

Klinik *Staphylococcus aureus* Suşlarında Antiseptik Direnç Genlerinin (*qacA/B* ve *smr*) ve Antibiyotik Maddelere Direnç Prevalansının Araştırılması*

Investigation of the Prevalence of Antiseptic Resistance Genes (*qacA/B* and *smr*) and Antibiotic Resistance in Clinical *Staphylococcus aureus* Strains

Yaşar NAKİPOĞLU, Seyda İGNAK, Nezahat GÜRLER, Bülent GÜRLER

Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
Istanbul University Faculty of Istanbul Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

* Bu çalışmanın bir bölümü, 6. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon (DAS) Kongresi (1-5 Nisan 2009, Kundu, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 26.08.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 28.11.2011

ÖZET

Staphylococcus aureus deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi ve endokardit gibi ciddi klinik tablolara neden olan önemli bir patojendir. *S.aureus* suşlarında antiseptik ve dezenfektan maddeler olmak üzere çok sayıda antimikrobiyal ajana karşı artan düzeyde direnç gözlenmektedir. Kuaterner amonyum bileşikleri bazlı dezenfektan maddeler, hastanelerde özellikle hastane enfeksiyonu kontrolünde yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu maddelere karşı gelişen dirençten sorumlu genlerin, dünyanın belirli bölgelerinden izole edilen klinik stafilokok suşlarında hızla yayıldığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, klinik *S.aureus* suşlarında *qacA/B* ve *smr* antiseptik direnç genlerinin prevalansının araştırılması ve suşların çeşitli antibiyotiklere karşı direncinin saptanarak bu dirençler arasındaki olası ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, klinik örneklerden (78 apse, 13 kan, üç balgam, üç trakeal aspirat, iki burun sürüntüsü, bir idrar) izole edilen 50 metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) ve 50 metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) olmak üzere toplam 100 *S.aureus* suşu alınmış; *qacA/B* ve *smr* genleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle araştırılmıştır. *S.aureus* suşlarının çeşitli antibiyotiklere (sefoksitin, eritromisin, klindamisin, rifampin, tetrasiklin, siprofloksasin, gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, vankomisin, teikoplanin) karşı duyarlılıkları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmamızda, 50 MRSA suşununun 18 (%36)'inde *smr*, 50 MSSA suşununun 2 (%4)'sinde *qacA/B* genleri saptanmıştır. *smr* geninin sadece MRSA suşlarında bulunması, MSSA suşlarında ise hiç saptanmaması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). *S.aureus* suşlarındaki antibi-

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Yaşar Nakipoğlu, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, 34093 İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 212 414 2000, **E-posta (E-mail):** yasarnakip@yahoo.com

