

Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Antibiyotik Direnci ve Azalmış Vankomisin Duyarlılığının Araştırılması: Çok Merkezli Bir Çalışma*

Investigation of Antibiotic Resistance Patterns and Reduced Vancomycin Susceptibilities of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates: A Multi-Center Study

Aytekin ÇIKMAN¹, Merve AYDIN¹, Barış GÜLHAN¹, Mehmet PARLAK², Bilge GÜLTEPE³, Yıldız KALAYCI⁴, Fulya BAYINDIR BİLMEN⁵, Sinem SOLMAZ⁶, Tuncer ÖZEKİNCİ⁷

¹ Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzincan.

¹ *Erzincan University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Erzincan, Turkey.*

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.

² *Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Van, Turkey.*

³ Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

³ *Bezmi-Alem University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.*

⁴ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.

⁴ *Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Adana, Turkey.*

⁵ İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.

⁵ *Izmir Menemen State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Izmir, Turkey.*

⁶ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

⁶ *Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.*

⁷ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.

⁷ *Dicle University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Diyarbakir, Turkey.*

* Bu çalışma, XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (12-16 Kasım 2014, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 15.10.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 09.03.2015

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, ülkemizin farklı coğrafi bölgelerindeki hastanelerde izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında vankomisin, teikoplanin, daptomisin, kinupristin/dalfopristin, linezolid, tigesiklin, kloramfenikol, rifampisin, ofloksasin ve tetrasiklin için minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerinin saptanması ile azalmış vankomisin duyarlılığının araştırılmasıdır. Çalışmaya, Ağustos 2013-Ağustos 2014 tarihleri arasında; İstanbul (n= 15), Ankara (n= 15), İzmir (n= 15), Adana (n= 15),

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Merve Aydın, Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 24030 Erzincan, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 446 226 1818, **E-posta (E-mail):** maydin@erzincan.edu.tr

Diyarbakır (n= 15), Erzincan (n= 15) ve Van (n= 10) olmak üzere Türkiye'deki yedi merkezde yatan hastalardan (%50'si yoğun bakımda yatan) izole edilen toplam 100 MRSA suşu dahil edilmiştir. Suşların 43'ü kan, 21'i alt solunum yolu örneği, 17'si yara, sekizi kateter, altısı idrar, dördü burun sürüntüsü, biri ise beyin omurilik sıvısından izole edilmiştir. İzolatların metisilin direnci, sefoksitin (30 µg) diski kullanılarak standart disk difüzyon yöntemiyle, diğer antibiyotiklerin MİK değerleri ise E-test yöntemi ile CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda belirlenmiştir. MİK sonuçlarının değerlendirilmesinde; kinupristin/dalfopristin (K/D) için CLSI'nin metisiline duyarlı *S.aureus* için önerdiği kriterler; tigesiklin için ise FDA (Food and Drug Administration)'nın MRSA için önerdiği kriterler dikkate alınmıştır. Vankomisine orta düzeyde duyarlı *S.aureus* (VISA) ve heterojen VISA (hVISA) suşlarının belirlenmesinde öncelikle agar tarama yöntemi (ATY) kullanılmıştır. ATY'nde 6 µg/ml vankomisin içeren beyin kalp infüzyon agar kullanılmış; bu yöntemle şüpheli VISA/hVISA olarak belirlenen izolatlar standart E-test ve makro E-test yöntemleri uygulanmıştır. Tüm MRSA suşları E-test yöntemiyle vankomisin, teikoplanin, daptomisin, K/D ve linezolidde duyarlı bulunmuş; tigesiklin, kloramfenikol, rifampisin, ofloksasin ve tetrasikline duyarlılık oranları ise sırasıyla; %89, %97, %40, %39 ve %32 olarak belirlenmiştir. MİK₅₀/MİK₉₀ değerleri sırasıyla; vankomisin için 1.5/2 µg/ml, teikoplanin için 2/4 µg/ml, daptomisin için 0.19/0.38 µg/ml, K/D için 0.19/0.38 µg/ml, linezolid için 0.75/1 µg/ml, tigesiklin için 0.19/0.75 µg/ml, kloramfenikol için 3/6 µg/ml, rifampisin için 32/32 µg/ml, ofloksasin için 32/32 µg/ml ve tetrasiklin için 32/64 µg/ml olarak saptanmıştır. Azalmış vankomisin duyarlılığı araştırıldığında, ATY ile MRSA suşlarının %2 (2/100)'si VISA, %5 (5/100)'i ise hVISA olarak tanımlanmıştır. ATY ile VISA/hVISA olarak saptanan bu yedi suştan birisi hem standart E-test hem de makro E-test yöntemiyle şüpheli hVISA olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda, MRSA suşlarında vankomisin, teikoplanin, daptomisin, K/D ve linezolidde dirençli suş saptanmamış, tigesiklin direnci (%11) ise beklenenden yüksek bulunmuştur. Dünyada artan glikopeptid direnci ve ülkemizde bu grup ilaçların yoğun kullanımı nedeniyle, MRSA suşlarında vankomisin direnç oranlarının periyodik olarak araştırılması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*; antibiyotik direnci; VISA; hVISA.

