

Metisiline Dirençli ve Duyarlı *Staphylococcus aureus* Suşlarının İmipenem ve Klaritromisine In Vitro Duyarlılıkları

Ayşe Yüce, Mine Yücesoy, Nuran Yuluğ

Özet: Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 103 *Staphylococcus aureus* suşunun metisiline duyarlılığı disk difüzyon, imipenem ve klaritromisine duyarlılığı ise mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Yüz üç suşun 42'si (% 40.7) metisiline dirençli olarak saptanmıştır. Mikroorganizmaların imipenem için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.12 µg/ml ve 32 µg/ml; klaritromisin için ise 0.50 µg/ml ve 32 µg/ml olarak bulunmuştur. Metisiline dirençli 42 suşun 21'i (% 50) imipeneme, 32'si (% 76.1) klaritromisine duyarlı olarak saptanmıştır. Buna göre metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının enfeksiyonlarında bu iki antibiyotiğin antibiyotik duyarlılık testlerinden önce seçilebileceği görüşündeyiz.

Anahtar Sözcükler: Metisilin, klaritromisin, imipenem, *Staphylococcus aureus*.

Summary: In vitro susceptibility of methicillin resistant and sensitive staphylococcus aureus strains against imipenem and clarithromycin. Hundred and three *Staphylococcus aureus* strains isolated in our Clinical Microbiology Laboratory from various specimens were tested against methicillin with disk diffusion and against imipenem and clarithromycin with microdilution method.

Forty two (40.7 %) of 103 strains were found to be resistant to methicillin. The MIC₅₀ and MIC₉₀ values of microorganisms against imipenem were 0.12 µg/ml and 32 µg/ml respectively where as the same values against clarithromycin were 0.50 µg/ml and 32 µg/ml. Thirty two (76.1 %) and 21 (50 %) of 42 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains were found to be sensitive to imipenem and clarithromycin respectively. Thus these two antibiotics could be chosen for the infection of these strains before the antibiotic sensitivity tests.

Key Words: Methicillin, clarithromycin, imipenem, *Staphylococcus aureus*.

Giriş

İnfeksiyonlardan korunma ve sağaltımda doğru antibiyotik seçimi en önemli noktadır. Bunun için mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıklarının bilinmesi gerekmektedir. Ancak bu noktada dirençlilik sorunu ile karşılaşmaktadır. Yıllar geçtikçe rutin kullanılan antibiyotiklere direnç artmakta ve sürekli yeni antibiyotikler keşfedilerek piyasaya sürülmektedir.

Son yıllarda bir çok 14,15,16 üyeli yeni makrolid sentezlenmiştir. 14 üyeli yeni makrolidlerden biri de bu grubun en fazla kullanılan üyesi olan eritromisine göre dokulara penetrasyon, emilim ve hücre içi mikroorganizmalara etki yönlerinden üstün özelliklere sahip olan klaritromisindir (1,2).

Tienamisin türevi olan imipenem ise yeni sentezlenmiş bir beta-laktam antibiyotiktir. İmipenemin Gram-olumlu mikroorganizmalara, *Enterobacteriaceae* ailesi, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacteroides* türlerine karşı diğer beta-laktam antibiyotiklerden daha üstün bir aktiviteye sahip olması ile onlardan ayrıldığı bildirilmiştir (3).

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının, bu iki yeni antibiyotiğe in vitro duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Yöntemler

Bakteri Suşları: Mikrobiyoloji Laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden (59'u yara, 21'i boğaz salgısı ve balgam, 13'ü idrar, 7'si trakeal sekret, 3'ü kan kültürlerinden) soyutlanan 103 *S.aureus* suşu ve kontrol olarak *S.aureus* ATCC 25923 standard suşu kullanıldı.

Antibiyotikler: İmipenem (Merck Sharp & Dohme) ve klaritromisin (Abbot) toz hammadde olarak; metisilin ise 5 µg/lık diskler şeklinde kullanıldı.

Metisilin Duyarlılığının Saptanması: Suşların metisilin duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı (4) ve National

Tablo 1. Mikroorganizmaların MİK'e Göre Değerlendirilmesi

| Antibiyotik | MİK (µg/ml) | Yorum |
|---------------|-------------|--------------|
| İmipenem | ≤ 4 | Duyarlı |
| | > 4 - < 16 | Orta duyarlı |
| | ≥ 16 | Dirençli |
| Klaritromisin | ≤ 2 | Duyarlı |
| | > 2 - < 8 | Orta duyarlı |
| | ≥ 8 | Dirençli |

Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'ın önerdiği üzere zon çaplarından 9 mm'ye dek olanlar dirençli, 10-13 mm arasındakiler orta duyarlı, 14 mm ve üzerindeki duyarlı olarak değerlendirildi (5).

