

# KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) İZOLATLARINDA MAKROLİD-LİNKOSAMİD-STREPTOGRAMİN B DİRENCİ VE FUSİDİK ASİT DUYARLILIĞI

## Macrolide - Lincosamide - Streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) Resistance and Fusidic Acid Susceptibility of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains Isolated from Clinical Samples

Bedia MERT DİNÇ<sup>1</sup>, Nihal KARABİBER<sup>1</sup>, Ebru AYKUT ARCA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Geliş Tarihi: 10.08.2009  
Kabul Tarihi: 18.11.2009

İletişim:  
Bedia MERT DİNÇ  
Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Mikrobiyoloji Lab.  
Kızılay Sokak No: 4  
06100 Sıhhiye - ANKARA

Tel : +90 312 306 10 61  
E-posta : bhdogan@yahoo.com

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı hastanemizde 2006-2009 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 211 MRSA izolatında Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) direnci ve fusidik aside duyarlılığın araştırılmasıdır.

**Yöntem:** Laboratuvarımızda tanımlanan MRSA izolatlarında MLS<sub>B</sub> direnci CLSI kriterlerine uygun olarak eritromisin (2µg, BBL) ve klindamisin (15µg, BBL) diskleri kullanılarak 'D-Test' ile, fusidik asit (10µg, OXOID) duyarlılığı ise disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve Fransa Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyogram Komitesi'nin belirlediği kriterlere göre yorumlanmıştır.

**Bulgular:** İncelenen 211 MRSA izolatının 177 (% 83,9)'sinde indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci, 34 (%16,1)'ünde yapısal MLS<sub>B</sub> direnci tespit edilmiştir. İncelenen suşların 208 (%98,6)'i fusidik aside duyarlı, üçü (%1,4) ise dirençli bulunmuştur.

**Sonuç:** MRSA izolatlarında MLS<sub>B</sub> direncinin tanımlanması tedaviyi yönlendirmede çok önemlidir. MRSA enfeksiyonlarında duyarlılık oranının oldukça yüksek olmasından dolayı, fusidik asit günümüzde de tedavide geçerliliğini koruyan bir ilaçtır.

**Anahtar Sözcükler:** Fusidik asit, MRSA, MLS<sub>B</sub> direnci

### ABSTRACT

**Objective:**The aim of this study was to investigate the Macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) resistance and fusidic acid susceptibility of 211 MRSA strains isolated from clinical samples between 2006-2009 in our hospital.

**Method:** MLS<sub>B</sub> resistance of isolates of MRSA identified in our laboratory was investigated with D-test by using erythromycin (2µg, BBL) and clindamycin (15µg, BBL) discs by disc diffusion method according to CLSI criteria and fusidic acid (10µg, OXOID) susceptibility was investigated by disc diffusion method and interpreted according to the criteria of French Microbiology-Antibiogram Committee.

**Results:** Inducible MLS<sub>B</sub> resistance and constitutive MLS<sub>B</sub> resistance were detected in 177 (83,9 %) and in 34 (16,1 %) of the 211 verified MRSA isolates, respectively. Of 208 (98,6 %) isolates which have been studied were susceptible and 3 (1,4 %) were resistant to fusidic acid.

\* Bu çalışma ANKEM 2009 Kongresinde poster olarak tebliğ edilmiştir.

**Conclusion:** It is very important to determine of MLSB resistance in MRSA strains for the management of the treatment. Due to high susceptibility of MRSA strains, fusidic acid still remains a good alternative in treatment of MRSA infections.

**Key Words:** fusidic acid, MRSA, MLSB resistance.

## GİRİŞ

Stafilokoklar tüm dünyada yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olan, hastane ve toplum kaynaklı birçok enfeksiyonun etkenidirler. *Staphylococcus aureus*, özellikle de metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) izolatlarındaki antimikrobiyal direnç bütün dünyada büyük bir problem olmaya devam etmektedir (1,2).

