

# KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARININ MAKROLİD VE LİNZOSAMİD DİRENÇ FENOTİPLERİ

## MACROLIDE AND LINCOSAMIDE RESISTANCE PHENOTYPES OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

Nevriye GÖNÜLLÜ, Ali Rıza KARAKÖSE, Fadimana ÇATAL, Ömer KÜÇÜKBASMACI,  
Serdar ALTINKUM, Müzeyyen Mamal TORUN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

### İletişim / Correspondence:

Nevriye GÖNÜLLÜ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

E-mail: nevriyegonullu@yahoo.com

### ÖZET

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotip insidansı araştırılması amaçlanmıştır. Ocak 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, yatan ve ayaktan hasta örneklerinden izole edilen stafilocok suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri araştırılmıştır. *Staphylococcus aureus* suşlarında, konstitütif direnç insidansı (%23) özellikle MRSA'lar arasında (%47.6) yüksek bulunmuştur. İndüklenebilir direnç fenotipini (%11.9), sırasıyla eflüks pompası (%6) ve L fenotipi (%3) takip etmiştir. Koagülaz negatif stafilocok (KNS) suşlarında ise, konstitütif fenotip en sık (%26.3), bunu pompa fenotipi (%17.4), indüklenebilir klindamisin direnci (%11.4) ve L fenotipi (%5.4) takip etmiştir.

Hem *S.aureus*, hem KNS suşlarında konstitütif fenotip, indüklenebilir fenotipe göre daha sık bulunmuştur (sırasıyla %23 ve %26.3'e karşı %1.9 ve %11.4). Pompa aracılı direnç, KNS suşlarında (%17.4), *S.aureus* suşlarına (%6) göre, daha sık bulunmuştur. Hastanemizde stafilocok suşlarında  $MLS_B$  direnci yüksek oranda tespit edilmiştir. Yapısal makrolid direnci en sık olmasına rağmen, indüklenebilir makrolid direnci de önemli bir oranda tespit edilmiştir. Sonuç olarak, D testin rutin antibiyogramda uygulanması gerektiği ve indüklenebilir makrolid direnci tespit edilen vakalarda, klindamisin önerilmemesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Makrolid, linkozamid, direnç fenotipi, stafilocoklar

### SUMMARY

The aim of this study was to determine the incidence of macrolide and lincosamide resistance phenotypes among staphylococci isolates from various clinical samples. Between January 2006 and March 2007, 436 staphylococcal isolates obtained from clinical in- and outpatient specimens at the Department of Microbiology and Clinical Microbiology of Cerrahpaşa Faculty of Medicine were examined phenotypically to detect the rates of macrolide and lincosamide resistance phenotypes. Among *Staphylococcus aureus* strains, the incidence of constitutive resistance predominated (23%), specially among MRSA (47.6%). Inducible resistance mechanism (11.9%) was followed by efflux (6%) and L phenotypes (3%). The distribution of macrolide resistance phenotypes among CoNS isolates revealed a higher incidence of the constitutive phenotype (26.3%), followed by "efflux" mechanisms (17.4%) and inducible clindamycin resistance (11.4%) and L phenotype (5.4%). Both *S.aureus* and CoNS isolates had the constitutive phenotype predominated over the inducible phenotype (23% and 26.3% versus 11.9% and 11.4%, respectively). Efflux-mediated resistance was higher in CoNS (17.4%) than *S.aureus* (6%). In conclusion,  $MLS_B$  resistance has been detected in a high rate among staphylococci in our hospital. Although, constitutive resistance was the most frequently encountered pattern, inducible resistance was also detected in a considerable rate in our hospital. This study, shows that the double-disk test must be routinely performed in our laboratory practice and clindamycin should not be recommended in patients with infections caused by inducible resistant staphylococcal isolates.

**Key words:** Macrolide, lincosamide, resistance phenotypes, staphylococci

## GİRİŞ

*Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) hastane ve toplum kaynaklı infeksiyonların önemli etkenleri arasında bulunmaktadır ve stafilokoklarda artan prevalansıyla metisilin direnci önemli bir problem haline gelmiştir. Makrolid, linkozamid ve streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) antibiyotikleri stafilokok kaynaklı infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve benzer etki ile bakteri protein sentezini inhibe etmektedirler (1). Klindamisin, özellikle deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde olduğu gibi, bazı stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde ve penisilin alerjisi olan hastalar için kullanılmaktadır. Stafilokok suşlarında makrolid direnci genellikle ya *erm* geni ile kodlanan 23S rRNA metilaz aracılı ribozomal modifikasyonla ya da *msrA* geni ile kodlanan aktif pompa ile oluşmaktadır. Makrolidleri, linkozamidleri ve tip B streptograminleri (MLS<sub>B</sub> direnci) etkileyen yapısal (konstitütif, cMLS<sub>B</sub>) yada indüklenebilir (iMLS<sub>B</sub>) ribozom hedefli mekanizma en yaygın olan direnç tipidir. Konstitütif dirençli suşlar, tüm MLS<sub>B</sub> antibiyotiklere dirençli iken, indüklenebilir direnç 14 (eritromisin) ve 15 üyeli (azitromisin) makrolidler gibi güçlü indükleyiciler varlığında metilaz enziminin sentezine bağlı eksprese olur (2, 3).