yotik direnç oranları ise; gentamisine %89, tetrasikline %57, rifampin ve siprofloksasine %46, makrolidlere (eritromisin ve klindamisin) %32 olarak belirlenmiştir. Trimetoprim-sülfametoksazol, vankomisin ve teikoplanine karşı herhangi bir direnç saptanmamıştır. İndüklenebilir makrolid-linkozamid-streptogramin B (iMLS_B) direnci, 18 *smr* pozitif suşun 8 (%45.5)'inde gözlenirken, 32 *smr* negatif suşun sadece 2 (%6.3)'sinde saptanmış ve bu fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Sonuç olarak, klinik *S.aureus* suşlarımızdaki *smr* genlerinin *qacA/B* genlerinden daha yaygın olduğu belirlenmiş; *smr* genlerinin tamamının MRSA suşlarıyla taşındığı ve az sayıda *qacA/B* genlerinin ise sadece MSSA suşunda yer aldığı görülmüştür. MRSA suşlarında *smr* genlerinin iMLS_B fenotipik direnci ile birlikte gözlenmesi ilgi çekici bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen verilerin, antiseptik ile antibiyotikler arasında görülen çapraz direnç konusunda ileride yapılacak araştırmalara yararlı olacağı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *S.aureus*; antiseptik; antibiyotik; *qacA/B*; *smr*; direnç.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is an organism of major medical importance, leading to skin and soft tissue infections, bacteremia, and endocarditis. *S.aureus* isolates are becoming increasingly resistant to numerous antimicrobial agents including antiseptics and disinfectants. Quaternary ammonium compounds are disinfectants that play an important role in the control of nosocomial infections. Presence of genes conferring resistance to quaternary ammonium compounds is widely distributed among clinical staphylococci isolated from certain areas of the world. In this present study, we aimed to study the prevalence of antiseptic resistance genes (*qac A/B*, *smr*) and antibiotic resistance in clinical *S.aureus* strains, and also to detect the possible relationship between antiseptic and antibiotic resistance. For this purpose, the presence of *qac A/B* and *smr* genes in 50 methicillin-susceptible *S.aureus* (MSSA) and 50 methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) clinical isolates (78 abscess, 13 blood, 3 sputum, 3 tracheal aspirate, 2 nostril swab, 1 urine) was detected by using multiplex polymerase chain reaction. The susceptibility of *S.aureus* strains to different antibiotics (cefoxitin, erythromycin, clindamycin, rifampin, tetracycline, ciprofloxacin, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, teicoplanin) was determined by disk diffusion method according to the recommendation of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). *smr* genes were found in 18 (36%) of 50 MRSA and *qacA/B* genes in 2 (4%) of 50 MSSA strains. Presence of *smr* gene only in MRSA strains in comparison to MSSA strains was found to be statistically significant ($p < 0.001$). The rates of antibiotic resistance in *S.aureus* strains were as follows; gentamicin 89%, tetracycline 57%, rifampin and ciprofloxacin 46%, and macrolides (erythromycin and clindamycin) 32%. No resistance was detected against trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin and teicoplanin. On the other hand, presence of inducible macrolid-lincosamide-streptogramin B (iMLS_B) resistance phenotype in 8 (44.5%) out of 18 *smr* positive strains compared to 2 (6.25%) out of 32 *smr* negative strains was statistically significant ($p < 0.001$). We concluded that *smr* genes were detected to be more prevalent than *qacA/B* genes in our clinical *S.aureus* isolates. *smr* genes were found only in MRSA strains whereas low number of *qacA/B* genes were found only in MSSA strains. Presence of *smr* genes concomitantly with iMLS_B type resistance in MRSA strains was recorded to be interesting. We believe that data of this preliminary study about antiseptic and antibiotic cross resistance would be useful for the future related studies.

Key words: *S.aureus*; antiseptic; antibiotic; *qacA/B*; *smr*; resistance.

GİRİŞ

Staphylococcus aureus deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit ve bakteriyemi gibi çeşitli hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan önemli bir patojendir¹. Günümüzde nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi için hastane ortamlarında dezenfektan

ve antiseptik preparatlar yoğun olarak kullanılmaktadır. Özellikle kuaterner amonyum bileşikleri ve klorheksidin gibi katyonik bileşikler bu preparatların içeriğinde sıklıkla bulunan kimyasallardır². Kuaterner amonyum bileşikleri gibi biyositlere dirençle ilişkilendirilen *qac* genleri [*qacA*, *qacB* ve *qacC* (*smr*)] ilk olarak insan kaynaklı *S.aureus* ve koagülaz-negatif stafilokok (KNS) suşlarında tanımlanmış; ardından yiyecek ve yiyecek üretim ortamlarından izole edilen stafilokok türlerinde de *qacA/B* ve *smr* direnç genlerinin saptanmaya başladığı bildirilmiştir³⁻⁶.