Minimal İnhibitör Konsantrasyonların Saptanması ve Sonuçların Değerlendirilmesi: Suşların klaritromisin ve imipeneme karşı minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı (6) ve sonuçlar NCCLS'in önerdiği standartlara uygun olarak değerlendirildi (Tablo 1) (7).

Sonuçlar

Çalışmamızda 103 *S.aureus* suşunun 42'si (% 40.7) metisiline dirençli, 61'i (% 59.3) metisiline duyarlı olarak saptandı.

Mikrodilüsyon yöntemi ile saptadığımız MİK₅₀ ve MİK₉₀ de-

Tablo 2. *Staphylococcus aureus* Suşlarının İmipenem ve Klaritromisin İçin MİK₅₀ ve MİK₉₀ Değerleri

| | MİK ₅₀ (µg/ml) | MİK ₉₀ (µg/ml) | <i>S.aureus</i> ATCC 25923 MİK (µg/ml) |
|---------------|---------------------------|---------------------------|--|
| İmipenem | 0.12 | 32 | 8 |
| Klaritromisin | 0.50 | 32 | 0.25 |

Tablo 3. MDSA ve MRSA Suşlarının İmipenem ve Klaritromisine Duyarlılıkları

| | Metisilin Duyarlı | | | Metisilin Dirençli | | |
|---------------|-------------------|------------------|--------------|--------------------|------------------|--------------|
| | Duyarlı (%) | Orta duyarlı (%) | Dirençli (%) | Duyarlı (%) | Orta duyarlı (%) | Dirençli (%) |
| İmipenem | 55 (90.2) | - | 6 (9.8) | 21 (50.0) | 2 (4.7) | 19 (45.3) |
| Klaritromisin | 51 (83.6) | 1 (1.6) | 9 (14.8) | 32 (76.1) | 2 (4.7) | 8 (19.2) |

ğeri klaritromisin için 0.50 ve 32 µg/ml, imipenem için 0.12 ve 32 µg/ml idi. Bu değerler kontrol suşumuz ile karşılaştırılmalı olarak Tablo 2'de gösterilmiştir.

Metisiline duyarlı *S.aureus* (MDSA) suşlarının 55'i (% 90.2) imipeneme, 51'i (% 83.6) klaritromisine duyarlı bulunurken, metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) suşlarının 21'i (% 50) imipeneme, 32'si (% 76.1) klaritromisine duyarlı olarak saptanmıştır (Tablo 3).

İrdeleme

1950'lerin sonları ile 1960'ların başlarında özellikle yatan hastalarda görülen yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan *S.aureus* infeksiyonları penisilinaza dirençli semisentetik penisilinlerin kullanılması ile sağaltılabilmıştır. Ancak 1980'li yıllarda MRSA suşları önemli bir klinik ve epidemiyolojik sorun olarak karşımıza çıkmıştır (8). 1988-1990 yılları arasında yapılan bir çalışmada MRSA suşlarının yıldan yıla artış gösterdiği sonucuna varılmıştır (9).

Çalışmamızda yatan ve ayaktan hastaların çeşitli örneklerinden soyutladığımız 103 *S.aureus* suşundan 42'sinin (% 40.7) metisiline dirençli olduğunu saptadık. ABD'de 1975-1991 yılları arasında soyutlanan 66132 *S.aureus* suşunun incelendiği bir çalışmada MRSA oranı % 11 olarak bildirilmiştir (10). Almanya'da 1992 yılında yayınlanan çok merkezli bir çalışmada ise MRSA oranının % 5'in üzerinde olduğu belirtilmektedir (11). Saptamış olduğumuz oran diğerlerine göre hayli yüksektir. Ülkemizdeki uygun suş antibiyotik kullanımı, suşları soyutladığımız hastaların çoğunun yatan hasta oluşu, yurt dışı çalışmalara göre suş sayımızın daha az olması bu oran yüksekliğinin nedenleri olabilir. Metisilin direncini etkileyen faktörlerden biri de suşların soyutlandığı klinik ve hastaların durumudur. ABD'de 1981 yılında cerrahi servislere yatan hasta örneklerinden soyutlanan *S.aureus*'ların metisilin direnç oranları % 30 olarak saptanmıştır (12). Eskitürk ve arkadaşları (13) 1993 yılında yoğun bakım ünitesindeki hastalardan soyutlanan *S.aureus* suşlarında % 61, Bakır ve arkadaşları (14) hastane infeksiyonu etkeni olarak belirlenen *S.aureus* suşlarında ise % 21.4 oranında metisilin direnci saptamışlardır.