Stafilokok kaynaklı enfeksiyonlarda tedavide alternatiflerden biri olan Makrolid- Linkozamid-Streptogramin B (MLSB) grubu antibiyotikler farklı kimyasal yapıya sahip olmakla birlikte benzer bir mekanizmayla etkilerini gösterirler. Bu nedenle MLSB antibiyotiklerden birine dirence neden olan genler diğerlerine de çapraz direnç gelişmesine neden olabilmektedir. Dirence neden olan mekanizmaya bağlı olarak MLSB direnci fenotipik olarak, indüklenebilir ya da yapısal direnç şeklinde ortaya çıkabilir (3). MLSB grubu antibiyotiklerden klindamisin MRSA kaynaklı deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında uygun bir seçenektir, ancak indüklenebilir MLSB direnci bu ilacın etkisini sınırlamaktadır (4).

Bakteriyel protein sentezi için gerekli olan elongasyon faktör G (EF-G)'yi bloke etmek yoluyla protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel etkinlik gösteren fusidik asidin etki mekanizmasındaki özgüllük, fusidik asit ile diğer antibiyotikler arasında çapraz direnç gelişimini önlemektedir. Bu nedenle metisiline dirençli stafilokoklar fusidik asite çoğu kez duyarlıdırlar (5).

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde izole edilen MRSA suşlarındaki MLSB direnç fenotiplerini ve fusidik asidin in-vitro etkinliğini araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Nisan 2005-Şubat 2009 tarihleri arasında, T. Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen farklı klinik örneklerden izole edilen 211 MRSA suşu ile çalışılmıştır. MRSA tanımlanması, koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz, tüp koagülaz ve agar tarama testleriyle yapılmıştır(6). Çalışmaya her hastanın bir izolatı dahil edilmiştir.

MRSA izolatlarındaki MLSB direnç fenotipleri eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri kullanılarak D-Test (Disk Yaklaşırma) yöntemi ile araştırılmıştır (7). 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası klindamisin diskinin etrafında oluşan inhibisyon zonunun, eritromisin diskinin etrafında bir küntleşme olması indüklenebilir MLSB (iMLSB) direncini gösterirken, eritromisin ve klindamisin her ikisine de direnç tespit edilmesi yapısal MLSB (yMLSB) direnci olarak değerlendirilmiştir. Fusidik asit duyarlılığı ise 15µg fusidik asit diski kullanılarak test edilmiş ve Fransa Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyogram Komitesi'nin belirlediği kriterlere göre (8) ≥ 22 mm zon çapı duyarlı, 15-21 mm zon çapı orta duyarlı, ≤15 mm zon çapı ise dirençli olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Test edilen MRSA suşlarının klinik örneklere ve kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de, MLSB direnç profili Tablo 2'de ve fusidik asit duyarlılığı Tablo 3'de gösterilmiştir.

Çalışılan 211 MRSA izolatında eritromisine duyarlı suşa rastlanmamıştır. Ancak eritromisin dirençli

**Tablo 1:** İzole edilen MRSA suşlarının örneklerle ve kliniklere göre dağılımı

|                      | Derin trakeal Aspirat (%) | Kan (%)          | Kasık/Koltuk altı sürüntüsü (%) | Mayi (%)      | Balgam (%)       | İdrar (%)      | Toplam     |
|----------------------|---------------------------|------------------|---------------------------------|---------------|------------------|----------------|------------|
| GEC* ve Üroloji YB** | 52 (41,3)                 | 8 (32)           | 3 (37,5)                        | 9 (53)        | 8 (29)           | 2 (28,5)       | 82         |
| KVC*** YB            | 42 (33,3)                 | 3 (12)           | 2 (25)                          | -             | 4 (14,2)         | -              | 51         |
| KBÜ                  | 22 (17,5)                 | 3 (12)           | -                               | -             | 6 (21,4)         | -              | 31         |
| Anestezi Derlenme    | 2 (1,6)                   | -                | -                               | -             | 2 (7,1)          | -              | 4          |
| GEYB                 | 8 (6,3)                   | 1 (4)            | -                               | -             | 1 (3,5)          | -              | 10         |
| GEC                  | -                         | 5 (20)           | 2 (25)                          | 5 (29,4)      | 1 (3,5)          | 1 (14,3)       | 14         |
| KVC                  | -                         | 1 (4)            | 1 (12,5)                        | 1 (5,9)       | -                | -              | 3          |
| Kardiyoloji          | -                         | -                | -                               | -             | 2 (7,1)          | -              | 2          |
| GE                   | -                         | 2 (8)            | -                               | 2 (11,7)      | 3 (10,7)         | -              | 7          |
| Üroloji              | -                         | 2 (8)            | -                               | -             | -                | -              | 2          |
| Poliklinik           | -                         | -                | -                               | -             | 1 (3,5)          | 4 (57,2)       | 5          |
| <b>Toplam</b>        | <b>126 (59,8)</b>         | <b>25 (11,9)</b> | <b>8 (3,8)</b>                  | <b>17 (8)</b> | <b>28 (13,2)</b> | <b>7 (3,3)</b> | <b>211</b> |

