

Stafilokok Suşlarında Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (Mlsb) Direnç Fenotipi

Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B (Mlsb) Resistance Phenotype in Staphylococcal Isolates

Kadriye Kart Yaşar, Yeşim Aybar Bilir, Filiz Pehlivanoğlu, Sevtap Gürsoy, Gönül Şengöz

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLSb) direnci ve fenotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Hastanemizde 2009-2010 yılları arasında takip edilen hastalara ait klinik örneklerden izole edilen 35'i Staphylococcus aureus ve 65'i koagülaz negatif stafilokok (KNS) olmak üzere, toplam 100 stafilokok suşu çalışmaya dahil edildi. Metisilin direnci disk difüzyon yöntemiyle sefoksitin diski kullanılarak, MLSb direnci ise eritromisin ve klindamisin diskleri kullanılarak uygulanan D test yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: İzole edilen 35 S. aureus suşunun 14'ü metisiline dirençli (MRSA), 21'i metisiline duyarlı (MSSA); 65 KNS'nin 41'i metisiline dirençli (MRKNS), 24'ü metisiline duyarlı (MSKNS) idi. İzole edilen 100 suştan 79'unda MLSb direnç fenotiplerinden biri tespit edildi. Tüm suşlar arasında en sık saptanan direnç fenotipi induklenebilir (%35) ve yapısal (%30), S. aureus suşlarında ise yapısal dirençtir (%62).

Sonuç: Tedavide sorun oluşturan toplum ve hastane kaynaklı dirençli stafilokok enfeksiyonlarında, MLSb direncinin mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak ortaya konması önemlidir. D-test yöntemi, her laboratuvarında uygulanabilecek, ucuz ve güvenilir bir yöntemdir. Tedavi başarısızlığının önlenmesi için; MLSb grubu antibiyotik tedavisinden önce, bu test uygulanmalı ve klinisyene bildirilmelidir. (*Haseki Tıp Bülteni 2011; 49: 102-4*)

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal direnç, linkozamid, makrolid, MLSb, streptogramin, stafilokok

Abstract

Aim: The aim of this study was to determine the incidence of macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLSb) resistance in staphylococcal isolates from various clinical samples.

Methods: In this study, we included a total of 100 staphylococcal isolates, 35 Staphylococcus aureus and 65 coagulase-negative staphylococci (CNS), from specimens obtained from patients followed up in our hospital between 2009 and 2010. Methicillin resistance of these isolates was determined using cefoxitin disc diffusion method. MLSb resistance was investigated by D-test method using erythromycin and clindamycin disks.

Results: Of 35 S. aureus isolates, 14 were methicillin-resistant (MRSA) and 21 were methicillin-sensitive (MSSA). Of 65 CNS isolates, 41 were methicillin-resistant (MRKNS) and 24 were methicillin-sensitive (MSKNS). In 79 strains, there was at least one MLSb resistance phenotype. The most frequent resistance phenotypes were inducible (35%) and constitutive (30%) among all isolates, while the constitutive one was more common in S. aureus strains (62%).

Conclusion: Since the resistant community- and hospital-acquired staphylococcal infections have become a therapeutic problem, it is very important to detect MLSb resistance routinely in microbiology laboratories. D-test is a cheap and reliable diagnostic method which can be performed in every laboratory. In order to prevent treatment failure, D-test should be routinely used and the results should be reported to the clinician before starting a therapy with MLSb group of antibiotics. (*The Medical Bulletin of Haseki 2011; 49: 102-4*)

Key Words: Antimicrobial resistance, lincosamide, macrolide, MLSb, streptogramin, staphylococcus

Giriş

Stafilokokların etken olduğu enfeksiyonlarda etkili antibiyoterapi, bakterilerin direnç durumlarının belirlenmesi ile

yakından ilişkilidir. Stafilokoklarda metisilin direncinin artışı ve diğer bazı antibiyotiklere direnci de beraberinde getirmesi, bu enfeksiyonların tedavisini ve kontrolünü zorlaştırmaktadır. Son yirmi yıl içerisinde tüm dünyada çoklu direnç gös-

25. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 28 Nisan-02 Mayıs 2010

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Kadriye Kart Yaşar

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

E-posta: kadriyeyasar@hasekihastanesi.gov.tr

Geliş Tarihi/Received: 20 Ocak 2011 **Kabul Tarihi/Accepted:** 31 Mart 2011

Haseki Tıp Bülteni,
Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır. Her hakkı saklıdır.
The Medical Bulletin of Haseki Training and Research Hospital,
published by Galenos Publishing. All rights reserved.