“Major facilitator (MF)” ailesi efluks pompa proteinlerini kodlayan *qacA* ve *qacB*, plazmid yerleşimli antiseptik direnç genleridir. *S.aureus* suşlarında *qacA*; etidyum bromür ve proflavin gibi boyalar, setrimin, benzalkonyum klorür gibi kuaterner amonyum bileşikleri, klorheksidin gibi biguanid grubu ve diamidin grubu olmak üzere dört kimyasal ajan grubuna dirençle ilişkilendirilmiştir. Çoğunlukla pSK1 ailesi çoğul direnç plazmidlerinde kodlanmaktadır. Ancak pSK57 gibi beta-laktam ve ağır metal direnç plazmidlerinde ve kromozomda da kodlandığı gösterilmiştir⁷. *qacB* nükleotid dizisi yönünden *qacA* geniyle büyük oranda benzerlik göstermesine karşın, yalnızca boyalar ve kuaterner amonyum bileşiklerine dirençle ilişkisi gösterilmiştir. Hastane ortamlarında klorheksidin gibi bakteriyostatik divalen katyonların yoğun kullanımı sonucu *qacA*'nın *qacB*'den evrimleştiği düşünülmektedir⁸⁻¹¹. *qacA* ve *qacB* genleri arasında yedi nükleotidlik fark bulunmakta ve klasik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle bu iki gen ayırlanamamaktadır¹². *qacC* ise “small multidrug resistance (SMR)” ailesi efluks pompa proteinini kodlar. Moleküler analizler sonucunda; *qacC*'nin *ebr* ve *smr* genleri ile benzer olduğu, kuaterner amonyum bileşikleri ve etidyum bromür gibi boyalara karşı dirençle ilişkili olduğu ve pSK89 gibi küçük plazmidler (< 3 kb) veya pSK41 gibi büyük (> 50 kb) konjugatif plazmidlerde kodlandığı gösterilmiştir^{3,13,14}.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* suşlarında *qacA/B* ve *smr* dezenfektan direnç genlerinin saptanması ve suşların çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenerek, antiseptik direnç genleriyle antibiyotik direnci arasındaki olası ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar

Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına 2006-2010 yılları arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden (78 apse, 13 kan, üç balgam, üç trakeal aspirat, iki burun sürüntüsü, bir idrar) izole edilen 50'si metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) ve 50'si metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) toplam 100 *S.aureus* suşu dahil edildi. *S.aureus* suşları lateks aglutinasyon (Oxoid, İngiltere) yöntemiyle doğrulandı. Dr. Norihisa Noguchi¹⁵'den temin edilen TS77 (*qac A/B* +) ve L20 (*smr* +) suşları pozitif kontrol olarak kullanıldı. Antiseptik ve dezenfektan direnç geni araştırılmasında negatif kontrol olarak kullanılan *S.aureus* ATCC 6538 ve disk difüzyon yönteminin kontrolünde kullanılan *S.aureus* ATCC 25923 suşları İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Kültür Koleksiyonu Merkezinden (KÜKENS) elde edildi.

Multipleks PCR

Antiseptik ve dezenfektan direnç genleri (*qacA/B* ve *smr*), Noguchi ve arkadaşlarının¹⁵ uyguladığı şekilde multipleks PCR yöntemiyle saptandı. Steril kürdan ucu, besiyeri üzerindeki *S.aureus* kolonisine değiştirilerek alınan örnek 100 µl H₂O içinde süspansiyon edildi. Hücre süspansiyonundan 1 µl alınarak, iki set halinde 1'er µM primer (*qacA/B* için 5'-GCAGAAAGTGCAGAGTTCG-3' ve 5'CCAGTCCAATCATGCCTG-3'; *smr* için 5'GCCATA-AGTACTGAAGTTATTGGA-3' ve 5'GAC TACGGTTGTTAAGACTAAACCT-3') ve 50 ünite/ml TaqDNA polimeraz, 400'er mM dNTP, 3 mM MgCl₂ içeren 12.5 µl hazır PCR "master mix" (Promega) eklenerek 25 µl PCR karışımı hazırlandı. PCR için başlangıç denatürasyon aşaması 96°C'de üç dakika olarak uygulandı; 94°C'de 20 saniye, 53°C'de 20 saniye ve 72°C'de 20 saniye olarak uygulanan 25 döngünün ardından son uzama aşaması 72°C'de beş dakika olarak düzenlendi. Klinik *S.aureus* suşlarıyla birlikte TS77 (*qacA/B* +) ve L20 (*smr* +) pozitif kontrol ve *S.aureus* ATCC 6538 suşu negatif kontrol olarak kullanıldı¹⁵. PCR ürünlerine, etidyum bromür içeren %1 agaroz jelde elektroforez uygulandı ve jel ultraviyole altında görüntüldü. Tüm deneyler en az iki kez tekrarlandı.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

