

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları

In-vitro susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains to antibiotics

İsmail Güler, Hüseyin Kılıç, M. Altay Atalay, Duygu Perçin, Barış Derya Erçal

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 01.07.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 12.08.2011

ÖZET

Amaç: Hastane ve toplum kaynaklı *S.aureus* suşlarında görülen metisilin direnci ülkemizde giderek artmaktadır. Bu kesitsel çalışmada, çoklu direnç probleminin en çok yaşandığı metisilin rezistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının alternatif antibiyotiklere direnç oranları saptanarak direnç sorununun belirlenmesi.

Gereç ve yöntem: Eylül 2008 ile Ekim 2009 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde yatmakta olan hastaların klinik örneklerinden ardışık olarak izole edilen toplam 100 MRSA suşu çalışmaya alındı. Antimikrobiyal duyarlılıkları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma kapsamına alınan MRSA suşlarının antibiyotiklere direnç oranları sırasıyla; eritromisin %77, trimetoprim/sülfametoksazol (TMP-SXT) %1, rifampisin %90, klindamisin %63, gentamisin %84, teikoplanin ve vankomisin için ise %0 olarak belirlendi.

Sonuç: Tüm MRSA suşları vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Diğer taraftan, TMP-SXT MRSA tedavisinde alternatif ajan olarak görünmektedir.

Anahtar kelimeler: antibiyotik direnci, *Staphylococcus aureus*, metisilin direnci

GİRİŞ

Staphylococcus aureus hem hastane hem de toplum kaynaklı infeksiyonların önemli bir nedenidir.¹⁻³ Başta yara ve yumuşak doku infeksiyonları olmak üzere, septik artrit, osteomyelit, bakteriyeminin önemli nedeni olan *S.aureus*, son yıllarda hastane

ABSTRACT

Objectives: Methicillin resistance of *S.aureus* strains sourced from hospitals and community-acquired has been increasing. The aim of this cross-sectional study is to determine the resistance rates to alternative antibiotics of methicillin resistant *S.aureus* (MRSA) strains, where the multiple resistances are encountered the most.

Materials and methods: A total of 100 MRSA strains isolated consequently from the clinical samples of hospitalized patients in Erciyes University Medical Faculty Hospitals between September 2008 and October 2009 were included in the study. According to "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" criteria, antimicrobial susceptibility testing was performed by Kirby-Bauer disk diffusion method.

Results: The rates of resistance to antibiotics of the MRSA strains included within the study were 77% to erythromycin, 1% to trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP-SXT), 90% to rifampin, 63% clindamycin, 84% to gentamicin and 0% to teicoplanin and vancomycin.

Conclusion: All MRSA strains were susceptible to vancomycin and teicoplanin. On the other hand, TMP-SXT seems to be alternative agent for treatment of MRSA infections.

Key words: Antibiotic resistance, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistance

infeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır.⁴

Bin dokuz yüz altmış yılında stafilokokların penisilini parçalayan enzimlerine (penisilinaz) dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin geliştirilmiştir. Bu sayede, stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde büyük başarı kazanılmıştır. Ancak

bu başarının üzerinden henüz bir yıl geçmişken, stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmış ve 1970'li yılların sonu ile 1980'li yılların başlarından itibaren de metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci ortaya çıkmaya başlamıştır. Günümüzde direnç sorununun giderek yaygınlaşması ile birlikte MRSA tüm dünyada hastane infeksiyonu salgınlarına yol açan çok ciddi bir sorun haline gelmiştir.³⁻⁷ MRSA'da metisiline duyarlı *S.aureus*'da bulunmayan ve SCCmec olarak isimlendirilen bir direnç adası bulunmaktadır. SCC, "staphylococcal cassette chromosome" için; mec ise metisilin direncine neden olan genetik elemanı simgelemek için kullanılmaktadır.⁸ mecA, penisilin bağlayan proteinler (PBP)2a olarak isimlendirilen ve metisilin ile diğer beta-laktam ilaçların çoğuna afinitesi düşük olan farklı bir PBP'i kodlamaktadır. Metisilin direncinin düzenlenmesinde mec bölgesi dışında "factors essential for the expression of methicillin resistance" (fem) genleri olarak tanımlanmış genler de görev almaktadır. fem faktörleri, metisiline duyarlı ve dirençli suşlarda bulunabilmektedir.⁹

Metisiline dirençli *S.aureus* suşlarının yol açtığı infeksiyonların tedavisinde beta-laktam grubu dışındaki antibiyotikler ön plana çıkmakta ve bu antibiyotiklerin etkinliğinin ise antibiyotik duyarlılık testleriyle belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu suşların çoğunlukla çoklu ilaç direnci ile seyretmesi ve tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı sonucu gittikçe artan oranda ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır.^{10,11}

Bu kesitsel (cross-sectional) çalışmada, hastanemizde klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarında çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Eylül 2008 ile Ekim 2009 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi klinik servislerinde yatan hastalardan, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarı Bakteriyojoloji Ünitesine gönderilen değişik klinik örneklerden ardışık olarak izole edilen *S.aureus* suşları metisilin direnci yönünden incelendi ve 100 MRSA suşu çalışma kapsamına alındı. Aynı hastadan izole edilen ardışık suşlar test edilmedi.

