

# METİSİLİNE DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOK SUŞLARININ İN VİTRO LİNEZOLİD DUYARLILIĞI

## IN VITRO SUSCEPTIBILITY TO LINEZOLID IN METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND VANCOMYCIN-RESISTANT *ENTEROCOCCUS* STRAINS

Şirin EFE<sup>1</sup>, Melda SINIRTAŞ<sup>2</sup>, Cüneyt ÖZAKIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Özel Bahar Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Bursa. (sirinefe@yahoo.com.tr)

<sup>2</sup> Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

### ÖZET

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli enterokokların (VRE) neden olduğu enfeksiyonlar, dünyada giderek artan sıklıkta ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaya başlamıştır. MRSA ve VRE suşları da dahil olmak üzere gram-pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik etki gösteren linezolid, oksazolidinon grubunun klinik kullanıma giren ilk üyesidir. Bu çalışmada, MRSA ve VRE klinik izolatlarına karşı linezolidin in vitro aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 100 MRSA suşu (96 kan, 2 plevra sıvısı, 1 periton sıvısı, 1 eklem sıvısı izolatu) ile kolonizasyon veya enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 101 VRE (*Enterococcus faecium*) (79 rektal sürüntü, 11 kan, 3 kateter, 3 periton sıvısı, 3 idrar, 2 yara örneği izolatu) suşu dahil edilmiştir. İzolatların in vitro linezolid duyarlılıkları E-test yöntemi ile değerlendirilmiş ve tüm izolatların linezolidde duyarlı olduğu saptanmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) aralığı, MRSA suşlarında 0.25-3 µg/mL, VRE suşlarında ise 0.25-2 µg/mL olarak saptanmıştır. MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri, MRSA izolatları için sırasıyla 1.5 µg/mL ve 2 µg/mL; VRE izolatları için sırasıyla 0.75 µg/mL ve 1.5 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, yurt içi ve yurt dışı birçok çalışmadan elde edilen veriler ile uyumlu bulunmuş ve linezolidin dirençli gram-pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni bir seçenek olarak klinik kullanımda yerini alacağını vurgulamıştır.

**Anahtar sözcükler:** Metisiline dirençli *S.aureus*, vankomisine dirençli enterokok, linezolid, Türkiye.

### ABSTRACT

There has been a dramatic increase in the number of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE) worldwide. Linezolid which is one of the first oxazolidinones in clinical use, has bacteriostatic activity on gram-positive bacteria inclu-

ding MRSA and VRE. The aim of this study was to investigate the in vitro susceptibilities of MRSA and VRE clinical isolates to linezolid. A total of 100 MRSA strains isolated from clinical specimens as infectious agents (96 blood, 2 pleural fluid, 1 peritoneal fluid, 1 joint fluid isolates), and 101 VRE (*Enterococcus faecium*) strains isolated from clinical specimens as colonizing or infectious agents (79 rectal swabs, 11 blood, 3 catheter, 3 peritoneal fluid, 3 urine, 2 wound isolates) in Microbiology Laboratory of Uludag University Medical Faculty Hospital, Turkey, were included to the study. In vitro linezolid activity has been searched by E-test method and all of the isolates were found susceptible to linezolid. Linezolid minimal inhibitory concentration (MIC) ranged for MRSA and VRE between 0.25-3 µg/mL and 0.25-2 µg/mL, respectively. Linezolid MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values for MRSA were 1.5 µg/mL and 2 µg/mL, respectively, while for VRE these values were 0.75 µg/mL and 1.5 µg/mL, respectively. Our results were in parallel with the data of other national and international studies, emphasizing that linezolid is a new and effective choice in treatment of infections caused by resistant gram-positive bacteria.

**Key words:** Methicillin-resistant *S.aureus*, vancomycin-resistant enterococcus, linezolid, Turkey.

## GİRİŞ

Gerek toplum gerekse hastane kaynaklı enfeksiyonlarda etken olarak sıkça karşımıza çıkan gram-pozitif koklar, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen başlıca bakteriler arasındadır<sup>1</sup>. Gram-pozitif koklarda vankomisin direnci ise son yıllarda ciddi bir sorun haline gelmeye başlamıştır. Enterokoklarda ilk kez 1988 yılında bildirilen vankomisin direnci %1'lerden %18-20'lere yükselmiş; stafilokoklarda ise metisilin direncinin giderek artmasının yanı sıra, 1997 yılından itibaren vankomisine orta düzeyde (intermediate) duyarlı *Staphylococcus aureus* (VISA) ve vankomisine dirençli *S.aureus* (VRSA) izolatları rapor edilmeğe başlamıştır<sup>2-6</sup>.