teren Gram pozitif mikro-organizmalar ile oluşan infeksiyonlar artmış ve vankomisin bu tür infeksiyonlarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlarda sağlık hizmetiyle ilişkili infeksiyonlarda saptanan stafilokokların Avrupa'da üçte birinden fazlasını, Amerika'da ise yarısından çoğunu metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) oluşturmaktadır (1,2). Ülkemizde ise MRSA oranı %9-40 olarak bildirilmektedir (3). Son yıllarda enterokok ve stafilokoklarda bildirilen vankomisin direnci nedeniyle tedavi sorunları ortaya çıkmış ve çoklu direnç gösteren Gram pozitif mikro-organizmalar için yeni antimikrobiyal ilaçlara gereksinim artmıştır.

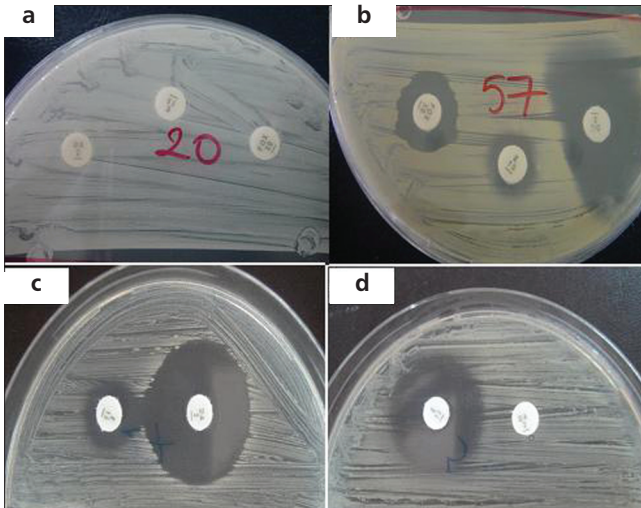
Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotikler, stafilokoksik infeksiyonlarda kullanılan ve protein sentezini inhibe ederek etki gösteren ajanlardır. Her üç grup ilaç da aynı bağlanma bölgesini kullandıklarından, burada gelişen bir mutasyon üç farklı antibiyotiğe direnç sonlanır (MLS_B direnci) (4). İndüklenebilir MLS_B direnci gös-

Tablo 1. Eritromisin ve klindamisin disk sonuçları ile fenotipin saptanması.

	Eritromisin	Klindamisin
Yapısal tip	R	R
İndüklenebilir tip (D Zone +)	R	S
M tipi (D Zone -)	R	S
L tipi	S	R
Duyarlı	S	S

Tablo 2. Stafilokoklarda MLS_B direnç fenotipinin dağılımı [n (%)].

	İndüklenebilir	Yapısal	M tipi	L tipi
MRSA (n:14)	4 (20)	6 (43)	1 (7)	2 (14)
MSSA (n:21)	4 (19)	4 (19)	4 (19)	0
MRKNS (n:41)	14 (34)	9 (22)	11 (27)	2 (5)
MSKNS (n:24)	6 (25)	4 (29)	8 (33)	0



Resim 1a. Yapısal tipte direnç, **b.** İndüklenebilir tipte direnç (D zon pozitif), **c.** L tipi direnç, **d.** M tipi direnç (D zon negatif)

teren suşlarda eritromisinin klindamisinini antagonize ettiği, basitçe eritromisin ve klindamisin disklerinin 26-28 mm aralıklarla yerleştirilmesiyle uygulanan çift disk sinerji veya D-testi gibi indüksiyon testleriyle gösterilebilir (5). Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 stafilokok suşunda MLS_B direnç fenotiplerinin dağılımı araştırıldı.

Yöntemler

Hastanemizde 2009-2010 yılları arasında ayaktan ve yatarak takip edilen 100 hastanın klinik örneklerinden izole edilen 100 stafilokok suşu çalışmamıza dahil edildi. Tüm suşlar farklı hastalardan izole edilmiş olup, katalaz ve tüp plazma koagülaz testi ile 35'i *Staphylococcus aureus* ve 65'i koagülaz negatif stafilokok (KNS) olarak tanımlanmıştır. Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI) önerileri ile suşların metisiline direnci Mueller Hinton agar (MHA) besiyerinde sefoksitin (30 µg, Oxoid) diski ile; MLS_B direnci ise, eritromisin (15 µg, Oxoid) ve klindamisin (2 µg, Oxoid) disklerinin merkezler arası 15-26 mm aralığında yerleştirilmesi ile araştırıldı (6). Sonuçlar 35 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası Tablo 1'e göre okundu.

