

# STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA METİSİLİN DİRENCİ VE E-TEST İLE VANKOMİSİN MİK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(The Research of Methicillin Resistance and Vancomycin MIC Values By E-Test Methods of Staphylococcus Aureus Strains)

Semra Batı Kutlu\*, Kadriye Kart Yaşar\*, Gönül Şengöz\*, Deneş Berzeg\*, Filiz Yıldırım\*, Özcan Nazlıcan\*

## Özet

Hem nozokomiyal hem de toplumdaki edinilmiş stafilokok enfeksiyonlardaki direnç sorunu giderek daha önemli olmaktadır. Bu çalışmada 42'si hastalardan alınan çeşitli materyallerden, altısı sağlıklı hastane personelinin boğaz ve el sürüntü örneklerinden izole edilen 48 *S. aureus* suşu için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle metisilin (Oxoid) duyarlılığı, E-test (AB BIODISK) yöntemiyle de vankomisin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri araştırılmıştır. Hastalardan izole edilen 42 *S. aureus* suşunun 16'sı (%38) metisiline dirençli bulunmuş ve suşların vankomisin MİK aralığı 0.5-4 mg/L olarak saptanmıştır. Sağlıklı hastane personelinin izole edilen altı suşun hepsi metisiline duyarlı olup vankomisin MİK aralığı 2-4 mg/L olarak tespit edilmiştir. Metisilin direnci, özellikle ortopedik operasyon geçiren ve uzun süreli antibiyotik tedavisi alan hastalardan izole edilen suşlarda görülmüştür. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) oranının diğer hastanelerdeki oranlara yakın olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Staphylococcus aureus, metisilin direnci, vankomisine dirençli *Staphylococcus aureus* (VRSA)

## Summary

The resistance problem in both nosocomial and community acquired staphylococcal infections has gained importance in recent years. 48 *S. aureus* strains were investigated in this study. 42 of them who had been isolated from patients' several samples and 6 of them who had been isolated from healthy hospital personnel's throat and hand samples were examined for methicillin susceptibility by Kirby-Bauer disc diffusion method and vancomycin MIC values by E-test methods. 16 of 42 strains which had been isolated from patients were resistant to methicillin while the strains' MIC range was 0.5-4 mg/L for vancomycin. All of the six strains had been isolated from healthy hospital personnel determined as susceptible to methicillin and these strains' MIC range was 2-4 mg/L for vancomycin. Methicillin resistance was determined in the strains were isolated from patients who had operated in orthopedics and had taken antibiotic treatment for a long period. MRSA ratio was similar to other hospitals' ratio.

**Key words:** Staphylococcus aureus, methicillin resistance, VRSA

\* S.B. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

## GİRİŞ

Stafilokoklar, basit deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından, sepsis gibi ağır tablolara uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunda etken olarak saptanırlar. Hastaneye yatış, tanı ya da tedavi amaçlı kullanılan yabancı cisimler, başta influenza enfeksiyonu olmak üzere viral enfeksiyonlar ve diabetes mellitus, *S. aureus* enfeksiyonu için risk faktörleridir.

Günümüzde nozokomiyal patojenler arasında öneminin giderek artması, epidemilere yol açabilmesi ve çoklu antibiyotik direncine bağlı olarak tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması nedeniyle *S. aureus* dünya tıp gündeminin ön sıralarında yer almaktadır. 1961 yılında, ilk MRSA izolatları İngiltere'den bildirilmiştir <sup>(1)</sup>. 1997 yılında Japonya, ABD, Fransa, Hong Kong ve Kore'de vankomisine azalmış duyarlılık gösteren MRSA izolatlarının (VISA) ortaya çıkması çok endişe verici olmuştur <sup>(2)</sup>. Bu suşlar diğer antimikrobiyal ajanların da çoğuna dirençli olup, vankomisin tedavisine cevap vermeyen hastalardan izole edilmiştir. İlk VRSA izolatu ise 2002 yılı Haziran ayında Amerika Birleşik Devletlerinden bildirilmiştir. Bu suş diyaliz tedavisi gören 40 yaşındaki bir erkek hastanın kateter ucundan izole edilmiştir <sup>(3)</sup>.