Gelen örnekler, %5 koyun kanlı Triptik Soy Agar besiyerine ekilerek, 18-24 saat 35°C-37°C'de inkübe edildi. Kanlı agarda üreyen izolatlar, Gram boyama, katalaz, trehaloz-mannitol, tüp koagülaz ve DNase testleriyle tanımlandı. Klasik bakteriyolojik yöntemlerle tanımlanan *S.aureus* suşlarının duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda çalışıldı. Suşların taze kültürlerinden steril serum fizyolojik içerisinde, 0.5 McFarland standardına göre süspansiyon hazırlandı ve steril bir eküvyon yardımıyla Mueller Hinton agar (MHA) besiyerinin yüzeyine homojen olarak yayıldı. MHA besiyerleri oda ısısında 5-10 dk. bekletildikten sonra besiyerinin yüzeyine sefoksitin (30 µg) (Oxoid, UK) diski yerleştirildi ve 35 °C'de etüvde 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra oluşan inhibisyon zonları CLSI kriterlerine göre < 21 mm ise metisilin direnci, > 22 mm ise metisilin duyarlılığı olarak kabul edildi.^{12,13}

Diğer antibiyotiklere duyarlılık testleri eritromisin, trimetoprim/sülfametoksazol (TMP-SXT), rifampisin, klindamisin, gentamisin, vankomisin, teikoplanin ticari diskleri kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI önerileri dikkate alınarak MHA besiyerinde standartlara uygun olarak yapıldı.¹²

BULGULAR

Çalışmada her hastanın sadece bir klinik örneği işleme alınmıştır. Örneklerin %40 gibi büyük bir bölümü farklı yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nden gönderildi. Bunu %18 ile çeşitli cerrahi servisler (Genel Cerrahi Servisi, Göğüs Cerrahi Servisi, Ortopedi Servisi, Plastik Cerrahi Servisi, Kalp Damar Cerrahi Servisi), %15 ile Erişkin Enfeksiyon Hastalıkları Servisi ve %11 ile Hematoloji-Onkoloji Servisi izledi. MRSA suşlarının %94'ü erişkin hasta örneklerinden, %6'sı pediatrik hasta örneklerinden izole edildi. MRSA suşlarının izole edildiği klinik örneklerlere göre dağılımı ve antibiyotiklere direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışma kapsamına alınan MRSA suşları, eritromisine %77, TMP-SXT'e %1, rifampisine %90, klindamisine %63, gentamisine %84 oranında dirençli bulundu, teikoplanin ve vankomisine dirençli suş saptanmadı. Sadece glikopeptid duyarlı çoklu dirençli suş saptanmamıştır. TMP-SXT dirençli olan tek suş glikopeptidler dışında klindamisine duyarlı bulundu.

Tablo 1. MRSA suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre dağılımı ve antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	E	TMP-SXT	R	V	T	Cl	GM
Örnek (n)	n (%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Yara (41)	31 (75.6)	0 (0)	36 (87.8)	0 (0)	0 (0)	29 (70.7)	33 (80.4)
Kan (26)	18 (69.2)	1 (3.8)	22 (84.6)	0 (0)	0 (0)	16 (61.5)	20 (76.9)
Balgam(8)	7 (87.5)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (87.5)	7 (87.5)
Katater Ucu (8)	7 (87.5)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (87.5)	8 (100)
ETA (6)	5 (83.3)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	5 (83.3)	6 (100)
NTA (4)	3 (75)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (75)	3 (75)
Abse (3)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	3 (100)
BAL (2)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	2 (100)
Operasyon materyali (1)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (100)
Plevral mayi (1)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (100)
TOPLAM (100)	77 (77)	1 (1)	90 (90)	0 (0)	0 (0)	73 (73)	84 (84)

ETA:Endotrakeal aspirat NTA:Nazotrakeal Aspirat BAL:Bronkoalveoler Lavaj, E:Eritromisin

TMP-SXT:Trimetoprim/sülfametoksazol R:Rifampisin V:Vankomisin, T:Teikoplanin Cl:Klindamisin GM:Gentamisin