*Mef* geni varlığı nedeniyle oluşan pompa sisteme bağlı M fenotipi, 14 ve 15 üyeli makrolidlere karşı direnç, linkozamid ve streptogramin antibiyotiklere karşı ise duyarlılığı ile tanımlanır (4, 5). İlaç inaktivasyon mekanizması (L fenotipi) eritromisine (E) duyarlı ancak klindamisine (CL) dirençli kökenlerde düşünülmelidir (6).

Bu çalışmada hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında makrolid ve linkozamid direnç fenotip insidansı araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderilen yatan ve ayaktan hasta örneklerinden toplam 436 stafilokok kökeni çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm kökenler ardışık ve farklı hastalardan izole edilmiştir. 269 *S.aureus* suşunun 166'sı metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) ve 103'ü metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), 167 KNS suşunun, 69'u metisiline duyarlı ve 98'i metisiline dirençli bulunmuştur. Makrolid, linkozamid ve metisilin direnci, MHA besiyerinde disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Suşların duyarlılık deneyleri Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda klindamisin (2 µg) ve eritromisin (15 µg) diskleri ile yapılmıştır (7). Kalite kontrol suşu olarak *S.aureus* ATCC 25923 kökeni kullanılmıştır. Metisilin direnci sefoksitin (30 µg) ve oksasilin (1 µg) diskleri ile araştırılmıştır. İndüklenebilir klindamisin direnci, eritromisin ve klindamisin disklerinin (Diamed-Lab, İstanbul, Türkiye) merkezler arası 15-26 mm mesafe ile yerleştirilmesi ile araştırılmıştır. Sonuçlar 35°C'de 18 saat inkubasyon sonrası okunmuştur. Klindamisin diski etrafında D şekilli inhibisyon zonu bulunan ER-R ve CL-S suşlar, indüklenebilir direnç için pozitif olarak değerlendirilmiştir (D-test pozitif). Her iki disk inhibisyon zonları dairesel şekilli olan ER-R ve CL-S suşlar, indüklenebilir direnç için negatif (D-test negatif) ve efluks pompa fenotipi olarak değerlendirilmiştir. ER-R ve CL-R suşlar, cMLS<sub>B</sub> fenotip olarak değerlendirilmiştir. ER-S ve CL-R suşlar ise, L fenotip olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

*S.aureus* ve KNS suşlarının eritromisine ve klindamisine karşı duyarlılıkları Tablo 1'de, çift-disk indük-

**Tablo 1.** *S.aureus* ve CoNS suşlarının eritromisine ve klindamisine karşı duyarlılık oranları

	Eritromisin n (%)	Klindamisin n (%)
MSSA (166)	129 (77.7)	132 (79.5)
MRSA (103)	30 (29.1)	35 (34)
<i>S.aureus</i> (269)	159 (59.1)	167 (62.1)
MS-CoNS (69)	31 (44.9)	43 (62.3)
MR-CoNS (98)	44 (44.9)	52 (53.1)
CoNS (167)	75 (44.9)	160 (95.89)

siyonu ile saptanan makrolid direnç fenotipleri ise Tablo 2'de verilmiştir.

MSSA, MRSA, MSKNS ve MRKNS stafilokok suşlarının eritromisine duyarlılık oranları sırasıyla %77.7, %29.1, %44.9 ve %44.9 bulunmuştur. Klindamisine duyarlılık oranları ise, sırasıyla %79.5, %34, %62.3, %53.1 bulunmuştur. Konstitütif direnç insidansı *S.aureus* suşlarında, özellikle MRSA'lar arasında (%47.6) yüksektir (%23). İndüklenebilir direnç mekanizmasını, pompa sistemi (%6) ve L fenotipi (%3) takip etmiştir.

KNS suşlarında ise, en sık konstitütif fenotipi (%26,3), sırasıyla pompa mekanizması (%17.4), indüklenebilir klindamisin direnci (%11.4) ve L fenotipi (%5.4) takip etmiştir.