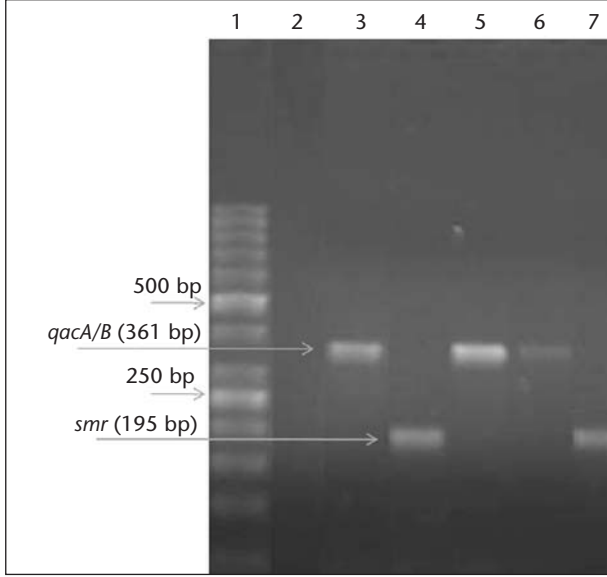
S.aureus suşlarının metisilin, sefoksitin, eritromisin, klindamisin, rifampin, tetrasiklin, siprofloksasin, gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, vankomisin ve teikoplanine karşı duyarlılıkları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı¹⁶. Suşların 24 saatlik kültüründen 0.5 McFarland bulanıklığına göre hazırlanan süspansiyon, Mueller Hinton agar besiyerine (Oxoid) yayıldı. Antibiyotik diskleri [sefoksitin (30 µg), eritromisin (15 µg), klindamisin (2 µg), rifampin (5 µg), tetrasiklin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), gentamisin (10 µg), trimetoprim-sülfametoksazol (1.25 trimetoprim/23.75 sülfametoksazol), vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg)] ekim yapılan besiyerine yerleştirildi. Makrolid-linkozamid-streptogramin_B fenotip direnci saptamak için eritromisin ve klindamisin disk aralıklarına (15-26 mm) uyuldu. Antibiyogram yapılan tüm besiyerleri 18-24 saat 35°C'de inkübe edildikten sonra değerlendirildi. Eritromisin ve klindamisine dirençli görülen suşlar yapısal (yMLS_B) ve eritromisine dirençli ancak klindamisin duyarlılık zon çaplarında daralma görülenler (D-zon) indüklebilir (iMLS_B) direnç olarak kabul edildi¹⁶.

İstatistiksel Analiz

MRSA ve MSSA suşlarında saptanan antiseptik ve dezenfektan direnç oranlarının kıyaslanmasında ve ayrıca bu oranların antibiyotik direnç oranlarıyla karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda, MRSA suşlarının 18 (%36)'inde *smr* geni, MSSA suşlarının 2 (%4)'sinde *qacA/B* geni saptanmıştır. MRSA suşlarında *qacA/B*, MSSA suşlarında *smr* genine rastlanmamıştır (Resim 1). MRSA suşlarında *smr* geni varlığının, MSSA suşlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$). *smr* pozitif MRSA suşlarının 13'ü apse, üçü kan, biri balgam, biri plevra sıvısından; *qacA/B* pozitif iki MSSA suşu ise apse



Resim 1. PCR ile antiseptik direnç genlerin agaroz jeldeki görüntüsü [Hat 1: DNA belirteci (Gene Ruler 50 bp, Fermentas); Hat 2: Negatif kontrol; Hat 3: TS77(*qacA/B*+) kontrol; Hat 4: L20 (*smr*+) kontrol; Hat 5-6: *qacA/B*+ klinik suşu; Hat 7: *smr*+ klinik suşu].

ve idrar örneklerinden izole edilmiştir. *S.aureus* suşlarında, gentamisin, tetrasiklin, rifampisin, siprofloksasin ve MLS_B direnç oranları sırasıyla; %89, %57, %46, %46 ve %32 olarak bulunurken, trimetoprim-sülfametoksazol, vankomisin ve teikoplanine karşı direnç saptanmamıştır. *smr* pozitif MRSA suşlarında saptanan iMLS_B oranı (% 44.5), *smr* negatif suşlarla kıyaslandığında (%6.3) farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).

