

KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ METİSİLİN DİRENCİNİN BELİRLENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL İLAÇLARA DUYARLILIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF METHICILLIN RESISTANCE AND SUSCEPTIBILITY TO VARIOUS ANTIMICROBIAL AGENTS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS ISOLATED IN CLINICAL SPECIMENS

Fahriye EKŞİ İclal BALCI Efgan D. GAYYURHAN Goncanur ÇEKEM

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Anahtar Sözcükler: *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, antibiyotik duyarlılığı

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, antibiotic susceptibility

Geliş: 01 Mayıs 2006

Kabul 28 Haziran 2006

ÖZET

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının metisiline ve tedavide önerilen çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 116 *S. aureus* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi olarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda disk difüzyon testi kullanılmıştır. Suşların metisilin dirençlerinin aranmasında %4 NaCl içeren Mueller-Hinton agar ve 1 µg'lık oksasilin diski kullanılmıştır. Çeşitli örneklerden izole edilen 116 *S. aureus* suşunun 71 (%61.2)'i MRSA, 45 (%38.8)'i de MSSA olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre MRSA suşları siprofloksasine %85.9, rifampine %73.2, gentamisine %76.0, azitromisine %59.2, oranlarında direnç gösterdiği ancak vankomisin ve teikoplanine hepsinin duyarlı olduğu saptanmıştır. MSSA suşlarında ise yüksek oranda penisilin direnci (%91.1) görülürken en etkin antibiyotikler meropenem, sefotaksim ve siprofloksasin olarak bulunmuştur. MRSA'lardaki direnç paterni dikkat çekici olup, henüz vankomisin ve teikoplanine direnç gelişmemiş olması oldukça sevindiricidir.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated in various clinical specimens to methicillin and other various antimicrobials suggested for treatment. In this study, 116 *S. aureus* strains isolated in various clinical specimens were evaluated and their antimicrobial susceptibility tests were performed using disc diffusion method according to the suggestions of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In order to test the susceptibility to methicillin, Mueller-Hinton agar containing 4% NaCl and 1µg oxacillin discs were used. Among 116 *S. aureus* strains evaluated, 71 (61.2%) were found to be resistant to methicillin (MRSA) and 45 (38.8%) were found to be susceptible to methicillin (MSSA). According to the susceptibility results, it was observed that MRSA strains were resistant 85.9% to ciprofloxacin, 73.2% to rifampin, 73.2% to gentamycin, and 59.2% to azithromycin, but all strains were susceptible to teicoplanine and vancomycin. There was a high rate (91.1%) of penicillin resistance for MSSA strains, and the most effective antibiotics were found to be meropenem, sefotaxim and ciprofloxacin for these isolates. As result, the resistance pattern of MRSA strains is remarkable, but on the other hand, it is good to see that there was no resistance to vancomycin and teicoplanin in the present study.

GİRİŞ

Stafilokoklar Türkiye’de ve tüm dünyada, en yaygın hastane infeksiyonu etkenlerindendir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının ve koagülaz-negatif stafilokokların, hastane infeksiyonlarında büyük pay sahibi oldukları görülmektedir. Epidemi yapma potansiyelleri de bulunan stafilokoklar, halk sağlığı yönünden de büyük önem taşımaktadırlar. Antibiyotiklere direnç gelişimi özellikle *S. aureus* suşlarında daha çok görülmektedir (1). *Staphylococcus aureus* önemli bir insan patojeni olarak yer almaktadır (2). *Staphylococcus aureus* fronkül, karbonkül, apse gibi çeşitli deri lezyonlarından, yara infeksiyonlarından ayrıca pnömoni, osteomyelit gibi daha birçok infeksiyondan izole edilmiştir (3).