Bulgular

İzole edilen 35 *S. aureus* suşunun 14'ü metisiline dirençli (MRSA), 21'i metisiline duyarlı (MSSA); 65 KNS'nin 41'i metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS), 24'ü metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilokok (MSKNS) idi. Çift disk indüksiyon testi ile makrolid dirençleri araştırılan stafilokok suşlarının 79'unda MLS_B direnç fenotiplerinden biri tespit edildi. İndüklenebilir fenotip-D-test- pozitif 28 (%35), M fenotipi 24 (%30), konstitüsyonel (yapısal) fenotip 23 (%29), L fenotipi 4 (%5) suşta saptandı (Tablo 2).

S. aureus suşlarında en sık yapısal direnç fenotipi %62, KNS suşlarında ise M fenotipi (%60) ve indüklenebilir tip (%59) görüldü.

Tartışma

Stafilokokların toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlarda önemi giderek artmaktadır. Başarılı tedavi yanıtı için bakterinin direnç mekanizmalarının iyi bir şekilde belirlenmesi, uygun antibiyoterapinin seçimi için gereklidir (7,8).

Stafilokok infeksiyonlarının, özellikle deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde klindamisin sık kullanılan ve penisilin alerjisi olan hastalarda penisiline alternatif bir ilaçtır (9). Ancak son zamanlarda bildirilen MLS_B direnci nedeniyle tedavi sorunları yaşanabilmektedir. Klindamisine karşı indüklenebilir direncin araştırılması tedavi başarısızlığının önlenmesi açısından önemlidir.

Stafilokok suşlarında makrolid direnci ribozomal, modifikasyonla veya aktif pompa ile gelişir (5,10,11). Gram pozitif mikroorganizmalarda MLS_B direnci konstitüsyonel veya indüklenebilir olabilir (12). İndüklenebilir MLS_B dirençli suşlar

eritromisine dirençli ama klindamisine duyarlıdır. Buna karşılık konstitüsyonel MLSB dirençli suşlar ise her iki grup antibiyotiğe de dirençlidirler. Stafilocoklarda makrolid direncinin ribozomal metilasyondan kaynaklandığı durumlarda indüklebilir ya da yapısal tipte direnç; Mef geni varlığı nedeniyle oluşan pompa sistemine bağlı M tipi ve ilaç inaktivasyon mekanizması sonucu L tipi direnç gelişmektedir (6).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılmış iki ayrı çalışmada, birbirinden farklı MLSB direnç oranları saptanmıştır. Fiebelkorn ve ark.'nın (5) çalışmasında, *S. aureus* ve KNS suşlarında indüklebilir MLSB direnci %30 civarında iken, Schreckenberger ve ark.'nın (13) çalışmasında ise oranlar daha düşük bulunmuştur. Hindistan'dan 851 stafilocok suşuyla yapılan bir çalışmada ise, suşların yarısında eritromisin direnci saptanırken; %24 suşta indüklebilir MLSB direnci, %47 suşta ise yapısal MLSB direnci gözlenmiştir (14). Genel olarak metisiline dirençli *S. aureus* ve KNS'lerde saptanan indüklebilir MLSB direnci anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızdaki stafilocok suşları arasında ise; indüklebilir tipte direnç (%35) en sık saptanan direnç fenotipi olurken, bunu yapısal direnç fenotipi izlemiştir (%30).

Ülkemizden iki çalışmada en sık saptanan direnç fenotipinin indüklebilir MLSB direnci olduğu bildirilmiştir (12,15). Bunun yanında, yapısal direncin baskın fenotip olarak saptandığı çalışmalar da mevcuttur (16,17). Çalışmamızdaki indüklebilir direnç oranı en yüksek saptanan fenotip (%35) olsa da, yapısal direnç oranı da yakın değerlerde (%30) bulunduğundan, çalışmamızın ülkemizden yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu söylenebilir. Ayrıca indüklebilir MLSB direncinin bölgelere, hatta hastanelere göre farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (5,18).

