

## Linezolide Dirençli *Enterococcus faecium*: Türkiye'deki İlk G2576T Mutasyonu

### Linezolid-Resistant *Enterococcus faecium*: The First G2576T Mutation in Turkey

İlhan AFŞAR<sup>1</sup>, İbrahim BARIŞ<sup>2</sup>, Aslı Gamze ŞENER<sup>1</sup>, Vedat KÖKSAL<sup>3</sup>, Mustafa DEMİRCİ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.

<sup>1</sup> İzmir Atatürk Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, İzmir, Turkey.

<sup>2</sup> Koç Üniversitesi, Kimya ve Biyoloji Mühendisliği Bölümü, İstanbul.

<sup>2</sup> Koc University, Department of Chemical and Biological Engineering, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup> Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>3</sup> Sifa University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir, Turkey.

<sup>4</sup> İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>4</sup> Katip Celebi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İzmir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 04.01.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 30.01.2012

#### ABSTRACT

Linezolid which is the first member of oxazolidinone class of synthetic antimicrobial agents, was licensed for the treatment of gram-positive coccal infections in Turkey in 2006. In recent years, multidrug-resistant pathogens, especially vancomycin-resistant enterococci (VRE), have emerged rapidly worldwide and linezolid exhibited good clinical efficacy against VRE. However, linezolid-resistant bacteria have been reported from Turkey. In April 2011, a 66-year-old paraplegic woman was admitted to our hospital because of an infected decubitus ulcer and empirical antibiotic therapy was started. Since the patient's condition worsened during treatment, she was moved to the intensive care unit. *Klebsiella pneumoniae*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* were recovered from tracheal aspirates and blood, respectively. Following three weeks of linezolid therapy blood culture yielded linezolid and vancomycin resistant *E.faecium*. Linezolid resistance in the VRE strain was confirmed by polymerase chain reaction and sequence analysis, subsequently. Linezolid-resistant two isolates were identified as *E.faecium* by 16S rRNA sequencing and both isolates had G2576U mutation in 23S rRNA gene. Linezolid resistance which was identified in a vancomycin-resistant *E.faecium* isolate is a new problem for Turkey. Last year another mutation related to linezolid resistance was reported from Istanbul, Turkey. The isolate had G2576T mutated 23S rRNA genes. Resistance should be considered and closely followed-up during linezolid treatment.

**Key words:** *Enterococcus faecium*; linezolide; drug resistance; mutation.

**İletişim (Correspondence):** Doç. Dr. İlhan Afşar, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 35360 İzmir, Türkiye. Tel (Phone): +90 232 243 4343, E-posta (E-mail): iafsar@yahoo.com

## Sayın Editör,

Linezolid yeni sınıf oksazolidinonların ilk üyesidir ve Türkiye’de gram-pozitif kok enfeksiyonlarının tedavisi için 2006 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Protein sentez inhibitörleri olan oksazolidinonlar ribozomların 50S alt ünitesine bağlanarak etki gösterirler<sup>1</sup>. Linezolidin, özellikle metisiline dirençli stafilokoklar (MRS) ve vankomisine dirençli enterokoklar gibi dirençli suşlarda etkin olduğu in vitro araştırmalarda gösterilmiştir<sup>2</sup>. Son yıllarda çoklu dirençli patojenler, özellikle vankomisine dirençli enterokoklar tüm dünyada artmıştır<sup>3</sup>. Linezolid, hastanemizdeki metisiline dirençli stafilokoklar, vankomisine dirençli enterokoklar ve teikoplanine dirençli *Staphylococcus epidermidis* enfeksiyonlarında sıkça kullanılmaktadır. Bu raporun amacı, rutin bakteriyolojik testlerde dirençli bulunan klinik bir suşun (*Enterococcus faecium*) 23S rRNA geninde G2576T pozisyonunda saptanan mutasyonunun bildirilmesidir.