ABSTRACT

The aims of this study were to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) values of vancomycin, teicoplanin, daptomycin, quinupristin/dalfopristin, linezolid, tigecycline, chloramphenicol, rifampicin, ofloxacin and tetracycline and to investigate the reduced vancomycin susceptibility among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated in hospitals located in different geographical regions of Turkey. A total of 100 MRSA strains isolated from patients (of which 50% were from intensive care units) hospitalized in seven centers in Turkey [Istanbul (n= 15), Ankara (n= 15), Izmir (n= 15), Adana (n= 15), Diyarbakır (n=15), Erzincan (n= 15), Van (n= 10)], between August 2013 - August 2014, were included in the study. Forty-three strains were isolated from blood, whereas 21 were from lower respiratory tract, 17 from wounds, eight from catheters, six from urine, four from nasal swab and one from cerebrospinal fluid samples. Methicillin resistance of the isolates was determined by using cefoxitin (30 µg) disk with standard disk diffusion method, while the MIC values of other antibiotics were determined with E-test in accordance with the recommendations of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). MIC results obtained for quinupristin-dalfopristin (Q/D) were evaluated according to the CLSI criteria used for methicillin-susceptible *S.aureus* and for tigecycline according to the criteria recommended by the Food and Drug Administration for MRSA. Primarily, agar screening method (ASM) was used for determination of vancomycin-intermediate *S.aureus* (VISA) and heterogeneous VISA (hVISA) strains. Brain heart infusion agar containing 6 µg/ml vancomycin was used in ASM, and the strains with suspicion of VISA/hVISA were screened by standard E-test and macro E-test methods. All MRSA strains were susceptible to vancomycin, teicoplanin, daptomycin, Q/D and linezolid by E-test method; and their rates of susceptibility for tigecycline, chloramphenicol, rifampicin, ofloxacin and tetracycline were detected as 89%, 97%, 40%, 39% and 32%, respectively. MIC₅₀/MIC₉₀ values were 1.5/2 µg/ml for vancomycin, 2/4 µg/ml for teicoplanin, 0.19/0.38 µg/ml for daptomycin, 0.19/0.38 µg/ml for

Q/D, 0.75/1 µg/ml for linezolid, 0.19/0.75 µg/ml for tigecycline, 3/6 µg/ml for chloramphenicol, 32/32 µg/ml for rifampicin, 32/32 µg/ml for ofloxacin and 32/64 µg/ml for tetracycline, respectively. For the evaluation of reduced vancomycin susceptibility, 2% (2/100) of MRSA strains were defined as VISA and 5% (5/100) as hVISA with ASM. One of those seven isolates identified as VISA/hVISA with ASM was evaluated as suspected hVISA by using both standard E-test and macro E-test methods. In conclusion, no MRSA resistant strain to vancomycin, teicoplanin, daptomycin, Q/D and linezolid was determined in our study. However tigecycline resistance (11%) was found higher than expected. As the glycopeptide resistance is increasing in the world and because of the intense use of these drugs in Turkey, the rates of vancomycin resistance among MRSA strains should be investigated periodically.

Keywords: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; antibiotic resistance; VISA; hVISA.

