococcus aureus.

### ABSTRACT

**Objective:** Methicillin resistant staphylococcal infections can cause important problems such as unresponsiveness to treatment and higher costs all around the world and in Turkey. Daptomycin, an antibiotic shows rapid bactericidal effect on resistant isolates by means of binding to Gram positive cell membrane.

**Materials and Methods:** Twenty-six methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from several clinical samples recruited to our laboratory were included in this study. Daptomycin minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined by E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) according to the manufacturer's recommendations and results were evaluated by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards. MIC values  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$  were evaluated as susceptible. Susceptibilities to the other antibiotics were determined by Kirby-Bauer disc diffusion method according to CLSI criteria.

**Results:** All of the isolates were detected as susceptible to daptomycin. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values were 0.125  $\mu\text{g/ml}$  and 0.25  $\mu\text{g/ml}$ , respectively.

**Conclusion:** This study shows in vitro effectivity of daptomycin to MRSA isolates. Daptomycin could be a treatment choice for the clinical infections caused by MRSA.

**Key words:** Daptomycin, E test, MIC, MRSA, Staphylococcus aureus.

Gönderme tarihi / Received: 02.07.2015

Kabul tarihi / Accepted: 12.11.2015

İletişim: Sibel AK, Zirve Üni., Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Gaziantep E-posta: [mdsibelak@gmail.com](mailto:mdsibelak@gmail.com)

## GİRİŞ

Son yıllarda gram pozitif bakterilerin dirençli suşlarına bağlı infeksiyonların sıklığında tüm dünyada artış görülmektedir (1). Dirençli gram pozitif bakterilerden olan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gerek nozokomiyal gerekse toplum kaynaklı infeksiyonlarda artan bir sıklıkta izole edilmektedir (2). Metisilin direncine sahip stafilokoklar tüm beta-laktam grubu antibiyotiklere ilave olarak aminoglikozidler, makrolidler ve linkozamidleri de içeren çoklu ilaç direncine sahip mikroorganizmalardır. Bu nedenle tedavide vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotikler önerilmektedir (3). Ancak glikopeptidlerin yan etkileri ve tedavideki yetersizliklerine bağlı olarak yeni antibiyotiklerin araştırılmasına gereksinim duyulmaktadır (3,4). 1980'li yıllarda kullanıma giren, siklik lipopeptid yapıda bir antibiyotik olan daptomisin bu ihtiyacı karşılamak üzere *Streptomyces roseosporus*'dan fermentasyon yolu ile geliştirilmiştir. Bakterisidal etkili bir antibiyotik olan daptomisin etkisini gram pozitif bakteriler üzerinde ve konsantrasyona bağımlı olarak gerçekleştirmektedir (6). Gram pozitif hücre zarına bağlanarak depolarizasyona ve iyon değişiminde bozulmaya yol açmaktadır. Bunun sonucu DNA, RNA ve protein sentezi inhibe olup, hücre ölümü gerçekleşmektedir (5).

Bu çalışmada, laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden elde edilen MRSA suşlarında çeşitli antibiyotiklere karşı in vitro duyarlılık profillerinin tespit edilmesi ve daptomisin duyarlılığının E-test yöntemiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Şubat 2011-Şubat 2012 tarihleri arasında Bingöl Devlet Hastanesinde çeşitli servislerde yatmakta olan hasta örneklerinden (kan, yara yeri, idrar, periton sıvısı) izole edilen ve enfeksiyon etkeni olarak kabul edilen 26 metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) dahil edilmiştir. Bakterilerin tanımlamaları

konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. Suşlara ait metisilin duyarlılıkları için Mueller Hinton agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) kullanılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre, 30 µg sefoksitin (Oxoid) diski kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır (7). Daptomisin için minimal inhibitor konsantrasyon (MİK) değerleri için E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) metodu ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda belirlenmiştir. CLSI önerileri doğrultusunda minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri  $\leq 1$  µg/ml olan suşlar daptomisine duyarlı kabul edilmiştir. Ayrıca izole edilen MRSA suşları antibiyotik duyarlılıkları, klindamisin (2 µg), eritromisin (15 µg), siprofloksasin (5 µg), trimetoprim/sulfametoksazol (1.25/23.75 µg), gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg) diskleri kullanılarak, CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 standart suşları kontrol olarak kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 26 MRSA suşuna ait antibiyotik duyarlılıkları tablo 1'de verilmiştir. En yüksek direnç % 96 ile gentamisin için saptanırken bunu %92.3 ile siprofloksasin takip etmektedir. 26 MRSA suşunun tamamı daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur ( $\leq 1$  µg/ml). MRSA suşlarının tümü için daptomisin MİK 50 0.125 µg/ml ve MİK 90 0.25 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** MRSA suşlarının antibiyotiklere direnç oranları.

