

Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Vankomisin ve Daptomisin Duyarlılık Oranlarının E-Test Yöntemiyle Araştırılması

The Evaluation of Vancomycin and Daptomycin Susceptibility by E-Test Method in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates

Firdevs AKSOY¹, Ilknur YAVUZ¹, Gürdal YILMAZ¹, Selçuk KAYA¹, İftihar KÖKSAL¹

¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

ÖZET

Giriş: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları nozokomiyal epidemilere yol açabilen bir patojen olmaları ve beraberinde çoklu antibiyotik direnci göstermeleri nedeniyle tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaya devam etmektedir. MRSA'ların bugün kullanımda olan pek çok antibiyotiğe direnç kazanmış durumda olmaları, yeni antistafilokokal antibiyotiklerin geliştirilmesi gereksinimine neden olmaktadır. Siklik lipopeptidlerin ilk temsilcisi olan daptomisin bu bağlamda etkin antistafilokokal ilaçlar arasında yer alan yeni bir antibiyotiktir. Bu çalışmada, MRSA'larda vankomisin ve daptomisin duyarlılıklarının E-test yöntemiyle incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada, hastanemizde 2000-2006 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 51 MRSA suşunun vankomisine ve daptomisine *in vitro* duyarlılıkları araştırıldı. Duyarlılık testleri Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerinde vankomisin ve daptomisin stripleri kullanılarak E-test yöntemiyle yapıldı.

Bulgular: MRSA suşlarının tümü E-test yöntemiyle vankomisine ve daptomisine duyarlıydı. Vankomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) aralığı 0.5-1 µg/mL, daptomisin MİK aralığı 0.094-0.75 µg/mL olarak saptandı. Daptomisinin MİK₅₀ değeri 0.25 µg/mL, MİK₉₀ değeri ise 0.38 µg/mL iken; vankomisinin MİK₅₀ değeri 0.75 µg/mL, MİK₉₀ değeri 1 µg/mL idi.

Sonuç: Sonuçlarımızda vankomisin MİK değerleri üst sınırdan belirlenmiştir. Bu sonuç vankomisin tedavisinde direnç ve klinik başarısızlık için alarm olarak algılanmalıdır. Daptomisin ise düşük MİK değerleriyle MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde iyi bir seçenek olabilecek gibi görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, Vankomisin, Daptomisin

SUMMARY

The Evaluation of Vancomycin and Daptomycin Susceptibility by E-Test Method in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates

Firdevs AKSOY¹, İlknur YAVUZ¹, Gürdal YILMAZ¹, Selçuk KAYA¹, İftihar KÖKSAL¹

¹ Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Karadeniz Technical, Trabzon, Turkey

Introduction: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a nosocomial pathogen that can lead to epidemics and because of its multiple antibiotic resistance, it continues to pose a serious health problem all over the world. In many cases, MRSA becomes resistant to antibiotics in use today, which results in the need for the development of new anti-staphylococcal antibiotics. The first representative of cyclic lipopeptides, daptomycin, in this context, is a new antibiotic among effective anti-staphylococcal drugs. In this study, vancomycin and daptomycin susceptibilities of MRSA strains were investigated with the E-test method.

Materials and Methods: In the study, the vancomycin and daptomycin susceptibilities of 51 MRSA strains isolated as cause of infection from various clinical specimens in our hospital were investigated in vitro between the years 2000 and 2006. Susceptibility tests were performed with E-test method by using vancomycin and daptomycin strips in Mueller-Hinton agar (MHA) medium.

Results: All strains of MRSA were sensitive to vancomycin and daptomycin with E-test method. Vancomycin minimal inhibitory concentration (MIC) range was 0.5-1 µg/mL and daptomycin MIC range was 0.094-0.75 µg/mL. Daptomycin MIC₅₀ was 0.25 µg/mL and MIC₉₀ was 0.38 µg/mL; whereas, vancomycin MIC₅₀ was 0.75 µg/mL and MIC₉₀ was 1 µg/mL.

Conclusion: MIC values determined for vancomycin were at the highest level among the results. That may be taken as a sign of alarm for the resistance and clinical treatment failure of vancomycin. With the low MIC values, daptomycin seems to be a better option in the treatment of MRSA infections.

