

Kan Kültürlerinden İzole Edilen Koagülaz-Negatif Stafilokokların Antibiyotiklere Direnç Durumları

Kezban Gürdoğan, Dilek Arman, Firdevs Aktaş, Murat Dizbay

Özet: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1995-1996 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen 65 koagülaz-negatif stafilokokun, çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı *in vitro* duyarlılığı araştırılmıştır. Vankomisin, teikoplanin, ofloksasin, siprofloksasin, kotrimoksazolün minimal inhibitör konsantrasyonları NCCLS önerilerine uygun olarak agar dilüsyon metodu ile saptanmıştır. Metisilin duyarlılığı 1 µg oksasilin içeren diskler kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve % 32 oranında metisilin direnci bulunmuştur. İncelenen β-laktam dışı antibiyotiklerden ofloksasine % 12, siprofloksasine % 15, amikasin % 20 ve kotrimoksazole % 11 oranında direnç belirlenmiştir. Teikoplanin ve vankomisine dirençli suş saptanmamıştır.

Anahtar Sözcükler: Koagülaz-negatif stafilokok, kan kültürleri, antimikrobiyal direnç.

Summary: Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. In this study, *in vitro* susceptibility of 65 coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures from 1995 to 1996 in Gazi University Medical Faculty Hospital to 7 different antimicrobial agents were determined. For this purpose, minimal inhibitory concentrations of vancomycin, teicoplanin, ofloxacin, ciprofloxacin, and co-trimoxazole were tested by agar dilution method according to the recommendations of NCCLS. Susceptibility to methicillin was determined by using 1 µg oxacillin disk and methicillin resistance was found to be 32%. Overall resistance to the non-β-lactam antimicrobial agents were as follows: ofloxacin 12%, ciprofloxacin 15%, amikacin 20%, and co-trimoxazole 11%. None of the strains were resistant to teicoplanin or vancomycin.

Key Words: Coagulase-negative staphylococci, blood cultures, antimicrobial resistance.

Giriş

Koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS'ler), başta *Staphylococcus epidermidis* olmak üzere son yıllarda bütün dünyada önemi artan nozokomiyal patojenlerdir. Vasküler kateter ve protez materyali varlığı, KNS bakteriyemilerinde en sık saptanan risk faktörleridir. Ayrıca bu bakteriler yenidoğan ve nötropenik hastalardaki sepsislerin önde gelen nedenleri arasındadır (1). Stafilokoklarda metisilin direnci giderek artmakta olan bir problemdir. Metisiline dirençli olan suşlar β-laktam antibiyotiklerin yanı sıra pek çok antibiyotiğe de dirençli olabilmektedir (2). Bu çalışmada, nozokomiyal infeksiyonlarda yerel antibiyotik duyarlılık sonuçlarının önemi nedeni ile, hastanemizde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen KNS'lerde metisilin direnci ve bazı antibiyotiklere duyarlılık durumları araştırılmıştır.

Yöntemler

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, değişik kliniklerde yatarak izlenen hastaların kan kültürlerinden 1995-1996 yılları arasında izole edilen 65 KNS suşu çalışmaya alınmıştır. Bu suşların 25'i yenidoğan ve çocuk, 5'i cerrahi, 35'i ise iç hastalıkları kliniklerinden gönderilen kan kültürlerinden izole edilmiştir.

Üretici firmalardan sağlanan vankomisin (Lilly), siprofloksasin (Bayer Türk), amikasin (Bristol-Myers Squibb),

kotrimoksazol (Roche), ofloksasin ve teikoplanin (Türk Hoechst)'in minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) agar dilüsyon yöntemi ile NCCLS önerilerine uygun olarak araştırılmıştır (3). Bu amaçla Mueller-Hinton besiyeri ve kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.