\*GEC : Gastroenteroloji Cerrahi

\*\*YB : Yoğun Bakım

\*\*\*KVC : Kardiyovasküler Cerrahi

**Tablo 2:** MRSA suşlarında Eritromisin direncinin ER ve EHR oluşuna göre MLSB fenotipleri

|               | iMLSB (%)         | yMLSB (%)        | Toplam     |
|---------------|-------------------|------------------|------------|
| EHR*          | 139 (78,5)        | 2 (5,8)          | 141        |
| ER**          | 38 (21,5)         | 32 (94,2)        | 70         |
| <b>Toplam</b> | <b>177 (83,9)</b> | <b>34 (16,1)</b> | <b>211</b> |

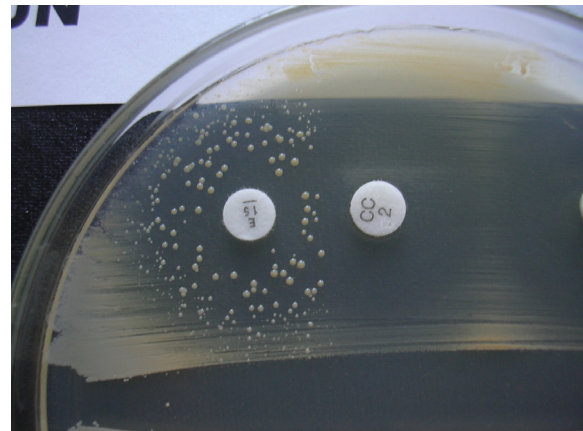
\*EHR : Eritromisine heteroresistans

\*\*ER : Eritromisine rezistans

suşların 141 (% 66,8)'i eritromisine heteroresistans (EHR) (Şekil 1) gösterirken 70 (% 33,2)'i eritromisine homojen olarak dirençli bulunmuştur (Şekil 2). EHR MRSA suşlarımızın D-test ile iMLSB direnci göstermekte olup suşlarımızın çoğunluğu bu fenotiptedir (Şekil 1). İncelenen 211 MRSA izolatının 177 (% 83,9)'ünde indüklenebilir MLSB direnci (Şekil 1 ve 2), 34 (%16,1)'ünde yapısal MLSB direnci (Şekil 3) tespit edilirken, 208 (% 98,6)'i fusidik aside duyarlı, üçü (%1,4) ise dirençli bulunmuştur.

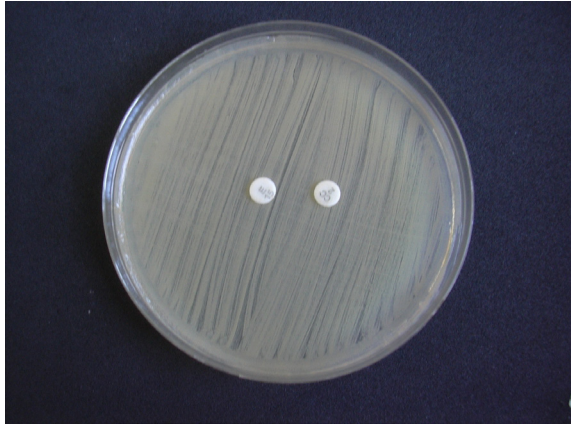
**Tablo 3:** MRSA suşlarında fusidik asit duyarlılığı

|                       | iMLSB (%)         | yMLSB (%)        | Toplam     |
|-----------------------|-------------------|------------------|------------|
| Fusidik asit duyarlı  | 175 (98,8)        | 33 (97)          | 208        |
| Fusidik asit dirençli | 2 (1,2)           | 1 (3)            | 3          |
| <b>Toplam</b>         | <b>177 (83,9)</b> | <b>34 (16,1)</b> | <b>211</b> |