Hem *S.aureus*, hem KNS suşlarında yapısal fenotip, indüklenebilir fenotipe baskın bulunmuştur (sırasıyla %23 ve %26.3'ya karşı 11.9% ve 11.4%). Pompa aracılı direnç, KNS suşlarında (%17.4) *S.aureus* suşlarına göre (6%) yüksek bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, hastanemizde, çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri araştırılmıştır. MLS antibiyotikleri stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Klindamisin, özellikle deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde ve penisilin alerjisi olan hastalar için kullanılan bir antibiyotiktir. İndüklenebilir klindamisin direncinin saptanmaması, klindamisin tedavisinin başarısızlığı ile sonuçlanabilmektedir. Konstitütif ve indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnç insidansı farklı coğrafik bölgelerde farklı oranlarda bulunmuştur. Örneğin, Avrupa'da, MRSA

suşlarında yapısal fenotip, MSSA suşlarında ise indüklenebilir fenotip insidansı yüksektir (8, 9). Bunun tersine, Amerika'da yapılmış bir çalışmada, *S.aureus* ve KNS suşlarında yüksek oranda indüklenebilir direnç bildirilmiştir (3). İngiltere'de yapılmış bir çalışmada, özellikle KNS suşlarında yüksek oranda iMLS<sub>B</sub> fenotipi bildirilmiştir. 210 *S.aureus* suşunda iMLS<sub>B</sub>, cMLS<sub>B</sub> ve MS fenotipleri sırasıyla %12, %2 ve %1; 330 KNS suşunda ise iMLS<sub>B</sub> %31, yapısal %11 ve MS fenotipi %13 oranında tespit edilmiştir. L fenotipi 5 izolatta tanımlanmıştır (6). Rodriguez Perez ve ark. (10), Brezilya'da düşük bir iMLS<sub>B</sub> oranı (%2.5) bildirmiştir. Gadepalli ve ark. (11)'nin Hindistan'da yaptıkları çalışmada, yapısal fenotipin MRSA suşlarında MSSA suşlarına göre daha sık rastlanıldığı bildirilmiştir. Yunanistan'da yapılmış bir çalışmada, MRSA suşlarında konstitütif fenotip, indüklenebilir fenotipe göre daha sık bulunmuştur (%75'e karşı %25). KNS suşlarında ise, indüklenebilir direnç oranı yapısal dirence göre daha yüksek bulunmuştur (%50'ye karşı %41) (12).

Ülkemizde, Hacettepe Üniversitesinde yapılan çalışmada 500 stafilokok suşunun %26.4'ü MLS antibiyotiklere dirençli olduğu ve yapısal fenotipin en sık fenotip olduğu belirlenmiştir (13).

Delialioğlu ve ark. (14)'nin çalışmasında; 128 MRSA suşunda konstitütif direnç %43.7, indüklenebilir %5.4, MS fenotip ise hiç saptanmamıştır; 102 MSSA suşunda ise, indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci %10.7 iken, konstitütif ve MS fenotipine rastlanmamıştır. Hem *S.aureus*, hem de KNS suşlarında, konstitütif MLS<sub>B</sub> direnç oranı indüklenebilir direnç oranından yüksek bulunmuştur.

Ankara'da, Azap ve ark. (15)'nin çalışmasında, MRSA ve MSSA suşlarında konstitütif direnç oranları sırasıyla %64 ve %4.6, indüklenebilir direnç oranları

**Tablo 2.** *S.aureus* ve CoNS suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri

Fenotip	<i>S.aureus</i> N (%)	MSSA N (%)	MRSA N (%)	CoNS No (%)	MS-CoNS N (%)	MR-CoNS N (%)
ER-S CL-S	151 (56.1)	124 (74.7)	27 (26.2)	66 (39.5)	28 (40.6)	38 (38.8)
ER CL-R	62 (23)	13 (7.8)	49 (47.6)	44 (26.3)	12 (17.4)	32 (32.6)
ER CL-S D <sup>+</sup>	32 (11.9)	16 (9.7)	16 (15.5)	19 (11.4)	11 (16)	8 (8.2)
ER CL-S D <sup>-</sup>	16 (6)	8 (4.8)	8 (7.8)	29 (17.4)	15 (21.7)	14 (14.3)
ER CL-R	8 (3)	5 (3)	3 (2.9)	9 (5.4)	3 (4.3)	6 (6.1)
Toplam	269	166	103	167	69	98

S: duyarlı, R: dirençli, D<sup>+</sup>: positif D-test, D<sup>-</sup>: negatif D-test

ise sırasıyla %5.7 ve %3.6 bulunmuştur. MR-KNS ve MS-KNS suşlarında ise, konstitütif direnç sırasıyla %45.8 ve %14.3, indüklenebilir direnç ise sırasıyla %30.8 ve %11.2 bulunmuştur. Pompa mekanizması MRSA kökenlerinde saptanamaz iken, MS-KNS kökenlerinde yüksek değerlerde %15.3 saptanmıştır.