TARTIŞMA

Metisilin bulunmasından çok kısa bir süre sonra MRSA izolatları ortaya çıkmış ve dünya çapında sağlık kuruluşları ve toplumda giderek artan bir problem haline gelmiştir.¹⁴ Son yıllarda vankomisin dirençliliğinin bildirilmeye başlanması MRSA enfeksiyonları ile mücadelede ciddi endişelere neden olmaktadır.¹⁵

Birçok antibiyotiğe dirençlilik gösteren MRSA 1980'li yıllardan sonra hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir sorun haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, hastanede yatarak tedavi gören yaklaşık 10 hastadan birinde hastane enfeksiyonu ortaya çıkmaktadır.¹⁶ Çoklu dirençliliğe sahip suşların neden olduğu bu tip enfeksiyonları tedavi etmek için daha geniş spektrumlu ve genellikle daha pahalı antibiyotikler kullanmak gerekmektedir.¹⁷ MRSA'lara karşı tüm penisilinler, beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, sefalosporinler ve karbapenemler etkisizdir.¹⁸ Günümüzde MRSA ile enfekte olguların tedavisi ancak; nadiren etkili olan birkaç antibiyotik dışında, glikopeptid antibiyotikler vankomisin ve teikoplanin ile mümkün olabilmektedir.¹⁹

Bu çalışmada MRSA suşlarının tamamı vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da vankomisin direnci bildirilmemiştir. Ertem ark.²⁰ çalışmalarında

çeşitli klinik örneklerden izole edilen 129 *S.aureus* suşu, Çıtak ve Karaçocuk¹⁷ toplum ve hastane kaynaklı 135 MRSA suşu incelemişler ve vankomisin direncine rastlamamışlardır. Bununla birlikte, Naki-poğlu ve ark.²¹ çalışmalarında, 135 *S.aureus* suşundan dokuzunu vankomisinli besiyerinde üretmiştir. Bu dokuz suşun biri vankomisine azalmış duyarlı ve teikoplanine dirençli *S.aureus* suşu olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da teikoplanine dirençli suşlar bildirilmektedir. Güler²², MRSA suşlarında teikoplanine %1.8 oranında direnç, %7.3 orta duyarlılık belirlemiştir. Bu durum, *S.aureus* suşlarında gözlenen teikoplanin direncinin dikkatle izlenmesi ve kontrol edilmesi gerekliliğini düşündürmektedir. Hasbek ve ark.²³ 2002 yılında rifampisin direncini %64 olarak, Ekşi ve ark.²⁴ ise 2007 yılında %73.2 olarak rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da rifampisin direnci %90 gibi yüksek oranda tespit edilmiştir. Bu durum MRSA suşlarında rifampisine karşı giderek artan bir direnç oranı olduğunu göstermektedir.

MRSA suşlarının gentamisine direncini, Ekşi ve ark.²⁴ %76, Çetin ve ark.²⁵ ise %62 olarak belirlerken çalışmamızda bu değer %84'dür. Görüldüğü gibi çalışmamızda gentamisine karşı görülen direnç oranı literatür sonuçlarına göre daha yüksek oranda saptanmış olup; bu bulgu da MRSA suşlarında gentamisine karşı artan bir direnç oranı olduğunu düşündürmektedir.

Çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri MRSA'larda eritromisin direncini Aydın ve ark.¹⁸ %21.5, Baysal ve ark.²⁶ %59.2, Hasbek ve ark.²³ %52 olarak vermektedir. Çetin ve ark.²⁵ yara örneklerinden izole edilen MRSA suşlarında eritromisin direncini %70 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda da MRSA suşlarında eritromisin direnci %77 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda, MRSA suşlarında klindamisin direnci %63 olarak bulunmuştur. Klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarında klindamisin direnç oranları da çeşitli çalışmalarda farklılık göstermektedir. Aydın ve ark.¹⁸ %28 oranında direnç bulurken, Hasbek ve ark.²³ %72 oranında klindamisin direnci bildirmişlerdir.

Çalışmamızda MRSA suşlarında vankomisin ve teikoplanine karşı direnç gözlenmemiştir. Bunlardan sonra en etkili görünen antibiyotik TMP-SXT olarak tespit edilmiştir. Arıdoğan ve ark.²⁷ MRSA suşlarında TMP-SXT direncini %7, Çetin ve ark.²⁵ %15, Hasbek ve ark.²³ %20 olarak bulmuştur. Doğan ve ark.²⁸ MRSA suşlarında TMP-SXT direncini %28.9 olarak rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ise literatür sonuçlarına göre çok daha düşük oranda TMP-SXT direnci bulunmuştur.