1940’lı yılların başlarında penisilin G stafilokok infeksiyonlarında başarı ile kullanılmış, ancak bu yılların sonunda penisilin G’ye dirençli suşlar, özellikle hastane infeksiyonlarından izole edilmeye başlanmıştır. Stafilkoklarda metisilin direnci ilk kez 1961 yılında gösterilmiştir. Betalaktam antibiyotikler bakteri hücre duvar sentezinde rol alan PBP’leri inhibe ederek antimikrobiyal etkilerini göstermektedir. Metisiline duyarlı ve dirençli stafilokoklar arasındaki temel fark PBP’lerdedir. Metisilin direnci, duyarlı suşlarda bulunmayan PBP2 ya da 2a denen proteinin varlığına bağlıdır. Direncin nedeni olan 2a’yı kodlayan gen kromozomal DNA üzerinde “Mec” (Metisilin direnç geni) olarak adlandırılan bölgedir. PBP’lerde oluşan değişiklikle meydana gelen metisilin direnci, betalaktamlara genel direncin ifadesidir (1). Metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının çoğu, beta-laktam yapısındaki antibiyotiklerin yanısıra aminoglikozitler, kinolonlar ve klindamisin gibi diğer birçok antibiyotiğe de dirençlidirler. Bu durum bu mikro-organizmayla meydana gelen infeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden izole edilen 116 *S. aureus* suşu alınmıştır. Örneklerin 23’ü kan, 20’si idrar, 20’si yara, 15’i boğaz, 14’ü balgam, dokuzu trakeal aspirat, sekizi bronko-alveolar lavaj (BAL), üçü plöra, ikisi periton, ikisi apsedan izole edilmiştir. Laboratuvara gönderilen örnekler % 5 koyun kanlı agar, eozin-metilen-blue agar besiyerine ekilmiş ve besiyerleri 37° C’de inkübe edilmiştir. Kökenler; koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleriyle (Staphylase, Oxoid) tanımlanmıştır. Elde edilen *S. aureus* suşlarının 83 (%71.6)’ü yatan hasta, 33 (%28.4)’ü de poliklinik hastalarından soyutlanmıştır.

Antimikrobiyal duyarlılık testi olarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (4) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer standart disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Suşların metisilin dirençlerinin aranmasında % 4 NaCl içeren Mueller-Hinton agar ve 1 µg’lık oksasilin diski kullanılmıştır (3, 5, 6). Metisiline dirençli olduğu belirlenen *S. aureus* (MRSA) suşlarının antimikrobiyal duyarlıklarının belirlenmesi için vankomisin, teikoplanin, kloramfenikol, siprofloksasin, rifampin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve azitromisin (Bioanalyse, Ankara), metisiline duyarlı olduğu belirlenen *S. aureus* (MSSA) suşları için de meropenem, sefotaksim, amoksisilin-klavulanat, kloramfenikol, azitromisin, rifampin, penisilin, trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin (Bioanalyse, Ankara) gibi antibiyotikler kullanılmıştır. Orta duyarlı olarak belirlenen suşlar duyarlı olarak kabul edilmiştir. Kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATTC 25923 suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

İzole edilen 116 *S. aureus* suşunun 71 (%61.2) ‘i MRSA, 45 (%38.8)’i MSSA olarak saptanmıştır. MRSA ve MSSA suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen MRSA ve MSSA suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı

Klinik örnek	Sayı	MRSA (n)	MSSA (n)
Kan	23	15	8
İdrar	20	12	8
Yara	20	15	5
Boğaz	15	3	12
Balgam	14	10	4
Trakeal aspirat	9	9	0
BAL	8	3	5
Plöra sıvısı	3	3	0
Periton sıvısı	2	0	2
Apse içeriği	2	1	1
Toplam	116	71	45

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

MRSA suşlarında vankomisin ve teikoplanine direnç saptanmamıştır ancak siprofloksasine %85.9, gentamisine %76.0, rifampine %73.2 ve azitromisine %59.2 gibi yüksek oranda direnç saptanmıştır. MSSA suşlarında da penisiline %91.1 oranında direnç saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. MRSA ve MSSA suşlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	MRSA (n=71)				MSSA (n=45)			
	Dirençli		Duyarlı		Dirençli		Duyarlı	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
Vankomisin	0	0	71	100.0	-	-	-	-
Teikoplanin	0	0	71	100.0	-	-	-	-
Meropenem	-	-	-	-	0	0	45	100,0
Sefotaksim	-	-	-	-	0	0	45	100,0
Amoksisilin-Klavulanat	-	-	-	-	1	2.2	44	97.8
Penisilin	-	-	-	-	41	91.1	4	8.9
Kloramfenikol	9	12.7	62	87.3	2	4.4	43	95.6
Siprofloksasin	61	85.9	10	14.1	0	0	45	100.0
Rifampin	52	73.2	19	26.8	1	2.2	44	97.8
Gentamisin	54	76.0	17	24.0	-	-	-	-
Trimetoprim-Sulfametoksazol	16	22.5	55	77.5	1	2.2	44	97.8
Azitromisin	42	59.2	29	40.8	6	13.3	39	86.7

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

TARTIŞMA

Metisiline dirençli *S. aureus* suşları tüm dünyada hastane epidemilerine yol açmaktadır. Son yıllarda çeşitli direnç determinantlarını taşıyan transpozonların integrasyonu sonucunda metisilin ile birlikte birçok antibiyotiğe çoğul dirençli *S. aureus* suşları ortaya çıkmıştır (7). MRSA suşlarında görülen çoğul antibiyotik direnci klinikte önemli sorunlara yol açmakta ve tedavi maliyetlerini yükseltmektedir. Bu nedenlerle hastanedeki *S. aureus* suşlarının antimikrobiyal direnç durumlarını bilmek son derece önemlidir.