Uygun konsantrasyonda antibiyotik içerecek şekilde hazırlanan seri dilüsyonel plaklar, ağzı kapalı naylon içinde buzdolabında (+4-6°C) saklanarak 5 gün içinde kullanılmıştır. Bakterilerin bir gecelik kültüründen 0.5 McFarland standardına eşit bulanıklıkta (1-2 x 10⁸ cfu/ml) süspansiyon hazırlanmış; bu süspansiyonun 1/10 dilüsyonundan 3 mm çaplı öze ile (1-2 µl) besiyeri yüzeyine ekim yapılmıştır. Ekime antibiyotik içermeyen kontrol plağından ve sonra en düşük konsantrasyonda antibiyotik içeren plaktan başlanmış, son olarak kontaminasyonu değerlendirmek üzere bir kontrol plağına daha ekim yapılmıştır.

Ekim işlemi tamamlanan plaklar, yüzeydeki ekim sıvıları agar tarafından emildikten sonra 35°C'lik etüvde 18-20 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda her bakteri ve antibiyotik için üremenin saptanmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak kaydedilmiştir. Değerlendirme sırasında tek koloni üremesi ihmal edilmiştir.

Her antibiyotik için denenen suşlardan 33'ünün (%50) inhibe olduğu en düşük konsantrasyon MİK₅₀; 59'unun (%90) inhibe olduğu en düşük konsantrasyon MİK₉₀ olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Koagülaz-Negatif Stafilokokların Antibiyotiklere Duyarlılığı

Antibiyotik	MİK Aralığı (mg/lt)	MİK ₅₀ (mg/lt)	MİK ₉₀ (mg/lt)	Direnç (%)	Direnç Sınırı* (mg/lt)
Vankomisin	0.5-2	1	2	0	≥32
Teikoplanin	0.5-8	2	4	0	≥32
Ofloksasin	≤0.12-≥16	1	8	12	≥8
Siprofloksasin	≤0.12-≥8	0.5	4	15	≥4
Amikasin	≤0.5-≥64	4	32	20	≥64
Kotrimoksazol	0.12/2.35-4/76	0.5-9.5	4/76	11	≥4/76

*NCCLS önerilerine göre (3).

Metisilin duyarlılığı 1 µg oksasilin içeren diskler kullanılarak, disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış, bu amaçla 30°C'de, 24 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon zonu çapları değerlendirilmiştir (4).

Sonuçlar

İncelenen 65 KNS suşunun 21'i metisiline dirençli (%32), 44'ü metisiline duyarlı (%68) olarak bulunmuştur. Bu suşların araştırılan antibiyotiklere duyarlılık durumu Tablo 1'de özetlenmiştir. Stafilokokların β-laktamlar dışındaki antibiyotiklere karşı metisiline dirençli ya da duyarlı olmalarına göre direnç durumları Tablo 2'de sunulmuştur.

İrdeleme

KNS'ler başta sepsis ve bakteriyemilerde olmak üzere, son yıllarda hastane infeksiyonlarının en önemli etkenleri arasına girmiştir. ABD'de 1980-1989 yılları arasında nozokomiyal bakteriyemilerde KNS sıklığının %9'dan %27'ye artma gösterdiği bildirilmektedir. Bu süre içinde metisiline dirençli KNS sıklığı da %20'den %60'a yükselmiştir. Metisilin direnci, çoklu antibiyotik direnci şeklinde ortaya çıkmaktadır. β-laktam ilaçlar dışında da pek çok antibiyotiğe direnç söz konusudur. Ayrıca direnç gelişimi ile nozokomiyal infeksiyon sıklığındaki artış arasında da bir paralellik saptanmıştır (2). KNS'lerde metisilin direncinin artışı imipenem, 1., 2., ve 3. kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımı ile ilişkili bulunmuştur (5). Ülkemizde de nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak KNS'lerin önem kazandığı bildirilmektedir. Hacettepe Üniversitesi hastane infeksiyonları sürveyans verilerine göre nozokomiyal infeksiyonlarda KNS sıklığı 1990 ve 1995 yılları arasında %6'dan %13'e yükselmiştir (6). Ülkemizde yapılan çalışmalarda KNS'lerde metisilin direnci %21.3 - %43 arasında bulunmuştur (7-9). Çalışmamızda ise KNS'lerde metisilin direnci %32 oranında saptanmıştır. Diğer çalışmalarda değişik klinik örneklerden izole edilen bakteriler değerlendirilmişken, sonuçlarımız sadece kan izolatlarını içermektedir.