GİRİŞ

Staphylococcus aureus, yaygın metisilin direnci nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), tüm beta-laktamlara dirençli olmasının yanı sıra makrolidler, kinolonlar, tetrasiklinler, linkozamidler ve aminoglikozidlere de direnç gösterebilmektedir¹. MRSA'ya bağlı invazif enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklerin, özellikle vankomisin'in sık kullanımı sonucunda; vankomisine orta düzeyde duyarlı (VISA), heterojen orta düzeyde duyarlı (hVISA) ve dirençli (VRSA) *S.aureus* suşlarının ortaya çıktığı bildirilmektedir². Günümüzde VISA ve hVISA suşlarının ortaya çıkması, glikopeptid grubu antibiyotiklere alternatif olabilecek başka antimikrobiallere ihtiyaç doğurmuştur. Son yıllarda, oksazolidinon grubunda yer alan linezolid; glisilsiklin grubunda yer alan tigesiklin; streptogramin grubunda yer alan kinupristin/dalfopristin (K/D) ve siklik lipopeptid grubunda yer alan daptomisin yeni tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır³⁻⁵. Bu çalışmada, ülkemizin farklı coğrafi bölgelerindeki hastanelerin çeşitli servislerinde yatan hastalardan izole edilen MRSA suşlarında vankomisin (VAN), teikoplanin (TEC), daptomisin (DAP), K/D, tigesiklin (TGC), linezolid (LZD), kloramfenikol (CHL), rifampisin (RIF), tetrasiklin (TET) ve ofloksasin (OFX) için MİK değerlerinin saptanması ve azalmış vankomisin duyarlılığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteriyel İzolatlar

Çalışmaya, Ağustos 2013-Ağustos 2014 tarihleri arasında, altı üniversite hastanesi ile bir devlet hastanesi olmak üzere Türkiye'deki yedi merkezde [İstanbul (n= 15), Ankara (n= 15), İzmir (n= 15), Adana (n= 15), Diyarbakır (n= 15), Erzurum (n= 15), Van (n= 10)], yatan hastalardan (%50'si yoğun bakımda yatan) izole edilen toplam 100 MRSA suşu alındı. Suşların 43'ü kan, 21'i alt solunum yolu örneği, 17'si yara, 8'i kateter, 6'sı idrar, 4'ü burun sürüntüsü ve biri beyin omurilik sıvısından izole edildi.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İzolatların metisilin direnci, sefoksitin (30 µg) diski kullanılarak Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerinde standart disk difüzyon yöntemiyle saptandı. Diğer antibiyotiklerin

MİK değerleri ise standart E-test (Liofilchem, İtalya) yöntemiyle belirlendi. Bu amaçla tüm suşların koyun kanlı agardaki pasajlarından 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandı ve MHA'a ekilerek üzerine E-test şeritleri yerleştirildi. 35°C'de 24 saat inkübasyondan sonra, inhibisyon zonunun E-test şeridini kestiği noktadaki MİK değerleri kaydedildi ve sonuçlar CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerilerine göre değerlendirildi⁶. TGC için bulunan MİK sonuçları ise, FDA (Food and Drug Administration)'nın MRSA için önerdiği (> 0.5 mg/L dirençli) kriterlere göre değerlendirildi⁷. K/D için CLSI'nın metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) için önerdiği değerler (\leq 1 mg/L duyarlı) temel alındı⁶.

Agar Tarama Yöntemi

VISA, hVISA ve VRSA suşlarının belirlenmesinde öncelikle agar tarama yöntemi kullanıldı. Agar tarama yönteminde; 6 µg/ml vankomisin içeren beyin kalp infüzyon agar (BHI-V6) (Oxoid) besiyerine 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonlarından 10'ar µl ekildi ve plaklar 35°C'de normal atmosfer koşullarında 48 saat inkübe edildi. Tarama besiyerlerinde 24. saatte üreyebilen bakteriler şüpheli VISA, 48. saatte üreyen bakteriler ise şüpheli hVISA olarak kabul edildi. Üreme göstermeyen izolatlar ise vankomisine duyarlı olarak değerlendirildi⁸. Bu yöntemle şüpheli VISA/hVISA olarak belirlenen izolatlara standart E-test ve makro E-test yöntemleri uygulandı.

Makro E-test Yöntemi

Standart E-test yöntemi ile VAN MİK değeri 4 µg/ml olarak bulunan suşlar ile agar tarama yöntemi ile şüpheli VISA/hVISA olarak belirlenen 7 MRSA suşuna standart E-test ve makro E-test yöntemleri uygulandı. Makro E-Test yönteminde 2 McFarland bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonlarından 200 µl alınarak BHI agar besiyerlerinin yüzeyine yayıldı. Kuruma için 10 dakika beklendikten sonra VAN ve TEC E-test şeritleri yerleştirildi ve 35°C'de 48 saat inkübe edildi. Sonuçlar yorumlanırken, VAN ve TEC MİK değerleri \geq 8µg/ml ya da sadece TEC MİK değeri \geq 12 µg/ml olan izolatlar VISA/hVISA olarak yorumlandı⁹.