Stafilokoklarda görülen metisilin direnci, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de giderek artış göstermektedir. Bu oranlar ülkelere göre farklılık göstermektedir. Rusya'da 17 merkezli yapılan bir çalışmada (8) bu oran % 0-89.5 arasında bulunmuştur. İtalyada yapılan bir çalışmada (9) bu oran % 45, Korede ise (10) %64 olarak bulunmuştur. Türkiye'deki son yapılan araştırmalarda da bu oranın >%30 olduğu bildirilmiştir (11). Türkiye'deki çeşitli merkezlerde MRSA görülme oranı %57, % 58.5, %62, %33 gibi değerlerde bulunmuştur (5, 12-14). Bu çalışmada ise bu oran % 61.2 olarak saptanmış olup bu sonuç Türkiye'de yapılan birçok araştırma ile uyumludur.

Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direncinin yaygınlaşması ile birlikte bu suşların neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde yaygın bir şekilde vankomisin kullanılmaya başlanmıştır. Vankomisin RNA sentezini inhibe ederek, plazma membran fonksiyonlarını ve hücre

duvarında fosfolipit siklusunu bozarak bakterisidal etki göstermektedir (1). Vankomisin kullanımının yaygınlaşması, vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* suşlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Vankomisine duyarlılığı azalmış ilk suş 1996 yılında Japonya'dan bildirilmiştir, bunu Amerika Birleşik Devletleri ve birçok diğer ülke izlemiştir (15). Bu çalışmadaki MRSA kökenlerinin tümü vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuş, orta duyarlı suşa da rastlanmamıştır.

Çalışmada MRSA suşları siprofloksasine %85.9, rifampine %73.2, gentamisine %76.0, azitromisine %59.2, trimetoprim-sulfametoksazol %22.5 ve kloramfenikole %12.7 oranlarında direnç bulunmuştur. Çalışmada saptanan antimikrobiyal direnç oranları birçok çalışma ile uyumludur. Yorgancıgil ve ark. (16) MRSA suşlarında gentamisine %71.4, siprofloksasine %44.4 ve trimetoprim-sulfametoksazole %38.1; Sancak ve ark. (12) gentamisine %100, siprofloksasine %96.8, azitromisine %53.2, kloramfenikole %21, TMP-SXT'e %6.5 oranlarında, Yıldırım ve ark. (17) ofloksasine %84.4, TMP/SMX'e %8.8 oranlarında; Ertek ve ark. (18) da MRSA suşlarında siprofloksasine %88.9 oranında direnç bulmuşlardır. Kore'de yapılan bir çalışmada Kim ve ark. (10) MRSA suşlarında azitromisine %97.3, ofloksasine %93.8, TMP-SXT'ye %8.9, rifampine %18.0 ve gentamisine %95.0 oranında direnç bulmuşlardır.

Kinolonların oral biyoyararlanımının yüksek olması ve geniş spektrumları nedeniyle klinik kullanımları çok fazladır. Kinolon direnci Türkiye için 1990'lara kadar bir so-

run oluşturmazken bu tarihten itibaren daha yüksek MİK oranları ve %80'lere varan *in vitro* direnç oranları bildirilmeye başlanmıştır (18). *Staphylococcus aureus* suşlarında *nor A* adı verilen bir genin bu grup antibiyotik-leri hücre dışına atan bir aktif pompa sisteminin yapımını sağlayarak dirence yol açtığı gösterilmiştir (19). Bu çalışmadaki sonuçlarda siprofloksasine yüksek oranda direnç geliştiğini desteklemektedir.

Çalışmada gentamisine %76.0 oranında direnç saptanmıştır. Gentamisin direnci de MRSA'larda oldukça yüksek düzeyde bulunmaktadır (12, 16,). Gürler ve ark. (20) 926 metisiline dirençli *S. aureus* kökeninde %76 gentamisin direnci bildirmişlerdir. Demir ve ark. (21) da MRSA suşlarında gentamisine % 68, TMP-SXT 'ye %46, siprofloksasine % 66, rifampine %66 oranında direnç bildirmişlerdir. MRSA'larda gentamisin direnci sıklıkla kinolon direnci ile birlikte görülmektedir (22).

Çalışma sonucunda rifampin (%73.2) ve azitromisine (%59.2) de yüksek oranda direnç saptanmıştır. TMP-SXT (%22.5) ve kloramfenikole(%12.7) daha az oranlar-

da direnç görülmüştür. TMP-SXT ve kloramfenikol direnç oranlarının daha düşük olması MRSA infeksiyonlarında kullanılabileceğine dair umut vermektedir.

