

## ÖZGÜN ÇALIŞMA

### NOZOKOMİYAL STAFİLOKOK İZOLATLARI ARASINDA YAPISAL VE İNDÜKLENEBİLİR KLİNDAMİSİN DİRENCİ

#### ORIGINAL ARTICLE

#### CONSTITUTIVE AND INDUCIBLE CLINDAMYCIN RESISTANCE AMONG NOSOCOMIALLY ACQUIRED STAPHYLOCOCCI

**Murat DİZBAY<sup>1</sup>, Özgür GÜNAL<sup>1</sup>, Yavuz ÖZKAN<sup>1</sup>, Derya ÖZCAN KANAT<sup>1</sup>  
Arzu ALTUNÇEKİÇ<sup>1</sup>, Dilek ARMAN<sup>1</sup>**

**ÖZET:** Nozokomiyal stafilocok izolatları arasında giderek artan metisilin direnci önemli bir problemdir. Bu suşlarda diğer grup antibiyotiklere de direnç yaygın olarak görülmektedir. Klindamisin, ucuz ve etkin bir antibiyotik olarak özellikle karın içi ve deri-yumuşak doku enfeksiyonu tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak stafilocok suşlarındaki olası indüklenabilir klindamisin direnci nedeniyle kullanımı çekince oluşturmaktadır. Bu çalışmada nozokomiyal *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocok (KNS) suşları arasındaki yapısal ve indüklenabilir klindamisin direncinin prevalansı araştırılmıştır. Toplam 375 stafilocok izolatı CLSI kriterlerine göre disk difüzyon indüksiyon testi (D-test) yöntemi kullanılarak eritromisin ve klindamisin diskleri ile test edilmiştir. Metisilin direncinin tespiti için ise oksasilin diskleri kullanılmıştır. Eritromisine dirençli (ER-R) ve klindamisine duyarlı (CL-S) izolatlarda klindamisin diski etrafında D şeklindeki bir zonun bulunması indüklenabilir direnç varlığı için pozitif olarak kabul edilmiştir (D-test pozitif). Metisiline dirençli *S.aureus* suşlarının %64.4'ünde, metisiline duyarlı *S.aureus* suşlarının %11.8'inde, metisiline dirençli KNS'ların %53.8'inde ve metisiline duyarlı KNS'ların %4.9'unda yapısal klindamisin direnci saptanmıştır. Eritromisin dirençli, klindamisin duyarlı (ER-R/CL-S) fenotipi KNS suşları arasında daha sık saptanmıştır. Bu suşlar arasında indüklenabilir klindamisin direnci *S.aureus* için %90, KNS için ise %52.2 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, ER-R/CL-S fenotipi gösteren suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde klindamisin kullanımından kaçınmak, olası bir tedavi başarısızlığını önleyecek, ancak klindamisin tedavisine yanıt verebilecek olgularda bu tedavinin kullanılmamasına yol açacaktır. Dolayısıyla bu kararın lokal prevalans verilerine göre verilmesi uygun olacaktır kanısındayız.

**Anahtar sözcükler:** Klindamisin, direnç, D-test, *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilocok.

**ABSTRACT:** Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci (CNS) has become an increasing problem in hospital settings. These strains often reveal resistance to various drug classes in addition to beta-lactam resistance. Clindamycin, as a well-tolerated and cost-effective antimicrobial agent, is

<sup>1</sup> Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (muratdizbay@gazi.edu.tr)

used widely in the treatment of intra-abdominal and skin-soft tissue infections. However, a major concern with regard to the use of clindamycin for staphylococcal infections is the possible presence of inducible resistance to clindamycin. The aim of this study was to determine the prevalence of constitutive and inducible clindamycin resistance among nosocomially acquired *S.aureus* and CNS strains. A total of 375 staphylococcal isolates were tested for clindamycin and erythromycin by the disk diffusion induction test (D-test) according to CLSI criteria. Oxacillin disks were used for the detection of methicillin resistance. The isolates resistant to erythromycin (ER-R) and susceptible to clindamycin (CL-S) with a D-shaped zone around clindamycin disk were considered positive for inducible resistance (D-test positive). Constitutive clindamycin resistance was found in 64.6% of methicillin-resistant *S.aureus*, 11.8% of methicillin-susceptible *S.aureus*, 53.8% of methicillin-resistant CNS and 4.9% of methicillin-susceptible CNS. Erythromycin-resistant clindamycin-susceptible (ER-R/CL-S) phenotype was found more frequent in CNS than in *S.aureus* strains. Among these strains, inducible clindamycin resistance was detected in 90% of *S.aureus* and 52.2% of CNS. In conclusion, to avoid using clindamycin when the antibiotic susceptibility test result showed an ER-R/CL-S phenotype may prevent a possible clindamycin treatment failure since inducible clindamycin resistance is frequent among such isolates, however, it may also deter the use of clindamycin in the treatment of infections that would likely respond to clindamycin therapy. Decision about clindamycin use for staphylococci with the ER-R/CL-S phenotype should be made according to the local prevalence data.