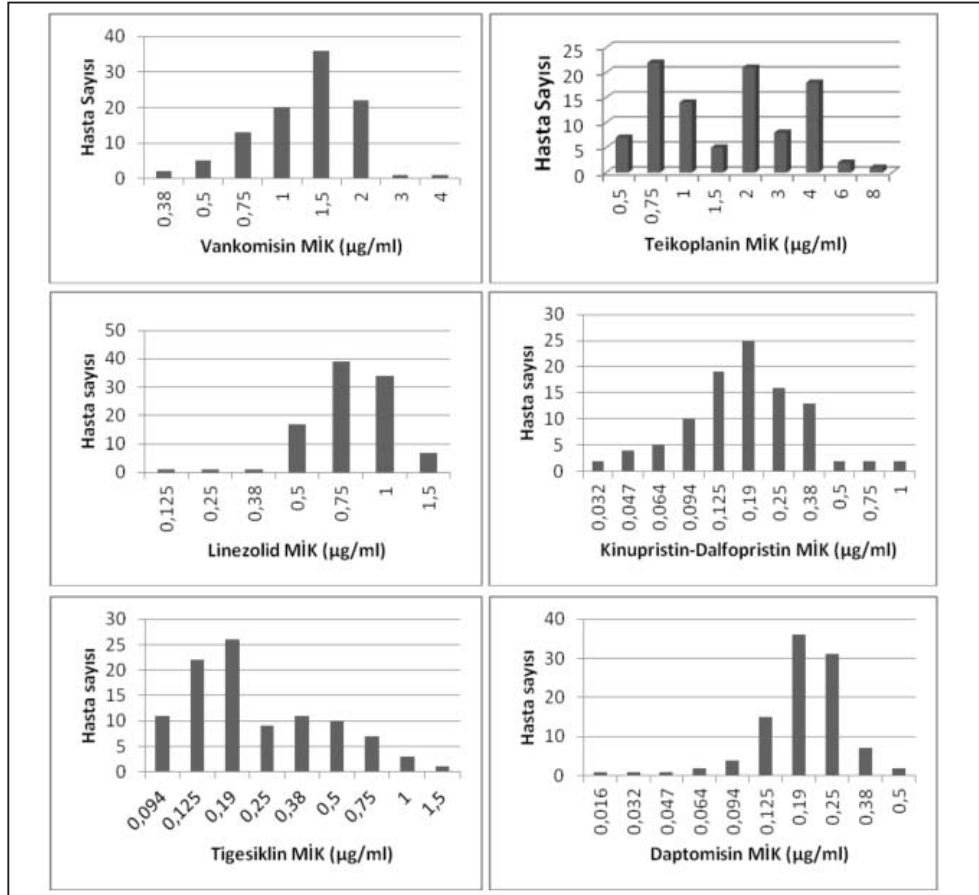
BULGULAR

Çalışmaya alınan tüm MRSA suşları E-test yöntemi ile VAN, TEC, DAP, K/D ve LZD'e duyarlı bulunmuş; CHL, RIF, OFX ve TET duyarlılık oranları ise sırasıyla; %97, %40, %39 ve %32 olarak belirlenmiştir. FDA'nın MRSA için önerdiği kriterlere göre suşların %11'i (11/100) TGC'e dirençli bulunmuştur. RIF, OFX ve TET MİK₅₀/MİK₉₀ değerlerinin, direnç oranlarına benzer şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca VAN, TEC ve LZD MİK₉₀ değerlerinin CLSI'nın duyarlılık için önerdiği sınır değerlere yakın olduğu bulunurken; TGC MİK₉₀ değeri, FDA'nın MRSA için önerdiği dirençli değerinin (> 0.5mg/L) üzerinde bulunmuştur. Tüm MRSA suşlarının MİK aralıkları, MİK₅₀/MİK₉₀ değerleri ve antibiyotik direnç durumları Tablo 1'de, MİK dağılımları ise Şekil 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. MRSA İzolatları İçin Belirlenen MİK Değerleri ($\mu\text{g/ml}$) ve Direnç Durumu