Vankomisine dirençli suşların aynı zamanda diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olabilmesi, bu suşlarla gelişen enfeksiyonların insidansında artış görülmesi ve bu enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar yaşanması, araştırmacıları yeni antibiyotiklerin araştırılmasına yöneltmiştir. Linezolid, bu gereksinimleri karşılamak için son yıllarda geliştirilen yeni antibiyotiklerden birisidir. Oksazolidinon grubunun klinik kullanıma giren ilk üyesi olan linezolid, ribozomun 50S alt biriminde protein sentezinin erken basamağını inhibe ederek etki göstermektedir. Bu ilaç, metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) başta olmak üzere çoklu ilaç direnci gösteren stafilokoklar, vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) ve penisiline dirençli pnömokoklar dahil olmak üzere gram-pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik etkilidir<sup>7-9</sup>. Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA ve VRE suşlarına karşı in vitro linezolid aktivitesinin E-test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

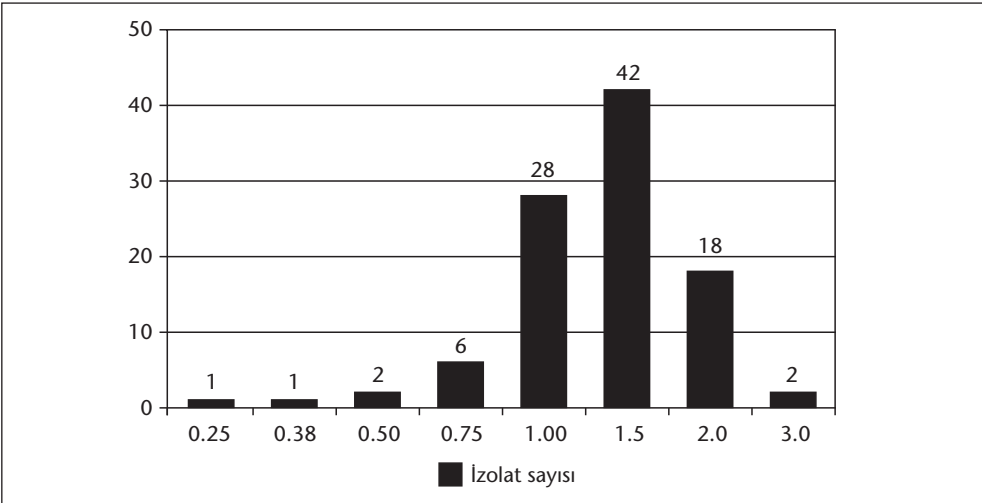
Çalışmaya, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden (79 rektal sürüntü, 11 kan, 3 kateter, 3 periton sıvısı, 3 idrar, 2 yara örneği) kolonizasyon olarak yorumlanan veya enfeksiyon etkeni olarak kabul edilen 101 VRE (*Enterococcus faecium*) suşu ile steril örneklerden (96 kan, 2 plevra sıvısı, 1 periton sıvısı, 1 eklem sıvısı) izole edilen 100 MRSA suşu dahil edildi.

*E.faecium* ve *S.aureus* suşları, Phoenix sistemi (BD, Sparks, MD, ABD) ile tanımlandı. *S.aureus* suşlarında metisilin direnci, Phoenix sistemi ile oksasilin ve sefoksitin duyarlılıklarına göre araştırıldı. VRE olarak tanımlanan enterokok suşlarının vankomisin ve teikoplanin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemiyle saptandı ve fenotipik direnç özellikleri değerlendirildi.