*Key words: Clindamycin, resistance, D-test, Staphylococcus aureus, coagulase-negative staphylococci.*

## GİRİŞ

Nozokomiyal *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklardaki (KNS) başta metisilin direnci olmak üzere giderek artan antimikrobiyal direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sorun olmaya devam etmektedir<sup>1</sup>. Metisilin dirençli suşlarda beta-laktam direncine ek olarak diğer grup ilaçlara da direnç sık görülmektedir<sup>1</sup>.

Makrolid, linkozamid ve streptogramin (MLS) grubu antibiyotikler, gram-pozitif bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Klindamisin deri-yumuşak doku ve intraabdominal organ enfeksiyonlarında sık kullanılan bir antibiyotiktir. İntravenöz ve oral formlarının olması ardışık tedavide kullanılmasına izin vermektedir. Ayrıca yeni antistafilokokal ajanlardan daha maliyet etkindir. Ancak olası indüklenabilir direnç varlığı nedeniyle stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde klindamisin kullanımı bir çekince yaratmaktadır<sup>2</sup>. *Erm* geni varlığında 23S rRNA'nın metilasyonu yoluyla ribozomal bağlanma yerinde modifikasyon ortaya çıkar ve bunun sonucunda makrolidlere, linkozamidlere ve grup B streptograminlere direnç (MLS<sub>B</sub> direnci) gelişir. İndüklenabilir MLS<sub>B</sub> direnci rutinde eritromisin ve klindamisin disklerinin uygun bir şekilde yerleştirilmesiyle disk difüzyon testiyle saptanabilir<sup>3</sup>.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen nozokomiyal *S.aureus* ve KNS izolatları arasındaki yapısal ve indüklenabilir klindamisin direnci prevalansının saptanması ve ayrıca klindamisin direnci ile metisilin direnci arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak - Aralık 2005 tarihleri arasında klinik örneklerden izole edilen 375 nozokomiyal stafilokok suşu dahil edildi. Bu izolatların 65'i metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), 68'i metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA), 160'ı metisiline dirençli KNS (MR-KNS) ve 82'si metisiline duyarlı KNS (MS-KNS) olarak tanımlandı.

Suşların oksasilin, klindamisin ve eritromisine olan duyarlılıkları CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı<sup>4</sup>. Kalite kontrol suşu olarak *S.aureus* ATCC 25923 kullanıldı. Mueller-Hinton agar plaklarına ekim yapıldıktan sonra eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri (Becton-Dickinson, USA) 2 cm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirildi. 35°C'de 18 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon zonları okundu. Eritromisine dirençli (ER-R) ve klindamisine duyarlı (CL-S) izolatlarda klindamisin diski etrafında D şeklindeki bir zonun bulunması indüklenabilir direnç varlığı için pozitif olarak değerlendirildi (D-test pozitif). Eğer bir suş ER-R ve CL-S olup D-test negatif ise, buradaki direncin indüklenabilir dirence bağlı değil, aktif dışatım (efflux) pompasına bağlı olduğu kabul edildi. ER-R ve CL-R izolatlar ise yapısal olarak MLS<sub>B</sub> dirençli olarak kabul edildi<sup>3,5</sup>.

## BULGULAR

Yapısal MLS<sub>B</sub> direnci hem *S.aureus*'da hem de KNS'larda metisilin dirençli olan grupta anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ( $p<0.01$ ). MSSA izolatlarının %79.4'ü eritromisin ve klindamisine duyarlı iken, MRSA izolatlarının ancak %29.2'si duyarlı bulunmuştur. Benzer şekilde MS-KNS izolatlarının %68.3'ü duyarlı iken, MR-KNS izolatlarının %18.1'i duyarlı olarak saptanmıştır (Tablo I).