	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK Aralığı	Duyarlı (%)	Orta duyarlı (%)	Dirençli (%)
VAN	1.5	2	0.38-4	97	3	0
TEC	2	4	0.5-8	100	0	0
DAP	0.19	0.38	0.016-0.5	100	0	0
LZD	0.75	1	0.125-1.5	100	0	0
K/D	0.19	0.38	0.032-1	100	0	0
TGC	0.19	0.75	0.094-1.5	89	0	11
CHL	3	6	1-128	97	0	3
RIF	32	32	0.002-32	40	0	57
OFX	32	32	0.19-32	35	4	61
TET	32	64	0.032-96	30	2	68

VAN: Vankomisin; TEC: Teikoplanin; DAP: Daptomisin; LZD: Linezolid; K/D: Kinupristin/Dalfopristin; TGC: Tigesiklin; CHL: Kloramfenikol; RIF: Rifampisin; OFX: Ofloksasilin; TET: Tetrasiklin



Şekil 1. Test edilen antibiyotiklerin MİK dağılımları.

Azalmış vankomisin duyarlılığı araştırıldığında; agar tarama yöntemi ile MRSA suşlarının %2 (2/100)'si VISA, %5 (5/100)'i ise hVISA olarak tanımlanmıştır. Agar tarama yöntemi ile VISA/hVISA olarak saptanan 7 *S.aureus* izolatının birisi (1 no.lu suş) hem standart E-test hem de makro E-test yöntemiyle şüpheli hVISA olarak değerlendirilmiştir (Tablo II).

TARTIŞMA

Son on yılda kullanıma giren LZD, DAP, K/D ve TGC, MRSA enfeksiyonlarına karşı etkili bir tedavi sağlamıştır. Bu yeni ilaçlara karşı direnç geliştiğini gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte, LZD ve DAP'in düşük direnç oranlarına sahip olduğu vurgulanmaktadır¹⁰. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da, test edilen tüm MRSA suşlarının bu iki antibiyotige karşı duyarlı saptamıştır¹¹⁻¹³. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde tüm suşların LZD ve DAP'e duyarlı oldukları bulunmuştur. Ülkemizde henüz kullanıma girmeyen fakat dirençli suşların bildirildiği yeni antibiyotiklerden biri de K/D'dir. Yapılan çalışmalarda Öksüz ve arkadaşları¹⁴ K/D için $MİK_{50}/MİK_{90}$ değerini; 0.5/0.75, Cesur ve arkadaşları¹² ise; 0.5/1.0 olarak saptamış ve bu çalışmalarda direnç bildirilmemiştir. Çalışmamızda K/D için $MİK_{50}/MİK_{90}$ değeri 0.19/0.38 bulunurken tüm suşlar duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Başta MRSA olmak üzere çoklu ilaç direnci gösteren bakterilerin tedavisinde kullanılan yeni antimikrobiyalardan bir diğeri tigesiklidir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda TGC'e karşı direnç bildirilmeye başlanmıştır. Öksüz ve arkadaşları¹⁴ 49 MRSA suşu ile yaptıkları çalışmada; %2 oranında direnç saptamış, $MİK_{50}/MİK_{90}$ değerlerini 0.19/0.38 olarak bildirmiştir. Cesur ve arkadaşları¹² ise direnç oranını %3 ve $MİK_{50}/MİK_{90}$ değerlerini 0.19/0.38 olarak saptamıştır. Ülkemizin farklı bölgelerinden izole edilen suşlarla yaptığımız bu çalışmada ise, TGC'e karşı direnç oranı (%11) ve $MİK_{90}$ değeri (0.75), diğer çalışmalara^{12,14} göre beklenenden yüksek bulunmuştur. Bu durum, birçok gram-negatif ve gram-pozitif bakteri enfeksiyonlarında tigesiklinin daha yaygın kullanılması ile ilişkili olabilir. Ayrıca bazı çalışmalarda MHA'da bulunan manganiz miktarının yüksek olması durumunda tigesiklin $MİK$ değerlerinin arttığı gösterilmiştir¹⁵. Dolayısıyla çalışmamızda kullanılan biyolojik bir besiyeri olan MHA'daki manganiz miktarı, saptadığımız tigesiklin direnç oranını etkilemiş olabilir. Çalışmamızda değerlendirilen VAN, TEC, K/D ve DAP'in