Key Words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Vancomycin, Daptomycin

GİRİŞ

Günümüzde tüm dünyada metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gittikçe artan oranda önemli bir klinik problem oluşturmakta ve MRSA enfeksiyonları morbidite ve mortalite nedeni olarak önemlerini sürdürmektedir. Hastanelerde epidemilere yol açabilmesi, bir patojen olmaları ve bu suşların çoğunlukla çoklu ilaç direnciyle seyretmesi ve tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı sonucunda MRSA gittikçe artan oranda ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır^[1].

MRSA suşlarının yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotikler ön plana çıkmakta ve bu antibiyotiklerin etkinliğinin antibiyotik duyarlılık testleriyle belirlenmesi önem taşımaktadır^[2].

MRSA'ların bugün kullanımda olan pek çok antibiyotiğe direnç kazanmış durumda olmaları, yeni antistafilokokal antibiyotiklerin geliştirilmesi gereksinimine neden olmaktadır. Siklik lipopeptidlerin ilk temsilcisi olan daptomisin bu bağlamda etkin antistafilokokal ilaçlar arasında yer alan yeni bir antibiyotiktir^[3].

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarında vankomisin ve daptomisin du-

yarlılıklarının E-test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada, 2000-2006 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 51 MRSA suşunun vankomisine ve daptomisine in vitro duyarlılıkları araştırıldı. Suşların izolasyonu ve tanımlanması standart ve konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle gerçekleştirildi. Duyarlılık testleri Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerinde vankomisin ve daptomisin stripleri kullanılarak E-test yöntemiyle yapıldı. Duyarlılık sonuçları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine göre değerlendirildi^[4,5].

Çalışmaya alınan MRSA izolatları için 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu MHA petri yüzeyine steril pamuklu çubuk kullanılarak ekildi. Antibiyotiklerin MİK değerlerini elde etmek amacıyla E-test stripleri yerleştirildi ve etüvde 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandığında sonuçlar değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmada klinik örneklerden infeksiyon etkeni 51 MRSA suşunun en çok izole edildiği klinik örnek trakeal aspirat ve yara örnekleri olmuştur. Suşların %29.4'ü trakeal aspirat, %23.5'i yara ve %13.7'si kandan izole edildi. MRSA suşlarının izole edildiği diğer klinik örnekler Tablo 1'de görülmektedir.

MRSA suşlarının tümü E-test yöntemiyle vankomisine ve daptomisine duyarlıydı. Vankomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) aralığı 0.5-1

$\mu\text{g/mL}$, daptomisin MİK aralığı 0.094-0.75 $\mu\text{g/mL}$ olarak saptandı. Daptomisin için MİK₅₀ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ ve MİK₉₀ 0.38 $\mu\text{g/mL}$ iken, vankomisin için MİK₅₀ 0.75 $\mu\text{g/mL}$ ve MİK₉₀ 1 $\mu\text{g/mL}$ idi (Şekil 1).

MRSA suşlarında vankomisin MİK değerlerinin 0.75-1 $\mu\text{g/mL}$ 'de yoğunlaşması dikkat çekiciydi.