Sonuç olarak, stafilkoklar hem metisilin direncine, hem de çoklu ilaç direncine sahiptir. MRSA suşlarında en etkili antibiyotikler olarak glikopeptidler ve TMP-SXT görünmektedir. Antibiyotik kullanımının kontrolsüz olması ve ampirik tedavilerde yanlış tercihlerin olması direnç probleminin artmasına yol açmaktadır. Bu nedenle MRSA enfeksiyonlarında diğer antibiyotiklere karşı da direnç söz konusu olduğu için antibiyotik seçimi duyarlılık testlerine göre yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Margaret IP, Lyon DJ, Cheng AF. A longitudinal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Hong Kong teaching hospital. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 2004;25(2):126-9.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report: Data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32(8):470-85.
- Wenzel RP, Reagen DR, Bertino JS, Baron EJ, Arias K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus panel's definition and management guidelines. *Am J Infect Control* 1998;26(2):102-10.
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *New Engl J Med* 1998;339(8):520-32.
- Bilgehan H. Gram olumlu koklar: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 2 th edn. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 2000: 239-68.
- Boyce JM, Jackson MM, Pugliese G et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a briefing for acute care hospitals and nursing facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15(2):105-15.
- Haznedaroğlu T. Metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) korunma ve kontrol. 2009:1-9. Ulaşılabileceği adres:<http://www.gata.edu.tr/infkom/MRSA.pdf>
- Ünal S. MRSA problemi. *ANKEM Derg* 2009;23(Ek2):1-12.
- Eliopoulos G: Antimicrobial agents for treatment of serious infections caused by resistant *Staphylococcus aureus* and enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(12):826-31.
- Çetinkaya Y, Ünal S. Stafilkokkal nazal taşıyıcılık önemi ve tedavisi. *Hastane Enfeksiyon Derg* 1999;3(1):22-32.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the Sentry Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32(Suppl 2):114-32.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 12th Informational Supplement M 100-S12, NCCLS, Villanova, PA (2002).
- Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, eds. Gram-Pozitif Bakteri Enfeksiyonları, 1st edn. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004:9-22.
- Tambic A, Power EGM, Talsania H, Anthony RM, French GL. Analysis of outbreak of non-phage-typeable methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by using a randomly amplified polymorphic DNA assay. *J Clin Microbiol* 1997;35(12):3092-7
- Onasanya A, Mignounam HD, Thottappilly G. Genetic fingerprinting and phylogenetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolates from Nigeria. *African J Biotech* 2003;2(8): 246-50.
- Mayon-White R.T, Ducl G, Kereselidze T et al. An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 1988;11(Suppl A):43-8.
- Çıtak S, Karaçocuk E. Hastane ve toplum kaynaklı metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılığı. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2004;26(1):13-7.
- Aydın N, Gültekin B, Eyigör M. Klinik örneklerimizden izole edilen stafilkokların antibiyotik direnci. *ADÜ Tıp Fak Derg* 2001;2(3):21-6.
- Yalçın AN, Hayran M, Ünal S. Economic analysis of nosocomial infections in a Turkish university hospital. *J Chemotherapy* 1997;9(6):411-4
- Tuncer Ertem G, Gültekin B, Aydın N Sakarya S. Klinik örneklerden izole edilen stafilkok suşlarının vankomisin ve

- teikoplanine karşı in-vitro duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 2003;17(2):185-8.
21. Nakipoğlu Y, Katrancı H, Çağatay A ve ark. İstanbul Tıp Fakültesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında glikopeptid direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* 2004;18(4):209-12.
22. Güleroğlu S. Metisiline dirençli stafilocoklarda vankomisin, teikoplanin ve fusidik asit direncinin mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul (2001).
23. Hasbek M, Hakgüden Y, Kaya S, Bakıcı ZM. Stafilocoklarda metisilin direncinin farklı yöntemlerle belirlenmesi ve çoğul antibiyotik direnci. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2002;24(4):179-84.
24. Ekşi F, İclal B, Gayyurhan ED, Çekem G. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* sularının metisilin direncinin belirlenmesi ve antimikrobiyal ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg* 2007;21(1):27-31.
25. Çetin BD, Özcan N, Oktar M, Gündüz A, Gül M. Yara örneklerinden izole edilen stafilocok suşlarının çeşitli antibiyotiklere direncinin azalması. *Şişli Etfal Hast Tıp Bült* 2004;38(2):45-7.
26. Baysal B, Tuncer Y, Eryaman B, Arslan U. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının fusidik asit ve baz antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 2003;17(1):27-30.
27. Arıdoğan A, Atasever L, Bal Çiğdem. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004;34 (1):20-23.
28. Doğan Ö, Yalınay Çırak M, Engin D, Türet S. Klinik örneklerden izole edilen stafilocoklarda metisilin direnci ve çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2005;19(1):39-42.