**Tablo I.** Nozokomiyal Stafilokok İzolatları Arasında Eritromisin ve Klindamisin Direnç Fenotipleri

|                        | MRSA<br>sayı (%) | MSSA<br>sayı (%) | MR-KNS<br>sayı (%) | MS-KNS<br>sayı (%) |
|------------------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| ER-S, CL-S             | 19 (29.2)        | 54 (79.4)        | 29 (18.1)          | 56 (68.3)          |
| ER-R, CL-R             | 42 (64.6)        | 8 (11.8)         | 86 (53.8)          | 4 (4.9)            |
| ER-R, CL-S             | 4 (6.2)          | 6 (8.8)          | 45 (28.1)          | 22 (26.8)          |
| D-test pozitif/negatif | 4/0              | 5/1              | 24/21              | 11/11              |
| Toplam                 | 65 (100)         | 68 (100)         | 160 (100)          | 82 (100)           |

MRSA: Metisiline dirençli *S.aureus*, MSSA: Metisiline duyarlı *S.aureus*, MR-KNS: Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok, MS-KNS: Metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilokok, ER-S: Eritromisine duyarlı, ER-R: Eritromisine dirençli, CL-S: Klindamisine duyarlı, CL-R: Klindamisine dirençli.

ER-R, CL-S fenotipi KNS'lerde (%27.7) *S.aureus*'a (%6.8) göre daha sık saptanmıştır ( $p<0.01$ ). Bu suşlar arasında D-test metoduyla indüklenabilir MLS<sub>B</sub> direnci *S.aureus*'da %90, KNS'larda %52.2 oranında tespit edilmiştir. Toplam olarak bütün *S.aureus* suşlarının %6.8'inde, KNS'ların ise %14.1'inde indüklenabilir MLS<sub>B</sub> direnci belirlenmiştir.

## TARTIŞMA

Klindamisin, stafilokokların etken olduğu kas-iskelet sistemi, deri-yumuşak doku ve intraabdominal enfeksiyonlar gibi durumlarda iyi bir tedavi seçeneğidir. Oral formunun bulunması, hastaların ayaktan tedavisinde veya ardışık tedavide kullanımına imkan vermektedir. Klindamisin direnci yapısal veya indüklenebilir olabilir. Daha önce değinildiği gibi yapısal klindamisin direnci hem eritromisine hem de klindamisine direnç olması durumunda kolaylıkla tanınabilmektedir. İndüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci ise D-test metodu uygulanmadıkça standart duyarlılık test metodlarıyla saptanamamaktadır.

İndüklenebilir MLS<sub>B</sub> direnci klinikte tedavi yetmezliği ile sonuçlanabilmektedir<sup>6,7</sup>. Bu nedenle bu direncin rutin olarak test edilmesi önerilmektedir<sup>2,3</sup>. Yapısal ve indüklenebilir klindamisin direnci farklı bölgeler hatta aynı bölgedeki farklı hastaneler arasında değişiklik gösterebilmektedir<sup>8</sup>.

Çalışmamızda yapısal klindamisin direnci MRSA'larda anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Ülkemizden yapılan diğer çalışmalarda da, MRSA izolatları arasında %43.7-64, MR-KNS izolatları arasında %45.8-53.3 yapısal klindamisin direnci saptanırken, MSSA izolatları arasında %0.4-6, MS-KNS izolatlarında ise %14.3-18.9 direnç saptanmıştır<sup>9,10</sup>. Yapısal klindamisin direncinin prevalansının yüksek oluşu, klindamisinin özellikle MRSA ve MR-KNS'ların endemik olduğu hastanelerde kısıtlı kullanımına neden olabilmektedir. Türkiye'de nozokomiyal stafilokok izolatları arasında metisilin direnci %35-58.4 arasında değişmektedir<sup>11</sup>. Metisilin direnç oranları özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) daha yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, National Nosocomial Infection Surveillance verilerine göre YBÜ'lerinden izole edilen *S.aureus* suşlarının %52.9'u, KNS'ların ise %76.6'sı metisiline dirençlidir<sup>12</sup>.