Bu çalışmanın amacı; hastanemizin mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının metisilin ve vankomisine karşı hassasiyetlerinin araştırılması, gelecek için bir tehdit gibi görünen ve günümüzde nozokomiyal patojenler arasında önemi giderek artan direnç sorununa dikkat çekilmesidir.

## MATERYAL ve METOD

Temmuz 2004-Ağustos 2005 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik materyallerden ve 20 sağlıklı hastane personelinden alınan el sürüntü ve boğaz kültürü örneklerinden izole edilen toplam 48 *S. aureus* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Suşlar için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle metisilin duyarlılıkları, E-test yöntemiyle vankomisin MİK değerleri Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerileri dikkate alınarak araştırılmıştır <sup>(4)</sup>.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 48 *S. aureus* suşunun 42'si (%87.5) hastanede yatan ve poliklinik hastalarından, altısı (%12.5) ise sağlıklı hastane personelinden izole edilmiştir.

Hastalardan gelen materyallerin %21'ü yoğun bakımdan, %45'i ortopedi, dahiliye ve cerrahi kliniklerinden, %14'ü polikliniklerden, %19'u diğer yataklı servislerden gönderilmiştir.

Hastaların 27'sinin (%65) o sırada veya daha öncesinde geniş spektrumlu antibiyotik kullandığı, 15'inin (%35) herhangi bir antibiyotik almadığı öğrenilmiştir. Çalışma grubumuzdaki hastaların çoğunu cerrahi operasyon veya enstrümantasyon geçirmiş, yoğun bakım ünitesinde takip edilen, çeşitli ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ya da kullanmış olan hastalar oluşturmaktadır. Suşların bir kısmı altta yatan hastalıkları olan (diyabet, malignite gibi) ve invaziv girişim uygulanan (eklem protezi, diyalize girme gibi) hastalardan izole edilmiştir.

Hastalardan izole edilen 42 *S. aureus* suşunun disk difüzyon yöntemiyle 16'sı (%38) metisiline dirençli bulunmuştur. Bu suşların E-test yöntemiyle vankomisin MİK aralığı 0.5-4 mg/L olarak saptanmıştır. Sağlıklı hastane personelinden izole ettiğimiz altı suşun hepsi metisiline duyarlı olup vankomisin MİK aralığı 2-4 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Yara-abse grubunda metisilin direnci %60 bulunurken bu oran kan kültürleri grubunda %33 olarak saptanmıştır. Metisilin direnci yüksek bulunan bu hastalar; özellikle ortopedik sorunları olan ve yapılan girişimlerle yabancı cisimlerin uygulandığı, uzun süreli antibiyotik tedavisi alan ve direnç geliştirme yönünden riskli hastalardır. Sağlık personelinde elde edilen suşların hiçbirinde metisilin direnci saptanmamıştır ancak MİK değerleri diğer grupta benzer değerlerde bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Stafilokoklar spor oluşturmeyen bakteriler arasında en dirençli olanlardır ve fizyolojik olmayan çevresel koşullarda bile yaşamlarını sürdürebilirler.

Tablo 1. Suşların metisilin direnci ve vankomisin MİK değerleri

Materyal	n	%	Metisilin direnci (n)	Metisilin direnci (%)	Vankomisin MİK aralığı mg/L
Yara-abse	15	31	9	60	2-4
Kan	15	31	5	33	1-4
Trakeal aspirat	4	8	1	25	1.5-4
Boğaz	3	6	0	0	0.5-2
Kulak akıntısı	2	4	0	0	1-3
BOS	1	2	0	0	0.75
Periton sıvısı	1	2	0	0	3
İdrar	1	2	0	0	1.5
SP Boğaz	4	8	0	0	2-4
SP EI	2	4	0	0	2
Toplam	48	100	16	33	0.5-4

SP: Sağlıklı personel, n: Sayı

Dolayısıyla güçlü antimikrobiyal ajanların varlığına, gelişmiş halk sağlığı koşullarına ve hastane enfeksiyon kontrol önlemlerine rağmen *S. aureus*'un majör bir insan patojeni olmaya devam etmesi şaşırtıcı değildir.

İnsanoğlunun penisilinin keşfiyle başladığı süreçte, stafilokoklar da enzimleriyle saflarını korumaya devam etmektedirler. 1944 yılında penisilinaz yapımıyla başlayan bu karşı koyuşun bugün gelinen noktada stafilokoklar çoklu antibiyotik direnci gösteren, tedavileri zor olan "sorunlu" mikroorganizmalar konumundadır.

