

# KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN MRSA SUŞLARINDA VANKOMİSİNE KARŞI AZALMIŞ DUYARLILIĞIN ARAŞTIRILMASI\*

## EVALUATION OF REDUCED SUSCEPTIBILITY TO VANCOMYCIN AMONG MRSA STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS

Elif AKTAŞ<sup>1</sup>, Fırat Zafer MENGELOĞLU<sup>1</sup>, Canan KÜLAH<sup>1</sup>, Füsün BEĞENDİK CÖMERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak. (drelifaktas@yahoo.com)

### ABSTRACT

In this study, a total of 390 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens between April 2004 and June 2008, in a university hospital in Zonguldak (located at Black Sea region), Turkey, were evaluated retrospectively for reduced susceptibility to vancomycin. Brain heart infusion (BHI) plates containing 4 and 6 µg/ml of vancomycin were used to screen for vancomycin intermediate *S.aureus* (VISA) strains. Additionally, vancomycin minimal inhibitory concentrations (MIC) of the isolates were determined by agar dilution method. No growth was observed on the screen plates after 24 and 48 hours of incubation. None of the isolates revealed MIC values equal to or higher than 2 µg/ml; MIC<sub>90</sub> and MIC<sub>50</sub> values were 1 µg/ml. Although VISA isolates were not detected in this study, no data was obtained for heterogeneous VISA isolates since macro-E test or population analysis were not performed. It was concluded that systematic surveillance of MRSA isolates is of particular importance to investigate the presence of VISA/hVISA isolates which may lead to treatment failures and hospital epidemics.

**Key words:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*, heterogenous VISA.

### Sayın Editör,

1996 yılından beri dünyanın değişik bölgelerinden vankomisine orta duyarlı *Staphylococcus aureus* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonlar bildirilmektedir<sup>1</sup>. Henüz ülkemizden bildiri olmasa da, bu izolatların rutin antimikrobiyal duyarlılık testleri ile belirlenememesi ve ülkemizde de vankomisinin oldukça yaygın olarak kullanılıyor olması, yakın zamanda karşı karşıya kalabileceğimiz ciddi bir sorun için uyarıcı özelliكتedir. "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)" ve "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)", *S.aureus* izolatları için vankomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri ≤ 2 µg/mL ise duyarlı (VSSA), MİK= 4-8 µg/ml ise orta duyarlı (VISA) ve MİK ≥ 16 µg/ml ise dirençli (VRSA) olarak kabul etmektedir<sup>1,2</sup>. Heterojen VISA (hVISA) terimi ise, vankomisine duyarlı bir *S.aureus* suşunun vankomisine duyarlı olmayan alt popülasyonu içermesi durumunu tanımlamaktadır<sup>3</sup>.

\* Bu çalışma XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (21-25 Ekim 2008, Bodrum) poster olarak sunulmuştur.

Nisan 2004-Haziran 2008 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerinden izole edilen metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) izolatlarında geriye dönük olarak vankomisine karşı azalmış duyarlılığın olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmaya 390 MRSA izolatı (176 yara, 80 trakeal aspirat, 41 kan, 25 bronkoalveolar lavaj, 15 balgam, 14 doku, 11 periton sıvısı, 10 kateter ucu, 7 idrar, 7 plevra sıvısı, 4 boğaz sürüntüsü) dahil edilmiş; izolatlar konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmış ve gerektiğinde API 20 Staph (BioMerieux, Fransa) sistemi kullanılmıştır. Oksasilin direnci, oksasilin tarama agar besiyeri ve disk difüzyon yöntemi (oksasilin ve sefoksitin diskleri kullanılarak) ile saptanmış; VISA ise, 4 ve 6 µg/ml vankomisin içeren beyin-kalp infüzyon (BHI) agar (BBL, Becton Dickinson) besiyerleri kullanılarak yapılmış ve sonuçlar 24 ve 48. saatler sonunda değerlendirilmiştir<sup>1,3</sup>. Ayrıca izolatların vankomisin MİK değerleri, 0.125-16 µg/ml arasında vankomisin içeren Mueller-Hinton agar besiyerleri kullanılarak agar dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol olarak *S.aureus* ATCC 29213, Mu3 hVISA suşu (K.Hiramatsu, Juntendo Üniversitesi, Japonya'dan sağlanmıştır) ve laboratuvarımızda daha önce izole edilmiş ve *vanA* geni gösterilmiş vankomisine dirençli bir *Enterococcus faecium* (VRE) suşu kullanılmıştır. Çalışmamızda, izolatların hiçbirisi 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra 4 ve 6 µg/ml vankomisin içeren tarama besiyerlerinde ürememiş ve hiçbir izolatta vankomisin için 2 µg/ml veya üzerinde MİK değeri saptanmıştır. Suşların MİK<sub>90</sub> ve MİK<sub>50</sub> değerleri 1 µg/ml olarak belirlenmiş ve izolatlar arasında VISA suşuna rastlanmamıştır. Vankomisin MİK değerleri; kontrol standart suş için 1 µg/ml, Mu3 suşu için 2 µg/ml ve VRE suşu için > 16 µg/ml olarak bulunmuştur.