Çalışmamızda *S.aureus* suşlarının %20'sinin *qacA/B* veya *smr* genlerinden birini taşıdığı gözlenmiştir. Suşların, içerdikleri genlere göre antibiyotiklere karşı direnç oranları Tablo 1'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde temel unsurlardan biri antisepti ve dezenfeksiyon işlemleridir. Hastane ortamında kullanılan çoğu dezenfektan ve antiseptik preparatta klorheksidin gibi katyonik bileşikler ile benzalkonyum klorür gibi kuaterner amonyum bileşiklerine sıkça rastlanmaktadır. Bu ajanlara dirençle ilişkilendirilen, plazmidde kodlanan antiseptik direnç genleri tanımlanmıştır. Özellikle çoğul ilaç direnci kodlayan plazmidlerin bakteriler arasında aktarımı ile aynı anda hem antiseptik, dezenfektan preparatlara hem de antibiyotiklere dirençli suşların yaygınlaşması olasılığı endişe verici bir durumdur. Plazmid aracılı biyosit direnci ile ilişkili çalışmalar, enfeksiyonlardaki önemi göz önüne alınarak daha çok *S.aureus* suşları üzerinde yoğunlaşmıştır^{1,15,17}. Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarının %36 (18/50)'sında *smr*,

Tablo 1. *S.aureus* Suşlarında Görülen *qacA/B* ve *smr* Genleri ve Antibiyotiklere Direnç Oranları

Antibiyotikler	MRSA (n= 50)		MSSA (n= 50)		Toplam (n= 100)	
	<i>smr</i> (+) (n= 18)	<i>smr</i> ve <i>qacA/B</i> (-) (n= 32)	<i>qacA</i> (+) (n= 2)	<i>smr</i> ve <i>qacA/B</i> (-) (n= 48)	<i>smr</i> veya <i>qacA/B</i> (+) (n= 20)	<i>smr</i> ve <i>qacA/B</i> (-) (n= 80)
	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
γ MLS _B	6 (33.3)	6 (18.8)	0	2 (4.2)	6 (30)	8 (10)
iMLS _B	8 (44.5)	2 (6.3)	2 (100)	6 (12.5)	10 (50)	8 (10)
Toplam	14 (77.8)	8 (25)	2 (100)	8 (16.7)	16 (80)	16 (12)
GN	15 (83.3)	26 (81.3)	0	48 (100)	15 (75)	74 (92.5)
RIF	18 (100)	27 (84.4)	0	1 (2)	18 (90)	28 (35)
TET	18 (100)	31 (96.9)	0	8 (16.7)	18 (90)	39 (48.8)
CIP	18 (100)	28 (87.5)	0	0	18 (90)	28 (35)
TMP-SMZ, VAN, TEC	0	0	0	0	0	0

R: Dirençli suş sayısı; MLS_B: Makrolid-linkozamid-streptogramin B; y: Yapısal; i: İndüklebilir; GN: Gentamisin; RIF: Rifampisin; TET: Tetrasiklin; CIP: Siprofloksasin; TMP-SMZ: Trimetoprim-sülfametoksazol; VAN: Vankomisin; TEC: Teikoplanin.

MSSA suşlarının %4 (2/50)'ünde *qacA/B* genleri saptanmıştır. Ülkemizde dezenfektan direnç genleriyle ilgili ilk araştırma, 2006 yılında Aykan¹⁸ tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 69 MRSA suşunun 8 (%11.5)'inde *qacA/B* geni saptanmıştır. Ancak bizim çalışmamızda MRSA suşlarında *qacA/B* genine rastlanmazken, MSSA suşlarında da *smr* geni görülmemiştir.