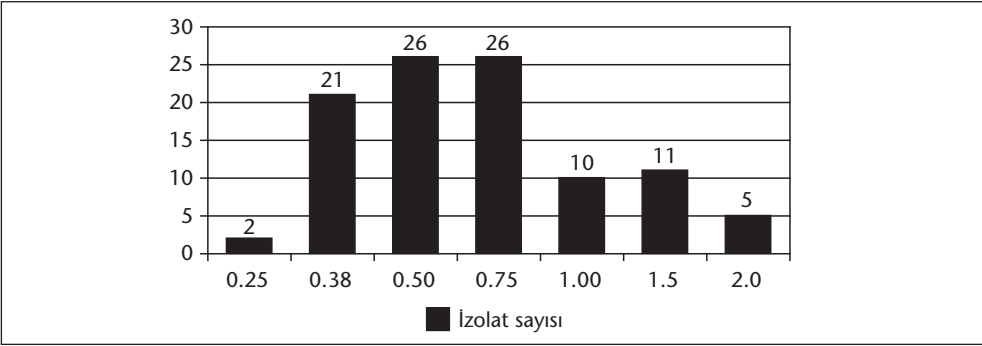
Linezolid MİK değerleri E-test yöntemiyle tespit edildi. Bu amaçla her bir suşa ait inokulum, Mueller Hinton II besiyeri (BD, BBL, Almanya) yüzeyine eküvyon ile düzgün bir şekilde yayılarak linezolid içeren E-test şeritleri plakların ortasına yerleştirildi. Sonuçların yorumlanmasında, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterleri esas alındı. Linezolid MİK değerinin *S.aureus* izolatlarında  $\leq 4$   $\mu\text{g/mL}$ ; *E.faecium* izolatlarında ise  $\leq 2$   $\mu\text{g/mL}$  olarak saptanması durumunda izolat duyarlı kabul edildi<sup>10</sup>.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan VRE suşlarının fenotipik direnç paternleri, E-test yöntemiyle elde edilen vankomisin ve teikoplanin MİK değerlerine göre Van A olarak yorumlanmıştır. MRSA ve VRE suşlarının tümü linezolide in vitro duyarlı olarak bulunmuştur. Linezolid için MİK aralığı MRSA suşlarında 0.25-3  $\mu\text{g/mL}$  ve VRE suşlarında 0.25-2  $\mu\text{g/mL}$  olarak saptanmıştır. Linezolid MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla; MRSA için 1.5  $\mu\text{g/mL}$  ve 2  $\mu\text{g/mL}$ , VRE için ise 0.75  $\mu\text{g/mL}$  ve 1.5  $\mu\text{g/mL}$  olarak belirlenmiştir. MRSA ve VRE izolatlarında saptanan linezolid MİK dağılımları sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. VRE suşlarının tümünün  $\leq 2$   $\mu\text{g/mL}$  düzeyinde, MRSA suşlarının tümünün ise  $\leq 3$   $\mu\text{g/mL}$  düzeyinde linezolid ile inhibe olduğu saptanmıştır.



Şekil 1. MRSA suşlarının in vitro linezolid duyarlılıkları (MİK dağılımı).



Şekil 2. VRE suşlarının in vitro linezolid duyarlılıkları (MİK dağılımı).