Antibiyotik	Direnç oranı [n (%)]
Amikasin	11 (42,3)
Siprofloksasin	24 (92,3)
Gentamisin	25 (96)
Trimetoprim/sulfametaksazol	4 (15,3)
Klindamisin	6 (23)
Eritromisin	23 (88,4)
Daptomisin	0 (0)

## TARTIŞMA

Günümüzde MRSA'ya bağlı gelişen sepsisler önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Metisilin direnci bu izolatlara bağlı enfeksiyonların tedavisinde önemli zorluklara neden olmakta ve tedavi maliyetlerinde artışa yol açmaktadır (8,9). Metisilin dirençli izolatlara bağlı enfeksiyonların tedavisinde beta-laktam antibiyotiklerin kullanılamaması ve bu izolatların makrolid, aminoglikozid, klindamisin, kloramfenikol ve antiseptiklere daha dirençli olmaları önemli tedavi sorunlarına sebep olmaktadır (10,11). Metisilin direncinin tespit edilmesi etkin tedavi protokollerinin belirlenmesi açısından gereklidir. S.aureus izolatlarında metisilin direnci bölgelerarası farklılıklar gösterebildiği gibi aynı hastanenin farklı bölümlerinde bile farklı direnç oranlarına rastlanabilmektedir (10). Bu nedenle, hastanelerde stafilocok izolatlarının antimikrobiyal direnç profillerini belirlemek hem tedavi protokolüne karar verirken hem de epidemiyolojik değerlendirmeler için son derece önemlidir.

Metisiline dirençli stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin ilk sırada kullanılan antibiyotiktir (12). Ancak glikopeptidlere bağlı yan etkiler ve bu antibiyotiklere dirençli suşların tespit

edilmeye başlanması yeni antibiyotik çalışmalarını gündeme getirmiştir (13). 1980'li yıllarda doğal bir siklik lipopeptid olan daptomisin kullanıma girmiştir (9). Food and Drug Administration (FDA) tarafından Gram pozitif bakterilere bağlı komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile S.aureus'un neden olduğu bakteriyemi ve sağ kalp endokarditinde daptomisin kullanımını onaylanmıştır (14).

Çelikkbilek ve ark. vankomisin, teikoplanin, linezolid ve daptomisin 67 MRSA klinik izolatu üzerine olan etkinliklerini değerlendirdikleri in vitro çalışmada daptomisine ait MİK aralığı 0.05-0.25 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Daptomisin etkinliği vankomisine oranla 8, teikoplanine oranla 16 ve linezolide oranla 4 kat daha fazla bulunmuştur (15).

Sancak ve ark. 299 MRSA kan izolatında E test yöntemi ile daptomisin duyarlılığını değerlendirdikleri çalışmalarında MİK50 ve MİK90 değerlerini sırasıyla 0.5 ve 1 olarak belirlemişlerdir (16).

Rybak ve ark. daptomisin, vankomisin, linezolid ve kinupristin-dalfopristin antibiyotiklerinin 203 Gram pozitif bakteri üzerinde etkilerinin incelendiği çalışmada daptomisin bakterisidal etkinliğinin çalışılan diğer antimikrobiyal ilaçlara kıyasla 8 ila 30 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (17).

Cojutti ve ark. İtalya'da bir kanser merkezinde 5 yıllık izolatları kapsayan çalışmalarında 582 gram pozitif kan izolatının daptomisin, kinupristin-dalfopristin ve linezolid MİK değerleri araştırmışlardır. Tüm izolatların %23'ünü oluşturan metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocokların MİK değerleri daptomisin ve kinupristin-dalfopristin için sırasıyla 1 µg/ml, linezolid için 4 µg/ml olarak tespit edilmiştir (18).