Tablo II. MRSA İzolatları İçin Agar Tarama, Standart E-Test ve Makro E-Test ile Elde Edilen Sonuçlar

İzolat no	Agar tarama		Standart E-test ($\mu\text{g/ml}$)		Makro E-test ($\mu\text{g/ml}$)	
	24.saat	48.saat	VAN	TEC	VAN	TEC
1	+	+	4	4	8	4
2	+	+	3	3	3	3
3	-	+	2	3	3	3
4	-	+	1.5	1	6	1.5
5	-	+	0.5	1	0.75	2
6	-	+	1.5	0.75	2	1
7	-	+	1	2	3	3

VAN: Vankomisin; TEC: Teikoplanin

MİK değerleri incelendiğinde, diğer çalışmalarla^{11,12} benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Ancak LZD için saptadığımız MİK₅₀/MİK₉₀ değerleri (0.75/1), Çelikbilek ve arkadaşları¹¹ (0.19/0.75) ile Cesur ve arkadaşlarının¹² (0.38/0.50) çalışmalarına göre daha yüksek bulunmuştur.

Kullanıma giren yeni antibiyotiklere rağmen MRSA enfeksiyonlarında temel tedavi seçeneği glikopeptidlerdir. Glikopeptid direnci ilk kez 2002 yılında ortaya çıkmış olup, son yıllarda dünyanın değişik bölgelerinde giderek artan oranlarda VISA/hVISA izolatları rapor edilmektedir^{16,17}. VISA izolatlarının rutin antimikrobiyal duyarlılık testleri ile belirlenememesi ve vankomisin oldukça yaygın olarak kullanılıyor olması, ülkemizde belirli aralıklarla azalmış vankomisin duyarlılığı araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu suşları saptamak için bir dizi tarama deneyi geliştirilmiş, ancak uygun ve güvenilir olan standart bir yaklaşım saptanamamıştır. Bu suşların saptanmasında kolay, hızlı ve ucuz olması nedeniyle rutin laboratuvarlarda 3-4-6 mg/L vankomisin içeren BHI tarama yöntemi kullanılmaktadır^{18,19}.