Metisiline dirençli stafilokoklarda β-laktamlar dışındaki antibiyotiklere yüksek oranda direnç bildirilmekte, ancak direnç oranlarının yerel farklılıkları olabileceği vurgulanmaktadır (2,7,9). Çalışmamızda metisiline dirençli KNS'lerde kotrimoksazol ve amikasin karşı direncin, metisiline duyarlı KNS'lere karşı dirence oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Kinolonlara karşı ise metisiline duyarlı ve dirençli grupta direnç farklılığı saptanmamıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Metisiline Duyarlı ve Metisiline Dirençli Bulunan Stafilokokların β-laktam Grubu Dışındaki Antibiyotiklere Direnç Durumu

Antibiyotik	Direnç Yüzdesi	
	Metisiline Duyarlı	Metisiline Dirençli
Vankomisin	0	0
Teikoplanin	0	0
Ofloksasin	18	10
Siprofloksasin	16	14
Amikasin	11	29
Kotrimoksazol	2	19

İncelenen suşların hiçbirinde vankomisine ve ondan sonra klinik kullanıma sunulan teikoplanine karşı direnç saptanmamıştır. *Staphylococcus epidermidis* ve *S. haemolyticus* suşlarında, özellikle Avrupa'da teikoplanine dirençli suşlar izole edilmiştir (2,10). Bu nedenle KNS infeksiyonlarının empirik tedavisinde teikoplanin ancak duyarlılık sonuçlarına göre başvurulabilecek bir seçenektir. Oysa bu durum vankomisinde çok nadirdir (2).

Çalışmamızın sonuçlarına göre KNS bakteriyemilerinde vankomisin ve teikoplanin en uygun seçeneklerdir. Kinolonlar, aminoglikozidler ve kotrimoksazole karşı duyarlılık değişken olduğundan duyarlılık sonuçlarına göre davranılmalıdır.

Kaynaklar

- Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 231-5
- Archer GL, Climo MW. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2231-7
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Fourth ed. Approved Standard. NCCLS Document M7-A4. Wayne, Pa: NCCLS, 1997
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. Sixth ed. Approved Standard. NCCLS Document M2-A6. Wayne, Pa: NCCLS, 1997
- Lyytikäinen O, Vaara M, Jarviluoma E, Rosenquist K, Tiitinen L, Valtonen A. Increased resistance among *Staphylococcus epidermidis* isolates in a large teaching hospital over a 12-year peri-

- od. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 14:133-8
6. Ünal S. Hastane infeksiyonlarında direnç problemi. *Ankem Derg* 1996;10: 160-7
 7. Birengel S, Kurt H, Boşca A, Balık İ, Tekeli E. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocokların metisilin direncine göre çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeks Derg* 1994;8: 121-5
 8. Elçi S, Gül K, Özel F, Suay A, Mete Ö. Koagülaz negatif stafilocoklarda makro ve mikro yöntemle "slime" oluşumunun saptanması ve antibiyotik direncinin araştırılması. *İnfeks Derg* 1996; 10: 203-6
 9. Öztürk R, Midilli K, Ergin S, Aygün G. Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde yatan hastalardan izole edilen stafilocokların antimikrobik maddelere duyarlılığı. *Ankem Derg* 1996;10: 48-51
 10. Tripodi MF, Attanasio V, Adinolfi LE, et al. Prevalance of antibiotic resistance among clinical isolates of methicilin-resistant staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13: 148-5