Mayer ve arkadaşlarının⁷ 14 farklı Avrupa ülkesini kapsayan çalışmalarında, 24 farklı hastaneden izole edilen 497 *S.aureus* (297 MRSA, 200 MSSA) suşunun %42'sinde *qacA/B* ve %5.8'inde *smr* (*qacC*) geni saptanmıştır. MRSA suşlarındaki *qacA/B* geni pozitifliği (%63) MSSA suşlarına göre (%12) yüksek bulunmuştur. Avrupa'daki *S.aureus* suşlarında antiseptik direnç gen prevalansının (%47) çalışmamıza göre (%20) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu yüksek direnç, çalışmadaki MRSA suşlarında görülen %63'lük yüksek *qacA/B* direncine bağlıdır. Avrupa MRSA ve MSSA suşları arasında *smr* geni prevalansı yönünden (sırasıyla, %6.4 ve %5) anlamlı bir fark saptanmazken, çalışmamızda (sırasıyla, %36 ve 0) bu fark anlamlı ($p < 0.001$) bulunmuştur. Avrupa suşlarının %1'inde her iki genin birlikte bulunduğu gözlenmiş, ancak çalışmamızda böyle bir suşa rastlanmamıştır. İngiltere'de 120 MRSA suşu ile yapılan bir çalışmada, suşların 10 (%8.3)'ünde *qacA/B*, 53 (%44.2)'ünde *smr* geni saptanmış ve bu sonuç Avrupa MRSA suşlarında bildirilen yüksek *qacA/B* prevalansının tersine *smr* prevalansının daha yüksek olduğunu göstermiştir¹. Bu çalışmanın¹ sonuçları bizim verilerimizle uyumludur. Ayrıca, çalışmamızda MSSA suşlarında belirlenen *qacA/B* pozitiflik oranının (%4) Sırbistan'da Opacic ve arkadaşlarının¹⁹ yaptıkları çalışmayla (%2) uyumlu olduğu izlenmiştir.

Noguchi ve arkadaşları¹⁵ 11 Asya ülkesinden toplanan 894 MRSA ile yaptıkları çalışmada; suşların 344 (%38.5)'ünde *qacA/B*, 28 (%3.1)'inde *smr*, 28 (%3.1)'inde ise her iki genin birlikte bulunduğunu saptamışlardır. Asya MRSA suşlarında görülen antiseptik gen prevalansı Avrupa suşlarına göre ilk bakışta biraz daha düşük görülse de, iki genin birlikte bulunma prevalansı Avrupa suşlarına göre üç kat daha fazladır; dolayısıyla antiseptik maddelere direnç bakımından daha dirençli sayılabilmektedir. Aynı çalışmada¹⁵ Hindistan'dan izole edilen MRSA suşlarında görülen *smr* geni pozitifliği %31.6 olarak belirlenmiş ve bu oran bizim çalışmamızdaki %36 oranıyla çok yakın bulunmuştur. Noguchi ve arkadaşları¹⁵ çalışmalarının sonucunda, *smr* geninin coğrafi dağılımının sınırlı kaldığını, ancak *qacA/B* geninin Asya ülkeleri genelinde MRSA suşlarında hızla yayıldığını bildirmişlerdir. Çin'de yapılan üç ayrı çalışmada MRSA suşlarındaki *qacA/B* gen oranlarının %23-61 arasında bulunduğu saptanmıştır²⁰⁻²². Güney Amerika ülkelerinden Brezilya'da ise, MRSA suşlarında görülen *qacA/B* geni pozitifliği %80 ile dünyada bildirilen en yüksek orandır¹⁷.

Bazı çalışmalar, biyositlere karşı azalmış duyarlılık gösteren suşlarda, çeşitli antibiyotiklere karşı da azalmış duyarlılık görüldüğünü bildirmektedir^{23,24}. Sidhu ve arkadaşları²⁵ yaptıkları çalışmada; benzalkonyum klorüre dirençli *S.aureus* ve koagülaz-negatif suşların aynı zamanda, penisilin, oksasilin, sefalosporin, sefuroksim, imipenem, trimetoprim, gentamisin, doksisisiklin ve fusidik asit gibi antibiyotiklere dirençle-

rinin de anlamlı düzeyde yüksek olduğunu rapor etmişlerdir²⁵. Costa ve arkadaşları²⁶ Portekiz Hastanesinden izole edilen MRSA Iberian Klon HPV107 suşunun beta-laktam, aminoglikozid, florokinolon, makrolid, rifampisin ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere dirençli olduğunu ve bu suşun *qacA* efluks pompa aktivitesine sahip olduğu için etidyum bromür gibi boyalar ve çeşitli biyositlere karşıda azalmış duyarlılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