**Şekil 1:** Eritromisine heteroresistant, indüklenebilir MLSB direnci gösteren MRSA izolatı



Şekil 2: Eritromisine homojen resistant induklenebilir MLSB direnci gösteren MRSA izolatı



Şekil 3: Yapısal MLSB direnci gösteren MRSA izolatı

## TARTIŞMA

Stafilokoklarda MLSB grubu antibiyotiklere karşı direnç ya msrA geni tarafından kodlanan ve makrolidler yanında B grubu streptograminlere dirençten sorumlu olan aktif dışarı atma mekanizmasıyla (eflux) ya da -daha sık olarak rastlanan- bakteri ribozomunda bulunan hedef molekülde değişiklik meydana gelmesiyle olur (9). Yapısal dirence sahip kökenler tüm MLSB grubu antibiyotiklere dirençlidirler ve kolay saptanırlar. İndüklenebilir direnç ise makrolid grubu antibiyotiklerden olan, eritromisin veya azitromisin gibi güçlü metilaz indükleyicilerinin varlığında ortaya

çıkır. Zayıf indükleyiciler olan spiramisin, klindamisin ve kinupristin varlığında iMLSB direnci taşıyan kökenler yanlışlıkla duyarlı olarak görülürler (10). Bu nedenle iMLSB direncinin disk difüzyon yöntemiyle indüksiyon testi yapılarak gösterilmesi önerilmektedir (9).

Çeşitli çalışmalarda, Türkiye’de MRSA izolatlarında iMLSB ve yMLSB direnci sırasıyla % 20,6 - % 76,5 (4, 11) ve % 50,8-% 64,6 (11,12) arasında belirtilmektedir. Bizim çalışmamızdaki yMLSB oranı ülkemizdeki çalışmalara göre düşük olup, iMLSB direnci ise paralellik göstermektedir. Eritromisine heterorezistans gösteren MRSA izolatlarımızın özellikleri ile ilgili detaylı çalışma sonuçları daha önce bildirilmiştir. (13, 14). Tekrarlamakta yarar görüyoruz ki, bu suşların otomasyon antibiyogram sistemleri ile saptanması mümkün değildir, mutlaka D-Test yapılmalıdır ve eritromisin zon-içi üreyen kolonilerin daha iyi görülebilmesi için plakların 48 saat inkübe edilmesi gerekebilir. Ayrıca D-Test yapılmadan normal disk difüzyon testi ile de bu suşların eritromisine duyarlı olarak değerlendirilmesi olasıdır. MLSB direnci ile ilgili yurtdışında yapılan çalışmalarda MRSA kökenlerinde Stewart ve ark. (15) iMLSB direncini % 38,3, yMLSB direncini % 29,7; Fiebelkorn ve ark. (9) iMLSB direncini % 29,8, yMLSB direncini % 34,2; Schmitz ve ark. (16) 24 Avrupa hastanesinden topladıkları kökenlerde iMLSB direncini % 7, yMLSB direncini % 97; Otsuka ve ark. (17) Japonya’da iMLSB direncini % 38,7, yMLSB direncini % 61,3 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmalar arasında bu kadar farklılık olması muhtemelen her kurumun, ya da ilgili ülkenin endemik MRSA suşunun hangi fenotipte olduğu ile ilgilidir. Örneğin hastanemizde iMLSB direnç fenotipinde olan 177 suşun 139’u EHR olup bu özellik bizim endemik suşumuza aittir. Diğer fenotipler genellikle başka hastanelerden nakil gelen hastalardan izole edilen suşlardır.