Stafilokoklarda vankomisine karşı azalmış duyarlılık, disk difüzyon metoduyla saptanamamaktadır<sup>1-3</sup>. Gerek VRSA, gerekse VISA/hVISA suşlarının tarama ve saptanmasında otomatize sistemler, agar dilüsyon, mikrodilüsyon, popülasyon analizi profili (PAP) ve makro E-test olmak üzere farklı yöntemler kullanılmaktadır<sup>2</sup>. CDC tarafından VISA taraması için 6 µg/ml vankomisin içeren BHI agara 0.5 McFarland bulanıklıktaki bakteri süspansiyonundan ekim yapılarak 24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirme önerilmektedir<sup>1</sup>. Vankomisinli tarama besiyerlerinin duyarlılık ve özgüllükleri yüksek değildir, ancak uygulamanın kolay, hızlı ve ucuz olması ve CDC tarafından önerilmesi nedeniyle kullanımları devam etmektedir. Doğrulama yöntemleri, tarama besiyerlerinde üreme gözlenen izolatlar için önerilmektedir. Çalışmamızda ise, tarama amacıyla hem 4 hem de 6 µg/ml vankomisin içeren besiyerleri kullanılmış, MİK değerlerinin tespiti de agar dilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.

Çeşitli çalışmalarda, ülkeler arasında değişen oranlarda VISA ve hVISA bildirilmektedir<sup>3-6</sup>. Ulaşılabildiği kadarıyla ülkemizde yapılan çalışmalarda henüz VISA bildirim yapılmamıştır<sup>7-15</sup>. Ancak Türkiye'de ilk hVISA suşu 1998 yılında rapor edilmiş<sup>7</sup>; 2005 yılında Sancak ve arkadaşları<sup>11</sup> %18, Torun ve arkadaşları<sup>12</sup> ise %0.2 oranında hVISA saptadıklarını bildirmişlerdir. Sunulan çalışma, hastanemizde yapılan ilk VISA taramasıdır; ancak makro E-test ya da PAP gibi yöntemler kullanılmadığı için hVISA prevalansımız belirlenmemiştir. Hastanemizde VISA izolatlarının tespit edilmemiş olması sevindiricidir. Buna karşın, tedavi başarısızlığı ve hastane salgınları potansiyeli olan VISA/hVISA suşlarının araştırılması için, özellikle MRSA izolatlarının sistematik olarak taranması faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Hageman JC, Patel JB, Carey RC, Tenover FC, McDonald LC. Investigation and control of vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: A Guide for Health Departments and Infection Control Personnel. Atlanta, GA 2006. Available at: [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/visa\\_vrsa\\_guide.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/visa_vrsa_guide.pdf).
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S18, 2008. CLSI, Wayne, PA.
3. Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Int J Antimicrob Agents 2007; 30: 398-408.

4. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. 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 (Suppl 2): S114-32.
5. Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3040-5.
6. Gemmell CG. Glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*: is it a real threat? *J Infect Chemother* 2004; 10: 69-75.
7. Gülay Z, Atay T, Küçüküven M, Yuluğ N. *Staphylococcus aureus* strains heterogeneously resistant to vancomycin at a hospital in Turkey. 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. September 24-27, 1998, San Diego, CA, USA. Programme and Abstracts, C-136.
8. Azap A, Ergin F, Kuru İnci E, Arslan H. *Staphylococcus aureus* suşlarında vankomisin direncinin araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2003; 17: 289-91.
9. Çağatay A, Nakipoğlu Y, Katrancı H, Derbentli Ş. İstanbul Tıp Fakültesi'nde çeşitli örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında glikopeptit direncinin araştırılması. *ANKEM* 2004; 18: 209-12.
10. Ünalı Ö, Güzel Ö, Engin D, et al. Nötropenik hastalarda vankomisine orta duyarlı stafilokoklar. 19. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi. 30 Mayıs-03 Haziran 2004, Side, Antalya. Bildiri No: 2.
11. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Colakoglu S, Hascelik G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 519-23.
12. Torun MM, Bahar H, Demirci M, et al. Two heterogeneously vancomycin-intermediate clinical isolates of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital: brief report of a surveillance study. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 508-10.
13. Yılmaz M, Erdoğan B, Sili U, et al. MRSA suşlarında vankomisin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) ve heterojen vankomisin intermediate *Staphylococcus aureus* (Hetero VISA) araştırılması. 21. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi. 4-8 Haziran 2006, Kemer, Antalya. Poster No: 11.
14. Dizbay M, Sipahi AB, Günel Ö, et al. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında glikopeptid ve linezolid direncinin araştırılması. *ANKEM* 2007; 21: 23-6.
15. Hoşgör Limoncu M, Ermertcan S, Taşlı H, Tünger Ö, Coşar G. Investigation of glycopeptide resistance in methicillin-resistant staphylococcal isolates. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 511-6.