MRSA, ülkemizde de hastane enfeksiyonu etkenleri içinde ilk sıralarda yer almakta ve yıllar içinde görülme sıklığında artış saptanmaktadır (5). Başta YBÜ olmak üzere hastanelerin bazı bölümleri, stafilokok ve MRSA enfeksiyonları açısından daha yüksek risk oluşturmaktadır. 65 yaşın üstünde olan, hastanede uzun süre yatan, operasyon geçiren ya da çok sayıda invaziv girişim uygulanan, açık cilt lezyonları bulunan ve geniş spektrumlu/uzun süre antibiyotik tedavisine maruz kalan hastalar hem endojen floranın hem de ortam bakterilerinin tehdidi altındadır. Bu koşullar dirençli bakteri suş-

larının seçilmesine yol açarken, MRSA enfeksiyon ve kolonizasyonunu da ön plana çıkarmaktadır.

Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ögünç ve arkadaşları, kan kültürlerinden izole edilen 100 *S. aureus* suşunda MRSA oranını %38 olarak bulmuşlar, suşların hiçbirinde E-test yöntemiyle vankomisin direnci saptamamışlardır (6). Biz de izole edilen suşlarda E test yöntemi ile vankomisin direncini saptamadık ve kan kültürlerinde metisilin direncini %33 olarak bulduk. Sümbül ve ark. (7), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 39 *S. aureus* suşunun E-test ve mikrodilüsyon yöntemleriyle vankomisin MİK değerlerini 0.125-4 mg/L arasında bulmuşlardır. Çalışmamızdaki MİK aralığı da benzer şekilde 0.5-4 mg/L olarak bulunmuştur.

Güleroğlu ve ark. (8), önemli bir kısmını yara-abse, kan ve trakeal aspirat kültürlerinden izole ettikleri 80 MRSA suşunda, E-test ile vankomisin MİK aralığını 0.5-4 mg/L olarak bulmuşlardır. Benzer olarak çalışmamızdaki materyallerin çoğunluğunu da yara, abse ve kan izolatları oluşturmakta olup MİK aralıkları aynıdır ve vankomisine dirençli suş saptanmamıştır. Özgüneş ve ark. (9),

yatan ve poliklinik hastalarından izole ettikleri 223 *S. aureus* suşunun 105'inde (%47) metisilin direnci saptamışlardır. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda *S. aureus* suşlarında metisilin direnci %21-66 arasındadır.

Yurdumuzda ilk kez Gülay ve ark.'nın Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde klinik örneklerden izole ettikleri 95 MRSA suşunda vankomisin direncini araştırdıkları çalışmada, mikrodilüsyon yöntemi ile suşların 5'inde (%5.3) vankomisine azalmış duyarlılık (MİK:8 mg/L) bildirilmiştir<sup>(10)</sup>.

Dünyada giderek artan oranlarda vankomisin dirençli *S. aureus* suşları bildirilmektedir. Malloval ve ark., hospitalize hastalardan izole ettikleri 455 MRSA suşunun E-test yöntemiyle vankomisin MİK değerlerini araştırmışlar, VISA ve VRSA izolatlarına rastlamadıklarını, 3 tane (%0.7) h-VISA suşu saptadıklarını bildirmişlerdir<sup>(11)</sup>. Song ve ark.<sup>(12)</sup> 1357 MRSA suşunda agar dilüsyon yöntemiyle vankomisin duyarlılığını araştırmışlar ve h-VISA için tüm suşlara popülasyon analizi yapmışlardır. Çalışma sonucunda 58 (%4.3) izolatta h-VISA saptadıklarını, VISA ve VRSA izolatına rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Saderi ve ark.<sup>(13)</sup>, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 139 *S. aureus* suşundan agar dilüsyon yöntemiyle beşinin vankomisin MİK değerini  $\geq 128$  mg/L olarak bulmuşlardır. Bu suşların E-test yöntemiyle bakılan MİK değerlerini de  $\geq 128$  mg/L olarak saptamışlar, VRSA izolatlarının metisiline ve diğer antibiyotiklere de yüksek oranda rezistans gösterdiklerini ifade etmişlerdir.