Bizim çalışmamızda 26 MRSA suşunun tümü daptomisine duyarlı bulunmuştur. Daptomisin için MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 0.125 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda daptomisin minimal inhibitor konsantrasyon aralığı 0.13-4 µg/ml arasında değişmektedir (2,17,19).

Yapılan in vitro çalışmalarda daptomisin gram pozitif bakterilerde yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmektedir. Ancak klinik uygulamalarda daptomisin tedavide yetersizliği ile ilgili bildirilen vakalar mevcuttur (19,20). Özellikle yüksek inokulum ile olan infeksiyonlar, endovasküler infeksiyonlar, biyomedikal aletler ve bunların uzamış kullanımı, kemik ve eklem infeksiyonları, hemodiyaliz hastaları daptomisin tedavide yetersizliklerinin karşılaşıldığı durumlardır (14).

Sonuç olarak, daptomisin MRSA gibi dirençli Gram pozitif bakterilerle ilgili infeksiyonlarda glikopeptidlere yanıt alınmadığı durumlarda güvenle kullanılabilir bir tedavi seçeneği olabileceği in vitro olarak tespit edilmiştir.

#### REFERANSLAR

1. Özaras R, Tabak F. Daptomisin. *Klinik Dergisi* 2010; 23(2):35-8.
2. Hancı H, Uyanık MH, Bilici D, Albayrak A. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilocok suşlarında daptomisin etkinliğinin araştırılması, *ANKEM Derg* 2013; 27(2): 64 – 69.
3. Lefebvre M, Jacqueline C, Amador G et al. Efficacy of daptomycin combined with rifampicin for the treatment of experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) acute osteomyelitis. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(6):542-4.
4. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilocok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in vitro duyarlılık sonuçları. *ANKEM Derg* 2009; 23(2):71- 7.
5. Sancak B. *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3):565-76. PMID:21935792.
6. Bayer AS, Schneider T, Sahl HG. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: Role of the cell membrane and cell wall. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1277:139–158.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty second informational supplement. M100- S22, CLSI, Wayne, PA (2012).
8. Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:166–74.
9. Tabak F. 2010'da daptomisin. *ANKEM Derg* 2010; 24(Ek 2):110-3.
10. Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3.051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 University hospitals participating in the European SENTRY study. *J Clin Microbiol* 2001; 39(10):3727-32.
11. Türk Dağı H, Arslan U, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2011; 25(2):84-8.
12. Mangili A, Bica I, Snyderman DR, Hamer DH. Daptomycin resistant, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2005; 40(7):1058-60.
13. Petersen PJ, Bradford PA, Weiss WJ, Murphy TM, Sum PE, Projan SJ. In vitro and in vivo activities of tigecycline (GAR-936), daptomycin, and comparative antimicrobial agents against glycopeptide intermediate *Staphylococcus aureus* and other resistant Gram positive pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(8):2595-601.
14. Moise PA, North D, Steenbergen JN, Sakoulas G. Susceptibility relationship between vancomycin and daptomycin in *Staphylococcus aureus*: facts and assumptions. *Lancet Infect Dis* 2009; 9(10): 617-24.
15. Çelikkbilek N, Özdem B, Gürel FC, Güvenman S, Güner HR, Açıkgöz ZC. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının vankomisin, teikoplanin, linezolid ve daptomisine in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bül* 2011; 45(3):512-8.
16. Sancak B, Yağcı S, Mirza HC, Haşçelik G. Evaluation of vancomycin and daptomycin MIC trends for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates over an 11 year period. *J Antimicrob Chemother* 2013; June: 2689-2691.
17. Rybak MJ, Hershberger E, Moldovan T, Grucz RG. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, linezolid, and quinupristin-dalfopristin against staphylococci and enterococci, including vancomycin intermediate and resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(4):1062-6.
18. Cojutti P, Scarparo C, Sartor A, Coato P, Rigoli R, Pea F. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015 Jan;81(1):53-6.
19. Marty FM, Yeh WW, Wennersten CB, Venkataraman L, Albano E, Alyea EP, et al. 2006. Emergence of a clinical daptomycin resistant *Staphylococcus aureus* isolate during treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and osteomyelitis. *J. Clin. Microbiol.* 44:595–597.
20. Skiest, D. J. 2006. Treatment failure resulting from resistance of *Staphylococcus aureus* to daptomycin. *J. Clin. Microbiol.* 44:655–656.