S.aureus suşlarında görülen metisilin direncinin, diğer antibiyotik ve antiseptik maddelere direnç için uygun bir zemin hazırladığı; zira metisilin direnç geninin (*mecA*) hareketli bir gen adacığında bulunduğu ve diğer stafilokok suşlarında bulunan genlerin alışverişinde aracı rol oynayabildiği gösterilmiştir²¹. Nitekim yapılan bir çalışmada, metisilin direnci ile *qacA/B* geninin birarada bulunması anlamlı görülürken, *smr* geni ile böyle bir ilişki anlamlı bulunmamıştır²¹. MRSA suşlarında bu antimikrobiyal maddelere karşı direnci artıran bir durumda, bu suşların farklı boyutlarda plazmid içerdikleri gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, eritromisin, trimetoprim ve aminoglikozid direnç genlerinin *qac* genleriyle aynı plazmid üzerinde taşındıkları bildirilmiştir¹⁵. *S.aureus* suşlarında görülen iMLS_B fenotip direnci, *erm* (eritromisin ribozomal metilaz) genleri tarafından, makrolid grubu antibiyotiklerin hedefi olan ribozomun yapısını değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Bu genler, genellikle boyutları yaklaşık 2.3-4 kb olan plazmidler üzerinde taşınarak *S.aureus* suşları arasında kolayca yayılabilmektedir²⁷. Çalışmamızda, MLS_B, gentamisin, rifampisin, tetrasiklin ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı dirençli *S.aureus* suşları saptanmıştır. Bu antibiyotiklere karşı gözlenen direnç kromozomal olabildiği gibi plazmid veya transpozonla da taşınabilmektedir. Ancak iMLS_B fenotip direnci sadece plazmid üzerinde taşınmaktadır. Çalışmamızda *smr* pozitif suşlarda iMLS_B oranı %45.5 iken, *smr* negatif suşlarda %6.3 olarak belirlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Bu sonuç *smr* geni ile iMLS_B direnç genlerin muhtemelen aynı plazmid üzerinde taşındıklarını göstermektedir. Bu dirençli suşların sadece hastanelerle sınırlı kalmayıp toplumda da yayılmaları söz konusudur. Yapılan bir çalışmada toplumdan izole edilen *S.aureus* suşlarında *qacA/B* ve *smr* gen oranları sırasıyla %11.3 ve %5.4 olarak saptanmıştır²¹.