ER-R, CL-S fenotipi KNS izolatlarında daha yüksek saptanmakla birlikte, indüklenebilir klindamisin direnci *S.aureus* suşlarında daha yaygın bulunmuştur. ER-R, CL-S fenotipi olan *S.aureus* suşlarının %90'ı, KNS suşlarının %52.3'ü D-test pozitif saptanmıştır. Bu sonuçlar, dışatım (efflux) pompası aracılı direncin hastanemizdeki KNS izolatlarında daha yaygın olduğunu göstermektedir. Türkiye'den yapılan diğer çalışmalarda benzer şekilde KNS'larda dışatım aracılı direnç daha yaygın olarak bulunmuştur<sup>9,10</sup>. Fiebelkorn ve arkadaşlarının<sup>3</sup> çalışmasında ise, *S.aureus* izolatlarının %50'sinde, KNS izolatlarının ise %33'ünde ER-R, CL-S fenotipi saptanmış, indüklenebilir direnç ise gözlenmemiştir. Bu veriler indüklenebilir klindamisin direncinin coğrafi bölgelere göre değişebileceğini göstermektedir.

Son yıllarda klinisyenler, antibiyotik duyarlılık sonuçlarında ER-R, CL-S fenotipini gördüklerinde olası bir indüklenebilir direnç varlığı nedeniyle klindamisin kullanımından kaçınmaktadırlar. Bu yaklaşım, özellikle *S.aureus* enfeksiyonlarında olası bir tedavi başarısızlığını önleyebilir, ancak klindamisin tedavisine cevap verebilecek enfeksiyonlarda klindamisinin kullanılmamasına da yol açabilmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda, yapısal klindamisin direncinin metisiline dirençli stafilokoklarda daha sık saptanmış olması, bu

suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde klindamisinin kullanılmaması gereğini vurgulamaktadır. Hastanemizde nozokomiyal stafilokok izolatları arasında metisilin direncinin yüksek oluşu, klindamisinin tedavide kullanımını kısıtlamaktadır. ER-R, CL-S fenotipi KNS'ler arasında daha yaygın görülmekle birlikte, indüklenebilir klindamisin direnci *S.aureus* suşları arasında daha sıktır. ER-R, CL-S fenotipi olan *S.aureus* suşlarıyla gelişen enfeksiyonların tedavisinde klindamisinin kullanımının uygun olmayacağı öngörülebilir. Ancak eritromisine dirençli KNS'ların %50'sinden fazlası klindamisine duyarlıdır ve bu hastaların tedavisinde güvenle kullanılabilir. ER-R, CL-S fenotipi bölgeler arasında çok farklılık gösterebileceğinden bu karar lokal verilere göre verilmelidir.

#### KAYNAKLAR

1. Fluit AC, Wielders CLC, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY Study. J Clin Microbiol 2001; 39: 3727-32.
2. Lewis II JS, Jorgensen JH. Inducible clindamycin resistance in staphylococci: should clinicians and microbiologists be concerned? Clin Infect Dis 2005; 40: 280-5.
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: 4740-4.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Fifteenth Informational Supplement. 2005, M100-S15. CLSI, Wayne, Pennsylvania.
5. Hamilton-Miller JM, Shah S. Patterns of phenotypic resistance to the macrolide-lincosamide-ketolide-streptogramin group of antibiotics in staphylococci. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 941-9.
6. Siberry GK, Tekle T, Carroll K, Dick J. Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro. Clin Infect Dis 2003; 37:1257-60.
7. Levin TP, Suh B, Axelrod P, Truant AL, Fekete T. Potential clindamycin resistance in clindamycin-susceptible, erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus*: report of a clinical failure. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49:1222-4.
8. 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.
9. Azap OK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruc E, Gagir U. Incidence of inducible clindamycin resistance in staphylococci: first results from Turkey. Clin Microb Infect 2005; 11: 582-4.
10. Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. Jpn J Infect Dis 2005; 58:104-6.
11. Dokuzoğuz B. Metisiline dirençli *Staphylococcus*'a bağlı hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü, s: 55-71. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed), Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. 2004, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
12. National Nosocomial Infection Surveillance System (NNIS). NNIS System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004; 32: 470-85.