MSSA suşlarında ise beklendiği gibi yüksek oranda (%91.1) penisilin direnci gözlenmiştir. MSSA suşlarının meropenem, sefotaksim ve siprofloksasine %100 duyarlı oldukları belirlenmiştir. Bunlardan sonra sırasıyla etkili olan antibiyotikler amoksisilin-klavulanat, rifampin, TMP-SXT, kloramfenikol ve azitromisin gelmektedir. Sonuçlar bu bakteriler ile oluşan infeksiyonların sağaltımında umut vericidir.

Bu araştırma sonucunda çeşitli örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarındaki metisilin direnci oldukça yüksek bulunmuştur. MRSA suşlarında test edilen diğer antibiyotiklere de yüksek oranda direnç saptanmıştır. Vankomisin ve teikoplanine direnç olmaması oldukça sevindiricidir. Bu etkenlerle oluşan infeksiyonların kontrolü ve etkin sağaltımı için sonuçların klinisyenlere bildirilerek uygun antibiyotik kullanımının sağlanması gerektiğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

1. Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*'de. Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 339-47.
2. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2000**: 2069-92.
3. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th ed. St. Louis: Mosby, **1994**: 321-32.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları. Onbeşinci Bilgi Eki. Ocak **2005**, 25 (1).
5. Değerli K, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Sezgin C, Kurutepe S. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antimikrobiklere duyarlılıkları. *İnfek Derg* **2000**; 14: 87-90.
6. Tuncer Ertem G, Gültekin B, Aydın N, Sakarya S. Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının vankomisin ve teikoplanine karşı *in-vitro* duyarlılıkları. *İnfek Derg* **2003**; 17: 185-8.
7. Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed, *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*'nde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**: 182-92.
8. Stratchounski LS, Dekhnich AV, Kretchikov VA, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial strains of *Staphylococcus aureus* in Russia: results of a prospective study. *J Chemother* **2005**; 17: 54-60.
9. Blandino G, Marchese A, Ardito F, et al. Antimicrobial susceptibility profiles of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* isolated in Italy from patients with hospital-acquired infections. *Int J Antimicrob Agents* **2004**; 24: 515-8.
10. Kim HB, Jang HC, Nam HJ, et al. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from Tertiary-Care Hospitals in Korea: a nationwide survey. *Antimicrob Agents Chemother* **2004**; 48: 1124-7.
11. Gür D. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, ed, *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2003**: 31-41.
12. Sancak B, Günalp A. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının mupirosin ve diğer antibiyotiklere olan duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bül* **2000**; 34: 209-13.
13. Yapar N, Erdenizmenli M, Gülay Z, Küçüküven Bıçmen M, Yüce A, Yuluğ N. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* ve *Staphylococcus* türlerinin antibiyotik direnci. *İnfek Derg* **2000**; 14: 507-9.
14. Baysal B, Tuncer İ, Erayman B, Arslan U. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının fusidik asit ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfek Derg* **2003**; 17: 27-30.
15. Azap A, Ergin Timurkaynak F, Kuru İnci E, Arslan H. *Staphylococcus aureus* suşlarında vankomisin direncinin araştırılması. *İnfek Derg* **2003**; 17: 289-91.

16. **Yorgancıgil B, Demirci M, Demir İ, Arda M.** Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kökenlerinin değişik antibiyotiklere dirençleri. *İnfek Derg* **1999**; 13: 501-3.
17. **Yıldırım F, Şengöz G, Ürkmez K, Nazlıcan Ö.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının fusidik asit ve diğer antimikrobiklere direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* **2002**; 16: 101.
18. **Ertek M, Yazgı H, Erol S, Aktaş AE.** Klinik örneklerden soyutlanan stafilocok kökenlerinin moksifloksasin ve diğer kinolonlara *in vitro* duyarlılığının araştırılması. *İnfek Derg* **2004**; 18: 199-203.
19. **Gülay Z.** Antimikrobiyal ilaçlara direnç. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*'de. Ankara:Güneş Kitabevi, **1999**: 91-108.
20. **Gürler N, Kaygusuz A, Karayay S, Töreci K.** Methicillin-resistant staphylococci isolated from pus since 1992 and aminoglycoside and quinolone resistance in these strains. *ANKEM Derg* **1997**; 11: 9-13.
21. **Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E.** Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* **2003**; 17: 56-9.
22. **Büyükbaba Ö, Nakipoğlu Y, Katrancı H, Derbentli Ş, Gürler N.** *S. aureus* suşlarında çeşitli antibiyotiklere ve klorheksidine direnç. *ANKEM Derg* **1998**; 12: 70-6.

İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
27310 GAZİANTEP
e-posta: fahriyeeksi@hotmail.com