Mutasyon saptanan *E.faecium* suşu 66 yaşındaki paraplejik kadın hastadan izole edilmiştir. Hasta dekübit yaralarından dolayı plastik cerrahi servisine kabul edilmiştir. Hastaya ampirik tazobaktam-piperasiline kombinasyonu başlanmış, genel durumun kötüleşmesi sonrası kısa süre içinde yoğun bakıma alınıp mekanik ventilatöre bağlanmıştır. Ventilatöre bağlı pnömoni gelişen hastada değişik antibiyotik kombinasyonları kullanılmış, metisiline dirençli *S.aureus* üremesi sonucu linezolid, tedaviye eklenmiştir. Üç haftalık kullanım sonrası kan kültüründe linezolide dirençli *E.faecium* suşu izole edilmiştir. İzolatın tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılığı, Phoenix 100 (BD Diagnostics, MD, ABD) otomatize sistemi ve linezolid E-test (AB bioMerieux, İsveç) ile yapılmıştır. Kontrol olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu kullanılmıştır. Fenotipik olarak dirençli olan suşun moleküler yöntemlerle genotipik araştırması yapılmıştır. Kısaca; bakteriyel kromozomal DNA tuzla çökelme (salting-out) yöntemi ile elde edilmiştir<sup>4</sup>. Daha sonra 5'-GACGGAAGACCCCATGG-3' ve 5'-ACACTTAGATGCTT-3' primerleri kullanılarak 2049'dan 2767 baz çiftine kadar olan 23S rRNA bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmıştır<sup>5</sup>. Daha sonra PCR ürünleri, QIAquick PCR kiti (QIAGEN, Almanya) ile saflaştırılıp, ABI Prism 3130 DNA Analizer (Applied Biosystems, Kanada) ile dizi analizi yapılmıştır. İncelenen *E.faecium* suşunun 23S rRNA geninin G2576T mutasyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Bilgilerimize göre incelenen bu suş, ülkemizdeki G2576T mutasyonuna sahip ilk linezolide dirençli *E.faecium* suşudur.

Çalışmamızda saptanan suş, linezolide karşı (MK 32 mg/L) heterozigot direnç profili göstermektedir. Direnç mekanizması olarak, 23S rRNA'yı kodlayan genin 2576 pozisyonunda G ile T mutasyonu tespit edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda, farklı ülkelerden linezolide dirençli vankomisine dirençli enterokoklar bildirilmiş ve direncin uzun süre yoğun bakımda kalan, uzamış linezolid kullanan hastalardan izole edilen suşlarda saptandığı ifade edilmiştir<sup>1,6,7</sup>. Çalışmamızda saptanan dirençli suşun izole edildiği hasta da, uzun süre yoğun bakım ünitesinde antibiyotik tedavisi almış olan bir hastadır. Hastanemizde, dirençli gram-pozitif kok enfeksiyonlarına sık olarak rastlanmaktadır ve linezolid kullanımı yoğundur. Genel olarak linezolid direnci, glikopeptidlere dirençli suşlarda görülmekle birlikte, duyarlı suşlarda da görülebilir<sup>8</sup>. Türkiye’den Aktaş ve Derbentli<sup>9</sup> 2010 yılında G2576U mutasyonu bildirmiş olup, bu tür mutasyon bildirilen başka olgu yoktur. Sonuç olarak, antibiyotik kullanımına bağlı direnç gelişimi kaçınılmaz bir durum olarak gözükmele birlikte, hastanelerde dikkatli ve akılcı antibiyotik kullanımı direnç oluşumunu geciktirecektir.

## KAYNAKLAR

1. Auckland C, Teare L, Cooke F, et al. Linezolid-resistant enterococci: report of the first isolates in the United Kingdom. J Antimicrob Chemother 2002; 50(5): 743-6.
2. Efe S, Sirtas M, Ozakin C. In vitro susceptibility to linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* strains. Mikrobiyol Bul 2009; 43(4): 639-43.
3. Baysallar M, Kilic A, Aydogan H, Cilli F, Doganci L. Linezolid and quinupristin/dalfopristin resistance in vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prior to clinical use in Turkey. Int J Antimicrob Agents 2004; 23(5): 510-2.

4. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
5. Prystowsky J, Siddiqui F, Chosay J, et al. Resistance to linezolid: characterization of mutations in rRNA and comparison of their occurrences in vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(7): 2154-6.
6. Bersos Z, Maniati M, Kontos F, Petinaki E, Maniatis AN. First report of a linezolid-resistant vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53(4): 685-6.
7. Johnson AP, Tysall L, Stockdale MV, et al. Emerging linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from two Austrian patients in the same intensive care unit. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2002; 21(10): 751-4.
8. Marra AR, Major Y, Edmond MB. Central venous catheter colonization by linezolid-resistant, vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44(5): 1915-6.
9. Aktas G, Derbentli S. In vitro activity of linezolid and dalbavancin against vancomycin resistant enterococci. 110<sup>th</sup> Meeting of the American Society of Microbiology. 23-27 May 2010, San Diego, USA. Poster No: A-508.