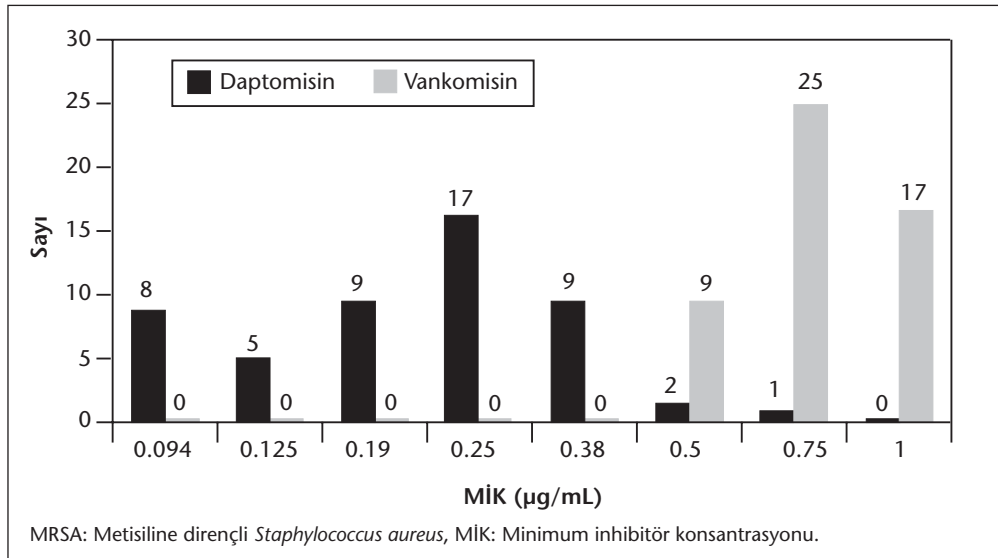
TARTIŞMA

MRSA suşları nozokomiyal epidemilere yol açabilmeleri ve beraberinde çoklu antibiyotik direnci göstermeleri nedeniyle tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaya devam etmektedir. Oluşan ciddi infeksiyonlar sonucunda hastalarda morbidite ve mortalite artmakta, hastanede kalış süresi uzamakta ve maliyet yükselmektedir^[1,2]. MRSA suşlarında glikopeptidlere karşı direncin gelişmesi yeni antistafilokoksik antibiyotiklere gereksinim duyulduğunu göstermektedir^[1-3,6,7]. Daptomisin klinik kullanıma yeni giren siklik lipopeptid ajanların ilk üyesidir. Etki spektrumu MRSA, vankomisine orta dirençli *S. aureus*, vankomisine dirençli *S. aureus*, vankomisine dirençli enterokoklar ve penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* gibi dirençli türler de dahil olmak üzere gram-pozitif bakterilerdir. Daptomisin, duyarlı bakterilerin sitoplazmik membranına, molekülün hidrofo-bik ucuna kalsiyum kanallarıyla irreversible olarak bağlanarak, membran depolarizasyonuna neden olur. Güçlü bakterisidal etkisi sayesinde hücre lizisi yapmadan hücre ölümünü gerçekleştirir. Birçok çalışmada,

Tablo 1. MRSA suşlarının izole edildiği örnekler

Örnek	Örnek sayısı	
	Sayı	%
Trakeal aspirat	15	29.4
Yara	12	23.5
Kan	7	13.7
Püy	6	11.8
Plevral mayi	3	5.9
Balgam	3	5.9
Kulak	2	3.9
İdrar	1	1.9
Dren	1	1.9
Kateterden alınan kan	1	1.9

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*.



Şekil 1. MRSA suşlarında daptomisin ve vankomisin MİK değerleri.

daptomisin özelliikle ciddi ve dirençli gram-pozitif bakteri infeksiyonlarında iyi bir tedavi seçeneği olduğu belirtilmiş ve uluslararası kılavuzlarda alternatif tedaviler arasında yerini almıştır^[3,8,9].

MRSA infeksiyonlarında glikopeptidler önemli bir tedavi imkanı sağlamakla birlikte, eradikasyon gücünün zayıflığı ve yan etkileri nedeniyle daha etkin antibiyotikleri araştırma çalışmaları devam etmektedir. Son yıllarda glikopeptidlerde MRSA için MİK değerleri de yükselmektedir^[10]. MİK değerleri $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ olduğunda standart vankomisin uygulama dozlarının ideal farmakokinetik değerleri yakalayamadığı bildirilmiştir^[11,12]. Ayrıca, vankomisin Hastane İnfeksiyon Kontrol Pratikleri Tavsiye Komitesi (HICPAC) önerilerine göre uygun endikasyonda kullanılmadığında, vankomisine dirençli *S. aureus* kolonizasyonu ve infeksiyon riski artmaktadır^[13]. Appleman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vankomisin için ortalama MİK MRSA için 1.7-1.1 $\mu\text{g/mL}$ arasında iken, daptomisin için 1 $\mu\text{g/mL}$ olarak bildirilmiştir. Daptomisinin MRSA ve metisiline duyarlı *S. aureus* suşlarına karşı mükemmel inhibitör ve bakterisidal aktivitesinin olduğu, vankomisinin inhibitör aktivitesinin zaman içinde azaldığı gösterilmiştir^[14]. Sader ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 410 klinik izolatta *S. aureus* suşlarında vankomisin ve daptomisin aktiviteleri değerlendirildiğinde, daptomisinin vankomisine azalmış duyarlılık gösteren *S. aureus* suşlarına karşı güçlü bakterisidal aktivitesini koruduğu gösterilmiştir^[15]. Ülkemizden Öksüz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MRSA suşlarında vankomisin için MİK₅₀ 1.5 $\mu\text{g/mL}$ ve MİK₉₀ 1.5 $\mu\text{g/mL}$, daptomisin için ise MİK₅₀ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ ve MİK₉₀ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada da daptomisinin MRSA suşlarına karşı iyi etkili olduğu bulunmuş ve vankomisin MİK değerindeki değişikliklerin klinik olarak anlamlı olabileceğinden, vankomisin MİK'i duyarlılık sınırını geçtiğinde dikkatli kullanılması gerektiği vurgulanmıştır^[6]. Çalışmamızda vankomisin MİK değerlerinde 0.75-1 $\mu\text{g/mL}$ 'de yoğunlaşma tespit edilirken, daptomisin MİK aralığı 0.094-0.75 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarımız literatürle benzerlik göstermektedir.