Bu kadar yüksek oranda metisilin direnci saptanması, doğal olarak, bu suşlar için kullanılacak antibiyotik sorununu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, MRSA suşlarının çoğunun genel olarak kullanılan makrolid, aminoglikozid ve beta-laktam antibiyotiklerin çoğuna dirençli olduğu belirtilmiştir (8).

Suşlarımızda klaritromisin için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.50 ve 32 µg/ml şeklinde saptanmış olup MRSA suşlarının % 76.1'i klaritromisine duyarlı bulunmuştur. Neu (2) çeşitli çalışmalarını topladığı bir yayında *S.aureus*'un klaritromisin için MİK₉₀'i 0.12 µg/ml olarak bildirmiştir. Logan ve arkadaşları (15) *S.aureus*'un aynı antibiyotik için MİK₅₀ değerini 0.12 µg/ml olarak saptamıştır. Bizim elde ettiğimiz MİK değerleri diğer çalışmaların yükseklerdir. Farklılıklar kullanılan suşlara ve toplumdaki antibiyotik politikasına bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Klaritromisinin *S.aureus*, streptokoklar, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis* ve *Chlamydia trachomatis*'e karşı eritromisinden daha etkin olduğu bildirilmiş (16), 3880 klinik izolat ile yapılan diğer bir çalışmada bu makrolidin *S.aureus*'a karşı

eritromisinden 2 kez daha aktif olduğu saptanmıştır (17). Klaritromisinin intraselüler mikroorganizmalara bu denli etkinliğinde bu antibiyotikğin insan fagositleri içine aktif olarak alınmasının ve hücre içinde dış ortama göre dokuz kat daha yoğun bulunmasının önemli olduğu vurgulanmaktadır (18). Öte yandan klinik çalışmalarda *S.aureus* infeksiyonlarında klaritromisin sağaltımı ile % 87 oranında bakteriyolojik eradikasyon sağlandığı da saptanmıştır (2). Bir diğer önemli nokta da makrolid antibiyotiklerin *S.aureus*'a karşı postantibiyotik etki göstermesidir (19). Ancak klaritromisinin bu bakteriye karşı gösterdiği postantibiyotik etkinin eritromisininkinden 3 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (20).

Beta-laktam antibiyotiklerden klinik kullanım için geliştirilen ilk tienamisin antibiyotik imipenemdir. İmipenemin tüm Gram-olumlu koklara karşı olan aktivitesinin diğer beta-laktamlardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (21). Çoğu metisiline dirençli olmak üzere 44 *S.aureus* suşunun incelendiği bir çalışmada beta-laktamlar arasında en yüksek aktiviteyi penem derivelere gösterdiği belirtilmiştir (22). Çalışmamızda imipenem için elde ettiğimiz MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.12 ve 32 µg/ml şeklindedir. MDSA suşlarının 55'inin (% 90.2) imipeneme karşı MİK'i ≤ 4 µg/ml, bunların da 49'unun MİK'i < 0.50 µg/ml, 6'sının (% 9.8) ise ≥ 16 µg/ml olduğu saptandı. Jones'in (3) çeşitli çalışma sonuçlarını topladığı bir yayında imipeneme karşı MDSA'lar için MİK₅₀ değeri 0.08, MİK₉₀ değeri ise 0.09 µg/ml olarak belirtilmiştir. Barza (20) MDSA'ların aynı antibiyotiğe karşı MİK₉₀ değerini < 1 µg/ml olarak bildirmiştir. MDSA suşları için elde ettiğimiz sonuçlar ve MİK değerlerimiz diğer çalışmalarda uyumludur.

İmipenemin MRSA suşlarına karşı in vitro aktivitesini incelediğimizde % 45.3'ünün dirençli olduğunu, 21'inin (% 50) MİK değerini ≤ 4 µg/ml, 2'sinin (% 4.7) MİK değerinin > 4- < 16 µg/ml, 19'unun (% 45.3) ise ≥ 16 µg/ml olduğunu bulduk. Voss ve arkadaşları (12) MRSA'un % 52'sinin imipeneme dirençli olduğunu, Barza (23) MRSA'ların bu antibiyotiğe karşı MİK₉₀ değerinin 8-32/<1 µg/ml, Kahan ve arkadaşları (24) ise aynı mikroorganizmalar için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla 0.72 ve 4.70 µg/ml olduğunu bildirmiştir. Jones (25) çeşitli çalışmaların sonuçlarını karşılaştırmış ve MRSA'ların imipeneme karşı MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin 3.0 ve 27.2 µg/ml olarak bildirmiştir. Elde ettiğimiz MİK sonuçları diğer çalışmalarda uyumlu olup, MDSA'larınkinden daha yüksektir.