MRSA enfeksiyonlarında hastane dışı tedavide oral bir seçenek olan fusidik asid yıllardır kullanılmaktadır ve buna rağmen fusidik aside karşı MRSA duyarlılığı

ülkemizde % 87-% 97 arasında değişmektedir (2, 18-20) ve bu oranlar yurtdışında yapılan çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (21-23) Bizim çalışmamızda da fusidik asit duyarlılık oranı oldukça yüksektir ve fusidik asit duyarlılığı iMLSb ve yMLSb direnci gösteren suşlarda sırasıyla % 98.8 ve % 97 oranlarıyla benzerlik göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Akçay S Ş, Oğuzoğlu N, İnan A Ş, Küçükercan M, Çobanoğlu F. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları. *KLİMİK Derg* 2005;18(3):117-20.
2. Ekşi F, Gayyurhan E D, Bayram A. Gaziantep Üniversitesi Hastanesinde izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi* 2008; 22(4): 203-8.
3. Sesli Çetin E, Güneş H, Aynalı A, Kaya S, Cicioğlu Ardoğan B, Demirci M. Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B direnci gözlenen klinik stafilocok izolatlarında fusidik asidin in vitro aktivitesinin değerlendirilmesi. *ANKEM Dergisi* 2008; 22(2): 59-63.
4. Colakoğlu S, Alişkan H, Turunç T, Demiroğlu YZ, Arslan H. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2008; 42(3): 407-12.
5. Keşli R, Cander S, Çelebi S: Stafilocok suşlarında fusidik asit direnci. *Kocatepe Tıp Derg* 2004; 1(5): 33-6.
6. Baron EJ, Finegold SM: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 8. baskı, s.205, osby Co., Philadelphia (1990).
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, 2008; 28(1): 164-5.
8. Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie: *Communique* 2005; s.32-5.
9. 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: 4740-4.
10. 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: 2777-9.
11. Doğruman Al F, Akça G, Aykan B, Sipahi A B, Çağlar K. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında Kinupristin/Dalfopristin, Linezolit duyarlılıkları ve Makrolit-Linkozamid-Streptogramin B direnci. *İnfeksiyon Dergisi* 2008; 22(3): 153-63.
12. Dizbay M, Günel O, Ozkan Y, Ozcan Kanat D, Altunçekiç A, Arman D. Nozokomiyal stafilocok izolatları arasında yapısal ve indüklenebilir klindamisin direnci *Mikrobiyoloji Bülteni* 2008;42(2):217-21.
13. Karabiber N, Mert Dinc B.Çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarının antibiyotiplendirilmesi ve eritromisin zon içi üreme gösteren MRSA suşları. *ANKEM Derg*. 2007; 21(1): 51-8.
14. Karabiber N, Mert Dinç B. Erythromycin-heteroresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Infection*, 2008; 14: 626-7.
15. Stewart CD, Raney PM, Morrell AK, et al. Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1716-21.
16. Schmitz FJ, Sadurski R, Kray A, et al. Prevalence of macrolide-resistance genes in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* isolates from 24 European university hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 891-4.
17. Otsuka T, Zaraket H, Takano T, et al. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 325-7.
18. Baysal B, Tuncer I, Erayman B, Arslan U. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının fusidik asit ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi* 2003; 17(1): 27-30.
19. Altun B, Kocagöz S, Hasçelik G, Uzun Ö, Akova M, Ünal S. Çeşitli hastanelerde izole edilen stafilocok suşlarının fusidik asit ve sık kullanılan diğer antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2003; 33(1): 8-11.

20. Yazgı H, Ertek M, Aktaş O. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarının fusidik aside duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2003; 33(1): 12-5.
21. Idrees F, Jabeen K, Khan MS, Zafar A. Antimicrobial resistance profile of methicillin resistant staphylococcal aureus from skin and soft tissue isolates. *J Pak Med Assoc.* 2009; 59(5): 266-9.
22. Randrianirina F, Soares JL, Ratsima E, Carod JF, Combe P, Grosjean P, Richard V, Talarmin A. In vitro activities of 18 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from the Institut Pasteur of Madagascar. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007; 23:6-5.
23. Rennie RP. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to fusidic acid: Canadian data. *J Cutan Med Surg.* 2006; 10(6): 277-80.