## TARTIŞMA

Çoklu ilaç direnci gösteren gram-pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçen ilaç olarak kullanılan glikopeptidlere karşı da direnç gelişiminin bildirilmesi, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi ve kullanılmasını gündeme getirmiştir. Yapılan çalışmalarda, dirençli gram-pozitif mikroorganizmalara karşı linezolid etkinliğinin yüksek olduğu rapor edilmektedir<sup>2,11-15</sup>. E-test yöntemi ile toplam 3945 gram-pozitif bakteriye karşı linezolid aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, tüm MRSA (n= 451) ve enterokok (n= 1589, 23'ü VRE) suşlarının linezolide duyarlı olduğu saptanmıştır<sup>12</sup>. Stefani ve arkadaşları<sup>13</sup> ise linezolid aktivitesini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlar; 426'sı MRSA, 200'ü *E.faecalis* ve 27'si *E.faecium* olmak üzere toplam 862 gram-pozitif bakteri izolatının tümünün linezolide duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde de gram-pozitif bakterilere karşı linezolid duyarlılığının farklı yöntemlerle araştırıldığı çalışmalar mevcuttur<sup>11,15-17</sup>. Tünger ve arkadaşları<sup>11</sup>, E-test yöntemiyle yaptıkları çalışmada 332 gram-pozitif bakterinin tümünün (127 MRSA, 109 metisiline dirençli koagülaz negatif stafillokok, 96 van A genotipli VRE); Baysallar ve arkadaşları<sup>2</sup> E-test yöntemiyle 93 gram-pozitif bakterinin tümünün (38 MRSA, 55 VRE izolatı); Dilek ve arkadaşları<sup>16</sup> ise disk difüzyon yöntemiyle çalıştıkları izolatların tümünün (50 MRSA, 50 enterokok) linezolide duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da, tüm bu araştırmacıların verileri ile uyumlu olarak MRSA ve VRE suşlarının tümü E-test yöntemiyle linezolide duyarlı olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda linezolid MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla; MRSA'da 1.5 µg/mL ve 2 µg/mL, VRE'de ise 0.75 µg/mL ve 1.5 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Noskin ve arkadaşlarının<sup>12</sup> yaptıkları çalışmada, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri her iki etken için de sırasıyla 2 µg/mL ve 4 µg/mL olarak saptanmıştır. Stefani ve arkadaşlarının<sup>13</sup> çalışmasında ise MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri MRSA izolatlarında 2 µg/mL ve 4 µg/mL, VRE izolatlarında ise 2 µg/mL olarak belirlenmiştir. Tünger ve arkadaşları<sup>11</sup>, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerini MRSA izolatlarında 2 µg/mL ve 4 µg/mL, VRE izolatlarında da 1.5 µg/mL ve 2 µg/mL olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda elde edilen linezolid MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerinin, diğer çalışmalarda bildirilen değerlerden daha düşük olduğu izlenmektedir.

Sonuç olarak; Türkiye’de klinik kullanıma yeni girmiş bir antibakteriyel ilaç olan linezolidin, diğer antibiyotiklere dirençli gram-pozitif bakterilere karşı in vitro olarak oldukça etkin olduğu görülmektedir. Mevcut veriler linezolidin, dirençli gram-pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde yeni bir seçenek olarak klinik kullanımda yerini alacağını desteklemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji, s: 9-22. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed), Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. 2004. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
2. Baysallar M, Kılıç A, Aydoğan H, Çilli F, Doğanç 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: 510-2.
3. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 135-6.
4. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-United States, 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 765-6.
5. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 327-32.
6. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu, s: 141-58. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed), Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. 2004. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
7. Livermore DM. Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 (Suppl 2): ii9-16.
8. Moellering RC. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. *Ann Intern Med* 2003; 138: 135-42.
9. Bozdoğan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23: 113-9.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Sixteenth Informational Supplement, M100-S16. 2006. CLSI, Wayne, PA.
11. Tünger A, Aydemir S, Uluer S, Cilli F. In vitro activity of linezolid & quinupristin/dalfopristin against Gram-positive cocci. *Indian J Med Res* 2004; 120: 546-52.
12. Noskin GA, Siddiqui F, Stosor V, Hacak D, Peterson LR. In vitro activities of linezolid against important gram positive bacterial pathogens including vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2059-62.
13. Stefani S, Mezzatesta ML, Tempera G, et al. Comparative activity of linezolid against staphylococci and enterococci isolated in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 368-72.
14. Wilson AP, Cepeda JA, Hayman S, Whitehouse T, Singer M, Bellingan G. In vitro susceptibility of Gram-positive pathogens to linezolid and teicoplanin and effect on outcome in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 470-3.
15. Dizbay M, Sipahi AB, Günal Ö ve ark. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında glikopeptid ve linezolid direncinin araştırılması. *ANKEM* 2007; 21: 23-6.
16. Dilek AR, Yıldız F, Dilek N, Bulut Y, Toraman ZA. Linezolidin MRSA ve *Enterococcus* spp. suşlarına in vitro etkinliği. *ANKEM* 2007; 21: 211-3.
17. Kanan B, Akşit F, Kiremitçi A. Gram pozitif koklara karşı linezolidin in vitro aktivitesinin değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006; 36: 25-30.