Sonuç olarak MRSA suşlarının % 50.0'sinin imipeneme, % 76.1'inin klaritromisine in vitro duyarlı olması nedeniyle bu suşların soyutulduğu infeksiyonların sağaltımında bu iki antibiyotikğin, antibiyotik duyarlılık testlerinden önce seçilebilecek ilk antibiyotikler olabileceği görüşündeyiz.

Kaynaklar

1. Neu HC. The development of macrolides: clarithromycin in perspective. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27 (Suppl A): 1-9
2. Anonymous. Bir ilaç değerlendirmesi: Klaritromisin. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 1992; 5: 629-37
3. Birnbaum J, Kahan FM, Kropp H, Macdonald JS. Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Discovery and development of imipenem/cilastatin. *Am J Med* 1985; 78: 3-21
4. Barry AL, Thornsberry C. Susceptibility tests: diffusion test procedures. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991: 1117-25
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. NCCLS Document M7-A3. Villanova, Pa: NCCLS, 1993: 13
6. Sahn DF, Washington II JA. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD,

- Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991: 1105-16
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 4th ed. Approved standard. NCCLS Document M2-A4. Villanova, Pa: NCCLS, 1990
 8. Kloos WE, Lambe DW Staphylococcus. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington DC. American Society for Microbiology, 1991: 222-37
 9. Deguchi K, Yokota N, Koguchi M, Suzuki Y, Suzuki K, Fukayama S, Ishihara R, Oda S, Tanaka S, Nakane Y. Antimicrobial activities of major oral antibacterial agents against clinically isolated microbial strains from outpatients with respiratory tract infection. *Jpn J Antibiot* 1992; 45: 980-9
 10. Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, Martone WJ. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 582-6
 11. Voss Machka K, Lenz W, Milatovic D. Incidence, frequency and resistance characteristics of methicillin-oxacillin resistant Staphylococcus aureus strains in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 1992; 117: 1907-12
 12. Schaeffer S, Jones D, Perry W, Ruvinskaya J. Emergence of gentamicin and methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in New York City Hospital. *J Clin Microbiol* 1981; 13: 754
 13. ESKİTÜRK A, SÖYLETİR G. A dilemma: infections in intensive care unit. In: *Infection Control: New Perspectives. International Federation of Infection Control and Turkish Microbiological Society Joint Meeting (7-9 October, 1993, İstanbul) Abstract Book*, 1993: 42-3
 14. Bakır M, Bakıcı MZ, Yalçın AN. Methicillin resistance of Staphylococci isolated from nosocomial infections. In: *Infection Control: New Perspectives. International Federation of Infection Control and Turkish Microbiological Society Joint Meeting (7-9 October, 1993, İstanbul) Abstract Book*, 1993: 60
 15. Logan MN, Ashby JP, Andrews JM, Wise R. The in-vitro and disk susceptibility testing of clarithromycin and its 14-hydroxy metabolite. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27 (Suppl A): 161-70
 16. Piscitelli SC, Danziger LH, Rodvold KA. Clarithromycin and azithromycin: new macrolide antibiotics. *Clin Pharm* 1992; 11: 137-52
 17. Anderson G. An in vitro evaluation of the cellular uptake and intraphagocytic bioactivity of clarithromycin (A-56 268, TE-031) a new macrolide antimicrobial agent. *J Antimicrob Chemother* 1988; 22: 923-33
 18. Loza E, Martinez BJ, Baquero F, Leon A, Canton R, Garjio B. Comparative in vitro activity of clarithromycin. Spanish collaborative group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 856-66
 19. Watanabe T, Kanno M, Tejima E, Orikasa Y. Effects of macrolides on ultrastructure of Staphylococcus aureus during postantibiotic phase. *Drugs Exp Clin Res* 1992; 81-8
 20. Fernandes FB, Swanson RN, Hardy DJ. Effect of dosing intervals on efficacy of clarithromycin and erythromycin in mouse infection models. *Drugs Under Exp Clin Dis* 1988; 14: 441-4
 21. Kropp H, Gerckens L, Sundelof JG, Kahan FM. Antibacterial activity of imipenem. The first thienamycin antibiotic. *Rev Infect Dis* 1985; 7: 389-408
 22. Wakebe H, Mitsuhashi S. Comparative in vitro activities of a new quinolone, OPC-17116, possessing potent activity against gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2185-91
 23. Barza M. Imipenem. First of a new class of beta lactam antibiotics. *Ann Intern Med* 1985; 103: 552-60
 24. Kahan FM, Kropp H, Sundelof JG, Birnbaum J. Thienamycin: development of imipenem-cilastatin. *J Antimicrob Chemother* 1983; 12: 1-35
 25. Jones RN. Review of the in vitro spectrum of activity of imipenem. *Am J Med* 1985; 78: 22-32