European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) ve CLSI gibi bazı kuruluşlar sıvı mikrodilüsyon ve makro E-test gibi metodlarla doğrulama yapılabileceğini bildirirse de, popülasyon analizi profili yöntemi en güvenilir doğrulama yöntemidir²⁰. Bu yöntemin, pahalı ve rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanması oldukça zor olması nedeniyle referans laboratuvarlarda çalışılması önerilmektedir²¹. Bu nedenle çalışmamızda öncelikle tarama yöntemi olarak 6 mg/L vankomisin içeren BHI agar tarama yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan yöntemlerin farklılığı, VISA/hVISA suşlarının prevalanslarının karşılaştırılmasında zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır. Cesur ve arkadaşları¹², vankomisin agar tarama testi ve E-test yöntemi kullanılarak azalmış vankomisin duyarlılığını araştırdıkları bir çalışmada, MRSA suşlarında VISA veya VRSA saptamamışlardır. Benzer şekilde Aktaş ve arkadaşları²², 4 ve 6 µg/ml vankomisinli agar tarama yöntemi ve agar dilüsyon yöntemi ile stafilokok suşlarında VISA/hVISA tespit etmemişlerdir. Buna karşın Sancak ve arkadaşları²³ makro E-test yöntemi ve 4 µg/ml vankomisinli agar tarama yöntemi ile %17.9 oranında hVISA saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise Kuşçu ve arkadaşları²⁴ *S.aureus* suşlarında VISA ve hVISA oranını sırasıyla %0.9 ve %0.9 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda, MRSA suşlarında agar tarama yöntemi ile %2 oranında VISA, %5 oranında hVISA saptanmıştır. Agar tarama yöntemi ile VISA olarak saptanan suşlarından biri hem standart E-test hem de makro E-test yöntemiyle şüpheli hVISA olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, MRSA suşlarında VAN, TEC, DAP, K/D ve LZD'e dirençli suş saptanmamış, TGC direnci (%11) ise beklenenden yüksek bulunmuştur. MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde bu antibiyotiklerin birbirlerine alternatif olarak kullanılabilmesi görülmektedir. Dünyada artan glikopeptid direnci ve ülkemizde yoğun kullanımı nedeniyle, belirli dönemlerde MRSA suşlarında vankomisin direnç oranlarının araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Oksuz L, Dupieux C, Tristan A, Bes M, Etienne J, Gurler N. The high diversity of MRSA clones detected in a university hospital in Istanbul. *Int J Med Sci* 2013; 10(12): 1740-5.
2. Tarai B, Das P, Kumar D. Recurrent challenges for clinicians: emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin resistance, and current treatment options. *J Lab Physicians* 2013; 5(2): 71-8.
3. Baudoux P, Lemaire S, Denis O, Tulkens PM, Van Bambeke F, Glupczynski Y. Activity of quinupristin/dalfopristin against extracellular and intracellular *Staphylococcus aureus* with various resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(6): 1228-36.
4. Pelitli TS, Cesur S, Kinikli S, Irmak H, Demiröz AP, Karakoç E. Evaluation of vancomycin, teicoplanin, linezolid and tigecycline susceptibilities of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus* strains by E-test. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(4): 758-61.
5. Aktaş G, Derbentli S. In vitro activity of daptomycin against VRE and MRSA strains. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(1): 123-8.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Second Informational Supplement. CLSI Document M100 S22, 2012. CLSI, Wayne, PA.
7. United States Food and Drug Administration. Highlights of prescribing information tygacil. Available at: <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/Safety-RelatedDrugLabelingChanges/ucm132714.htm>
8. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997; 350(9092): 1670-3.
9. Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol* 2001; 39(7): 2439-44.
10. Holmes NE, Tong SY, Davis JS, Hal SJ. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: vancomycin and beyond. *Semin Respir Crit Care Med* 2015; 36(1): 17-30.
11. Celikbilek N, Ozdem B, Gürelük FC, Güvenman S, Güner HR, Açıkgöz ZC. Invitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates to vancomycin, teicoplanin, linezolid and daptomycin. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3): 512-8.
12. Cesur S, Irmak H, Simşek H, et al. Evaluation of antibiotic susceptibilities and VISA-VRSA rates among MRSA strains isolated from hospitalized patients in intensive care units of hospitals in seven provinces of Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(3): 352-8.
13. Hancı H, Uyanık MH, Bilici D, Albayrak A, Ayyıldız A. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilokok suşlarında daptomisin etkinliğinin araştırılması. *ANKEM Derg* 2013; 27(2): 64-9.
14. Oksuz L, Gurler N. Susceptibility of clinical methicillin-resistant Staphylococci isolates to new antibiotics. *J Infect Dev Ctries* 2013; 7(11): 825-31.
15. Thamlikitkul V, Tiengrim S. Effect of different Mueller-Hinton agars on tigecycline disc diffusion susceptibility for *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62(4): 847-8.
16. Dilworth TJ, Sliwinski J, Ryan K, Dodd M, Mercier RC. Evaluation of vancomycin in combination with piperacillin-tazobactam or oxacillin against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates and vancomycin-intermediate *S.aureus* isolates in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(2): 1028-33.
17. Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2014; 124(7): 2836-40.
18. Burnham CA, Weber CJ, Dunne WM Jr. Novel screening agar for detection of vancomycin-nonsusceptible *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2010; 48(3): 949-51.
19. Van Hal SJ, Wehrhahn MC, Barbogiannakos T, et al. Performance of various testing methodologies for detection of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in blood stream isolates. *J Clin Microbiol* 2011; 49(4): 1489-94.

20. Taş T, Mengeloğlu FZ. Stafilocoklarda glikopeptid duyarlılığının hatalı bildiri. ANKEM Derg 2013; 27(1): 46-7.
21. Sancak B. *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance. Mikrobiyol Bul 2011; 45(3): 565-76.
22. Aktaş E, Mengeloğlu FZ, Külah C, Cömert FB. Evaluation of reduced susceptibility to vancomycin among MRSA strains isolated from clinical specimens. Mikrobiyol Bul 2010; 44(2): 339-41.
23. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Colakoglu S, Haşçelik G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. J Antimicrob Chemother 2005; 56(3): 519-23.
24. Kuşcu F, Oztürk DB, Gürbüz Y, Tütüncü EE, Sencan I, Gül S. Investigation of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-resistant staphylococci. Mikrobiyol Bul 2011; 45(2): 248-57.