Yılmaz ve ark. (16)'nın çalışmasında, Trabzon'da 2003-2005 yılları arasında izole edilen *S.aureus* ve KNS suşlarında indüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnç oranı %21.9 bulunmuştur. Hem yapısal direnç, hem indüklenebilir direnç oranı, MRSA suşlarında, MSSA suşlarına göre daha yüksek bulunmuştur.

Sesli Çetin ve ark. (17), 2006-2007 yılları arasında yaptıkları çalışmada, tüm stafilocok suşlarında cMLS<sub>B</sub> direnci en sık direnç fenotip olarak belirlenmiştir. Buna karşı, MSSA suşlarında iMLS<sub>B</sub> direnç fenotipi en sık bulunmuştur.

Çalışmamızda MRSA ve MRKS suşlarında cMLS<sub>B</sub> fenotipi, iMLS<sub>B</sub> fenotipine göre daha yüksek oranda belirlenmiştir; öte yandan, MSSA ve MS-KNS suşlarında birbirine yakın bulunmuştur.

Sonuç olarak, hastanemizde MLS<sub>B</sub> direnci yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Genel olarak yapısal direnç ve indüklenebilir direnç sık tespit edilmiştir. Bu sonuçlar hastanemizde D testin rutin antibiyogram programında uygulanması gerektiğini ve klindamisin'in indüklenebilir makrolid direnci tespit edilen vakalarda tedavi başarısızlığını önlemek için önerilmemesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu açıdan, klinik mikrobiyoloji laboratuvarı çift-disk testini standart olarak kullanmalı ve klinisyeni makrolid direnç fenotipleri hakkında bilgilendirmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Patel M, Waites KB, Moser SA, Cloud GA, Hcsey CJ. Prevalence of inducible clindamycin resistance among community and hospital-associated *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2481-2484.
2. Lim JA, Kwon AR, Kim SK, Chong Y, Lee K, Choi EC. Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 489-495.
3. 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: 4740-4744.
4. Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ, Baumberg S, Wootton JC. Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family. *Mol Microbiol* 1990; 4: 1207-1214.
5. Goldman RC, Capobianco JO. Role of an energy-dependent efflux pump in plasmid pNE24-mediated resistance to 14- and 15-membered macrolides in *Staphylococcus epidermitis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1973-1980.
6. Hamilton-Miller JMT, Shah S. Patterns of phenotypic resistance to the macrolide-lincosamide-ketolide-streptogramin group of antibiotics in staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 941-949.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Seventeenth Informational Supplement M100-S17, 7th ed. 2007; Wayne, Pa.
8. Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1062-1066.
9. Schmitz FJ, Sadurski R, Kray A, Boos M, Geisel R, Köhrer K, et al. Prevalence of macrolide-resistance in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* isolates from 24 European university hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 891-894.
10. Rodrigues Perez LR, Caierão J, Souza Antunes AL, d'Azevedo PA. Use of the D test method to detect inducible clindamycin resistance in coagulase negative staphylococci (CoNS). *Braz J Infect Dis* 2007; 11(2): 186-188.
11. Gadepalli R, Dhawan B, Mohanty S, Kapil A, Das BK, Chadhry R. Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Indian J Med Res* 2006; 123: 571-573.
12. Focas S, Fokas S, Tsironi M, Kalkani M, Dionysopoulou M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus* spp. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 : 337-340.
13. Tunçkanat F, Arıkan S. Phenotypes of staphylococcal resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin B (MLS) in a Turkish university hospital. *Zentralbl Bakteriol* 2000; 289: 827-833.
14. Delialioğlu N, Aslan G, Oztürk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58 : 104-106.
15. Azap ÖK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruç E, Gağır Ü. Incidence of inducible clindamycin resistance in staphylococci: first results from Turkey. *Clin Microb Infect* 2005; 11 : 582-584.
16. Yılmaz G, Aydın K, Iskender S, Caylan R, Koksall I. Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci. *J Med Microbiol* 2007; 56 : 342-345.
17. Sesli Çetin E, Gunes H, Kaya S, Cicioğlu Arıdoğan B, Demirci M. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates. *Intern J Antimicrob Agents* 2008; 31; 364-368.