Türkiye'den yapılmış başka bir çalışmada, KNS izolatlarının genel olarak daha yüksek MLSB direncine sahip oldukları; oksasilin dirençli stafilocok izolatlarında makrolid direncinin çok daha yüksek olduğu saptanmıştır (19). Çalışmamızdaki suşlar içinde; metisilin dirençli *S. aureus* izolatlarında yapısal, MRKNS izolatlarında ise indüklebilir MLSB direnci daha yüksek bulunmuştur. Yılmaz ve ark.'nın (15) çalışmasında da metisilin dirençlilerde yapısal direnç oranları arasındaki fark; koagülaz negatif ve pozitif stafilocoklarda 10 kat kadardır. Oysa indüklebilir makrolid direncine bakıldığında, metisilin dirençlilerde oran daha yüksek olsa da aradaki fark yapısal dirence kıyasla çok daha azdır. Yurtiçi ve yurtdışı çalışmalarda gözlenen farklılıklar, coğrafi bölge farklılıkları kadar yöntem farklılığından da kaynaklanıyor olabilir.

Hastane ve toplum kökenli MRSA infeksiyonları, tedavide sorun oluştururlar. Stafilocoklara uygulanan rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde eritromisin dirençli suşlar tespit edildiğinde, bu suşların MLSB direnci yönünden değerlendirilmesi gereklidir. Bu grup mikroorganizmalarda MLSB direncinin rutin olarak ortaya konması, klinisyenin bu tür infeksiyonlarda uygun ve etkili tedaviyi güvenle başlatmasına katkıda bulunacaktır. Her laboratuvarında kolay uygulanabilir, ucuz, tekrarlanabilir bir test olan D-test yöntemi, tedavi başarısızlığının önlenmesi için uygulanmalı ve klinisyene bildirilmelidir.

Kaynaklar

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2010.
2. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* 2007;298:1763-71.
3. Karadenizli A. Hastanelerde metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol politikaları ve MRSA. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2002;6:12-8.
4. Duval J. Evolution and epidemiology of MLS resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1985;16;Suppl. A, 137-49.
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;4110:4740-4.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement M100-S18, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. Wayne PA.
7. Gönüllü N, Karaköse AR, Çatal F, Küçükbasmacı Ö, Altinkum S, Mamal Torun M. Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009;39:12-5.
8. Bartlett JG. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Top HIV Med* 2008;16:151-5.
9. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ et al. Methicillin-resistant *S.aureus* infections among patients in the emergency departments. *N Engl J Med* 2006;355:666-74.
10. Zelazny AM, Ferraro MJ, Glennen A et al. Selection of strains for quality assesment of the disk induction method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococci*: a CLSI collaborative study. *J Clin Microbiol* 2005;43:2613-5.
11. Doğruman Al F, Akça G, Aykan B, Sipahi AB, Çağlar K. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında kinupristin/dalfopristin, linezolit duyarlılıkları ve makrolit-linkozamid-streptogramin B direnci. *İnfeks Derg* 2008;22:153-63.
12. Sarıbaşı Z, Tunçkanat F, Özçakır O, Ercis S. Stafilocok klinik izolatlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLSB) ve telitromisin direncinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2010;44:177-86.
13. 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.
14. Nal P, Sharma B, Sharma R, Vyas L. Detection of inducible clindamycin resistance among *Staphylococcal* isolates from different clinical specimens in western India. *J Postgrad Med* 2010;56:182-5.
15. Uyanık H, Yazgı H, Bilici D, Özden K, Karakoç E. Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* türlerinde makrolid-linkozamid-streptogramin B direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* 2009;23:66-70.
16. Aktas Z, Aridogan A, Bal Kayacan C, Aydin D. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in *Staphylococci* isolated in Istanbul, Turkey. *J Microbiol* 2007;45:286-90.
17. Yılmaz G, Aydin K, Iskender S, Caylan R, Koksali I. Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci. *J Med Microbiol* 2007;56:342-5.
18. Shrestha B, Pokhrel BM, Mohapatra TM. Phenotypic characterization of nosocomial isolates of *Staphylococcus aureus* with reference to MRSA. *J Infect Dev Ctries* 2009;3:554-60.
19. Sesli Cetin E, Gunes H, Kaya S, Aridogan Cicioglu B, Demirci M. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates. *Int J Antimicrob Agent* 2008;31:364-8.