Antiseptik ve dezenfektan maddeler hastanelerde ve toplumda sık kullanılan maddelerdir. Ancak gerek bizim çalışmamızda gerekse diğer benzer çalışmalarda görüldüğü üzere, bu maddelere karşı gelişen bir direnç söz konusudur. Bu maddelerin rastgele kullanılması var olan direnci daha da hızlandıracaktır. Sonuç olarak, çalışmamızdaki suşların %20'sinde *qacA/B* veya *smr* genlerinden birinin taşınması, *smr* genlerinin özellikle MRSA suşlarında çok yüksek oranda (%36) bulunması, *qacA/B* geninin sadece MSSA suşlarında (%4) görülmesi ve *smr* geni ile fenotipik iMLS_B direncinin birarada bulunması, antiseptik ve antibiyotiklere karşı direncin ileride bir sorun haline gelebileceğini göstermektedir. Türkiye'de bu konuda yapılan ilk çalışma olduğu için bu sonuçlar diğer çalışmalara yol gösterici ve yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Vali L, Davies SE, Lai LL, Dave J, Amyes SG. Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of clorhexidine exposure on clinical methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates. J Antimicrob Chemother 2008; 61(3): 524-32.
2. Smith K, Gemmell CG, Hunter IS. The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates. J Antimicrob Chemother 2008; 61(1): 78-84.
3. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbiol Rev 1987; 51(1): 88-134.
4. Paulsen IT, Brown MH, Littlejohn TG, Mitchell BA, Skurray RA. Multidrug resistance proteins *qacA* and *qacB* from *Staphylococcus aureus*: membrane topology and identification of residues involved in substrate specificity. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(8): 3630-5.
5. Tennent JM, Lyon BR, Midgley M, Jones IG, Purewal AS, Skurray RA. Physical and biochemical characterization of the *qacA* gene encoding antiseptic and disinfectant resistance in *Staphylococcus aureus*. J Gen Microbiol 1989; 135(1): 1-10.
6. Heir E, Sundheim G, Holck AL. Identification and characterization of quaternary ammonium compound resistant staphylococci from the food industry. Int J Food Microbiol 1999; 48(3): 211-9.
7. Mayer S, Boos M, Beyer A, Fluit AC, Schmitz FJ. Distribution of the antiseptic resistance genes *qacA*, *qacB* and *qacC* in 497 methicillin-resistant and -susceptible European isolates of *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2001; 47(6): 896-7.
8. Hassan KA, Skurray RA, Brown MH. Active export proteins mediating drug resistance in staphylococci. J Mol Microbiol Biotechnol 2007; 12(3-4): 180-96.
9. Kumar A, Schweizer HP. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. Adv Drug Deliv Rev 2005; 57(10): 1486-513.
10. Leelaporn A, Paulsen IT, Tennent JM, Littlejohn TG. Multidrug resistance to antiseptics and disinfectants in coagulase-negative staphylococci. J Med Microbiol 1994; 40(3): 214-20.
11. Putman M, Veen HW, Konings N. Molecular properties of bacterial multidrug transporters. Microbiol Mol Biol Rev Dec 2000; 64(4): 672-93.
12. Paulsen IT, Brown MH, Skurray RA. Characterization of the earliest known *Staphylococcus aureus* plasmid encoding a multidrug efflux system. J Bacteriol 1998; 180(13): 3477-9.
13. Sasatsu M, Shirai Y, Hase M, et al. The origin of the antiseptic-resistance gene *ebr* in *Staphylococcus aureus*. Microbios 1995; 84(340): 161-9.
14. Grinius L, Dreguniene G, Goldberg EB, Liao CH, Projan SJ. A staphylococcal multidrug resistance gene product is a member of a new protein family. Plasmid 1992; 27(2): 119-29.
15. Noguchi N, Suwa J, Narui K, et al. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic resistance genes *qacA/B* and *smr* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999. J Med Microbiol 2005; 54(6): 557-65.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved Standard M100-S17, 2007. CLSI, Wayne, PA.
17. Miyazaki NH, Abreu AO, Marin VA, Rezende CA, Moraes MT, Villas Boas MH. The presence of *qacA/B* gene in Brazilian methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007; 102(4): 539-40.
18. Aykan B. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen metisiline dirençli *S.aureus* suşlarında *qacA/B* dezenfektan direnç genlerinin araştırılması. Doktora Tezi, 2006. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
19. Opacic D, Lepsanovic Z, Sbutega-Milosevic G. Distribution of disinfectant resistance genes *qacA/B* in clinical isolates of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* in one Belgrade hospital. J Hosp Infect 2010; 76(3): 266-7.

20. Wang C, Cai P, Zhan Q, Mi Z, Huang Z, Chen G. Distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* in clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in China. *J Hosp Infect* 2008; 69(4): 393-4.
21. Zhang M, O'Donoghue MM, Ito T, Hiramatsu K, Boost MV. Prevalence of antiseptic-resistance genes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci colonising nurses and the general population in Hong Kong. *J Hosp Infect* 2011; 78(2): 113-7.
22. Zheng R, Wang M, He B, et al. Identification of active efflux system gene *qacA/B* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its significance. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2009; 34(6): 537-42.
23. Irizarry L, Merlin T, Rupp J, Griffith J. Reduced susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to cetylpyridinium chloride and chlorhexidine. *Chemotherapy* 1996; 42(4): 248-52.
24. Koljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *J Hosp Infect* 2002; 51(2): 106-13.
25. Sidhu MS, Heir E, Leegaard T, Wiger K, Holck A. Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with beta-lactamase transposon Tn552 among clinical staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(9): 2797-803.
26. Costa SS, Ntokou E, Martins A, et al. Identification of the plasmid-encoded *qacA* efflux pump gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain HPV107, a representative of the MRSA Iberian clone. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(6): 557-61.
27. Lühje P, Schwarz S. Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(5): 966-9.