MRSA esas olarak nozokomiyal enfeksiyonlara ve son zamanlarda giderek artan oranlarda toplum kaynaklı enfeksiyonlara da neden olan dünya çapında önemli bir problemdir. MRSA tedavisinde vankomisin yeri değişmez bir ilaç olarak kabul edilmiştir. Ancak bir antibiyotiğin kullanılabilirliği, aşırı antibiyotik kullanımı ile hızlanan bir süreç olan hedef organizma tarafından rezistans gelişimine bağlı olarak azalır. Dolayısıyla *S. aureus*'un beta-laktam antibiyotiklere ve daha sonra vankomisine direnç geliştirmesi beklenen bir sonuç olmuştur. VRSA'nın ortaya çıkışı dirençli mikroorganizmaların yayılmasını önlemek ve antimikrobiyal ajanların uygun olarak kullanımını sağlamak için hastane

kontrol programlarına duyulan ihtiyacı bir kez daha gözler önüne sermiştir. Vankomisinin gereksiz kullanımı, vankomisine dirençli *S. aureus* suşlarının ortaya çıkmasına ve tedavide çıkmaza yol açacaktır. Dünya çapında giderek artan sıklıkta bildirilmeye başlanan h-VISA, VISA ve VRSA suşları; ülkemizde de yakın gelecekte görülecek direnç gelişiminin ilk uyarılarıdır.

Hastanemizde 1994 yılından bu yana uygulanan antibiyotik kullanım politikaları gereği glikopeptid antibiyotiklerin kullanımı enfeksiyon hastalıkları uzmanı kontrolündedir ve hastanemizde MRSA oranlarının yıllar içinde belirgin bir artış göstermediği görülmektedir. Ayrıca Mikrobiyoloji Laboratuvarı kısıtlı antibiyogram bildirim programını aynı tarihten itibaren uygulamakta ve YBÜ'de yatan hastalar sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Sonuç olarak bu seçkin antibiyotiğin kullanımında özenli olunması ve gerek tedavi öncesi, gerekse tedavi sırasında hastaların mikrobiyolojik yönden yakın izlemi önemli ve gereklidir. Kurallara uyulması tehlikeli bu gidişi durdurabilir ya da en azından yavaşlatabilir.

## KAYNAKLAR

1. Jevons MP. 'Celbenin'-resistant staphylococci. *Br Med J* 1961; 1: 124-5.
2. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 135-6.
3. CDC. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States. *MMWR* 2002; 51 (26): 565-7.
4. CLSI-2005. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M2-A9. CLSI Wayne, Pa.
5. Arslan H, Tunçbilek S, Nazlı S. Nosokomial enfeksiyon etkeni olarak izole edilen stafilokoklarda glikopeptid antibiyotiklerin etkinliği, 8. Türk Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Program ve Özet Kitabı. Antalya. 1997: 784.
6. Ögünç D, Çolak D, Saygan MB ve ark: Kandan izole edilen *S. aureus* suşlarında vankomisin ve teikoplanin etkinliği. *ANKEM Derg* 1999; 13(4): 479-84.
7. Sünbül M, Eroğlu C, Çınar T, Hökelek M, Leblebicioğlu H: Stafilokok suşlarında vankomisin ve teikoplanin duyarlılığını belirlemede buyyonda mikrodilüsyon ve E-test yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 1998; 12: 483.
8. Güleröğlü S, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş: Metisiline dirençli stafilokoklarda vankomisin, teikoplanin ve fusidik asit

direncinin mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. *ANKEM Derg* 2002; 16(4): 457-62.

9. Özgüneş N, Ergen P, Ceylan N, Yazıcı S, Aksoy Y: Yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından izole edilen stafilocok suşlarında metisilin direnci ve dirençli suşlarda glikopeptid duyarlılığı. *ANKEM Derg* 2002; 16(4): 423-26.

10. Gülay Z, Atay T, Yuluğ N: Staphylococcus aureus suşlarında vankomisin direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* 1998; 12: 101.

11. Malloval FO, Carricajo A, Delavenna F et all. Detec-

tion of an outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to glycopeptides in a French hospital. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 459-61.

12. Song JH, Hiramatsu K, Suh JY et all: Emergence in Asian countries of Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(12): 4926-8.

13. Saderi H, Owlia P, Shahrbanooie R. Vancomycin resistance among clinical isolates of Staphylococcus aureus. *Arch Iran Med* 2005; 8(2): 100-3.