Irmak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 260 MRSA suşunda daptomisine %0.4 oranında direnç olduğu bildirilmiştir^[16]. Başka bir çalışmada da MRSA suşlarında daptomisine direnç (MİK= 2 $\mu\text{g/mL}$) bildirilmiştir^[17]. Çalışmamızda daptomisine karşı dirençli MRSA suşu tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak; vankomisin MRSA infeksiyonlarının tedavisinde yerini almaya bundan sonra da devam edecektir. Ancak direnç sorunları nedeniyle yerini gelecekte alternatif ajanlara bırakması olası görünmektedir. Çalışmamızda vankomisin MİK değerlerinin üst sınırdaki belirlenmiş olması, vankomisin tedavisinde direnç ve klinik başarısızlık için alarm olarak algılanmalıdır. Daptomisin ise düşük MİK değerleriyle MRSA infeksiyonlarının tedavisinde umut vadeden, vankomisine alternatif olabilecek iyi bir tedavi seçeneği gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

1. Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:3-8.
2. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Beach M and the SENTRY Participants group. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32:114-32.
3. Crompton JA, North DS, Yoon M, Steenbergen JN, Lamp KC, Forrest GN. Outcomes with daptomycin in the treatment of *Staphylococcus aureus* infections with a range of vancomycin MICs. *Antimicrob Chemother* 2010;65:1784-91.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute: M100-S16, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. Wayne, PA: CLSI; 2006.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute: M100-S19 Standards for antimicrobial susceptibility testing. 2009.
6. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilokok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in-vitro duyarlılık sonuçları. *ANKEM* 2009;23:71-7.
7. Carpenter CF, Chambers HF. Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clin Infect Dis* 2004;38:994-1000.
8. Pfaller MA, Sader HS, Jones RN. Evaluation of the in vitro activity of daptomycin against 19615 clinical isolates of gram-positive cocci collected in North American hospitals (2002-2005). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:459-65.
9. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis* 2011;53:319.
10. Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates

- from a university hospital during a 5-year period. *J Clin Microbiol* 2006;44:3883-6.
11. Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschaher JC, Moellering RC, Craig WA, Billeter M, et al. Vancomycin therapeutic guidelines: a summary of consensus recommendations from the Infectious Diseases Society of America, the American Society of Health-System Pharmacists, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Clin Infect Dis* 2009;49:325-7.
 12. Özaras R, Tabak F. Daptomisin. *Klimik Dergisi* 2010;23:35-8.
 13. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR* 1995;44:1-13.
 14. Appleman MD, Citron DM. Efficacy of vancomycin and daptomycin against *Staphylococcus aureus* isolates collected over 29 years. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;66:441-4.
 15. Sader HS, Becker HK, Moet GJ, Jones RN. Antimicrobial activity of daptomycin tested against *Staphylococcus aureus* with vancomycin MIC of 2 microg/mL isolated in the United States and European hospitals (2006-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;66:329-31.
 16. Irmak H, Cesur S, Simsek H, Coplu N, Kilic H, Arslan U, et al. The evaluation of VISA and VRSA in MRSA strains isolated from patients hospitalized at intensive care units in Turkey. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, P1665, Vienna, Austria, 10-13 April 2010.
 17. Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F, Gómez M, Grupo VIRA. Comparative activity of daptomycin against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:13-6.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Firdevs AKSOY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Trabzon-Türkiye

E-posta: faslanaksoy@yahoo.com