

Hastane Kökenli Stafilokoklarda Vankomisin ve Teikoplanin Toleransı

Dr. Gül DURMAZ*, **Dr. Dilek YILDIRIM****,
Dr. Aydın AYDINLI*, **Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ***,
Dr. Yurdanur AKGÜN*

* *Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,*

** *Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir.*

ÖZET

Nozokomiyal bakteremili hastaların kan örneklerinden soyutlanan 80 stafilokok suşunun vankomisin ve teikoplanin toleransları araştırıldı. 30 *S. aureus* suşunun 1'inde, 50 koagülaz negatif stafilokok (KNS) suşunun 4'ünde teikoplanine direnç gözlemlendi. *S. aureus* suşlarında vankomisin direnci ve toleransı saptanmadı. Ancak bu suşların 14/29'unda teikoplanin toleransı gözlemlendi. KNS'ların 11/50'sinde vankomisin, 2/46'sında teikoplanin toleransı saptandı. Slime yapımı ile tolerans arasında ilişki bulunamadı ($\chi^2=0.27$, $p > 0.05$). Bu bulgular glikopeptidlerin kullanıldığı ciddi stafilokokal infeksiyonlarda hastaların klinik ve mikrobiyolojik takibinin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Vankomisin, Teikoplanin, Tolerans, Stafilokok

SUMMARY

Tolerance to Vancomycin and Teicoplanin in Staphylococci of Hospital Origin

Tolerance to vancomycin and teicoplanin was investigated in 80 staphylococcus strains isolated from blood samples in patients with nosocomial bacteremia. The resistance to teicoplanin was seen in one of the 30 *S.*

aureus strains and 4 of the 50 coagulase negative staphylococci (CNS). Tolerance and resistance to vancomycin were not detected in any *S.aureus* strains. Whereas tolerance to teicoplanin was seen in 14 of the 30 *S. aureus* strains. Eleven tolerant strains to vancomycin and two tolerant strains to teicoplanin were detected among strains of CNS. No correlation was found between slime production and tolerance ($\chi^2=0.27$, $p > 0.05$). These results emphasize the importance of clinical and microbiological monitoring of patients with severe staphylococcal infections when glycopeptides are used for treatment.

Key Words: Vancomycin, Teicoplanin, Tolerance, Staphylococci.

GİRİŞ

Stafilokokal infeksiyonlar yüksek mortalite hızları nedeniyle klinisyenler için önemli bir sorun olmaya devam etmektedirler. Hızlı antibiyotik direnci gelişmesi terapötik yaklaşımları ciddi olarak sınırlandırmaktadır. Vankomisin ve teikoplanin metisilin dirençli stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan glikopeptid antibiyotiklerdir. Vankomisin 1982'den sonra klinik kullanımı yoğunlaşmıştır. İlk olarak 1978'de tanımlanan teikoplanin ise 1984'den bu yana klinik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu iki antibiyotik yapılı, antimikrobiyal aktiviteleri ve klinik iyileşme hızları benzerdir (1,2).

Günümüzde nozokomiyal kökenli stafilokokal infeksiyonların tedavisi bazen başarısızlıkla

sonuçlanabilmektedir. Denny ve arkadaşları antistafilokokal tedavinin başarısızlığında tolerans gelişiminin önemli bir faktör olduğuna dikkati çekmişlerdir (3). Tolerans mikroorganizmanın minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde değişme olmaksızın yalnızca antimikrobik ajanın letal etkisinden kurtulmayı başarabilmesi olarak tanımlanmaktadır (4).

Bu çalışmada nozokomiyal bakteremi tanısı almış hastaların kan kültürlerinden soyutlanmış stafilkok suşlarında vankomisin ve teikoplanin toleransları ayrıca koagülaz negatif stafilkok (KNS)'larda slime yapımı ve tolerans arasındaki ilişki araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Bakteriler: Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi yoğun bakım ünitelerinde yatan, çoğunda kalıcı kateter uygulanan ve nozokomiyal bakteremi tanısı almış hastaların kan örneklerinden izole edilen *S. aureus* ve KNS'ler çalışma kapsamına alındı. Kanlı agarda koloni morfolojileri, mikroskopik görünüşleri, katalaz ve koagülaz testleri ile identifikasyonu yapılan suşların Brain-Heart infüzyon agar içeren tüplere pasajları yapılarak +4°C'de saklandı. Pasajlar 15 günde bir yenilendi.

Toleransın saptanması: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) standartlarına uygun olarak mikrobrot dilüsyon yöntemiyle teikoplanin ve vankomisin MİK değerleri belirlendi. Vankomisin için ≤ 4 MİK değerleri duyarlı ≥ 32 dirençli, teikoplanin için ≤ 8 duyarlı, ≥ 32 dirençli olarak yorumlandı (4). Vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunan tüm suşlarda vankomisin ve teikoplanin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri araştırıldı. Her suş için MİK ve MBK deneyleri ikişer kez yapıldı. Kalite kontrol suşları olarak *S. aureus* ATCC 33862 ve *S. sciuri* ATCC 29062 suşları kullanıldı.

Her suş için üremenin görülmediği tüm çukurculardan ve antibiyotik içermeyen kontrol çukurcuğundan kanlı agara pasaj yapılarak 24 saat 35°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her pasajdan koloni sayımı yapıldı. Kontrol çukurcuğu ile karşılaştırıldığında üremenin %99.9 azalma gösterdiği dilüsyon MBK değeri olarak belirlendi. MBK/MİK oranı 32 ve üzerinde bulunan suşlar toleran kabul edildi (4).

Metisilin direncinin tespiti: 5 µg metisilin içeren diskler (Oxoid) kullanılarak disk difüzyon

yöntemi uygulandı. ≤ 9 mm zon çapları dirençli, 10-13 mm orta derecede duyarlı, ≤ 14 mm duyarlı olarak değerlendirildi (5).

Slime faktör tespiti: Vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunan KNS suşlarında slime faktör yapımı kongo kırmızılı agar yöntemiyle araştırıldı (6).

İstatistiksel değerlendirme: Suşların MİK ve MBK ortalamalarının değerlendirilmesinde bağımlı örneklerde *t testi*, slime yapımı ve tolerans arasındaki ilişkinin saptanmasında *Yates düzeltilmiş $\chi^2 testi$* uygulandı.

BULGULAR

Yoğun bakım ünitelerinde yatan, çoğu kateterize edilen ve nozokomiyal bakteremi tanısı almış hastalardan alınan kan örneklerinden 50'si KNS ve 30'u *S. aureus* olmak üzere toplam 80 stafilkok suşu izole edildi. 30 *S. aureus* suşunun 10'u, 50 KNS suşunun 9'u metisiline duyarlı bulundu. Stafilkok suşlarının hiçbirinde vankomisin direnci saptanmadı. Metisilin rezistan *S. aureus* (MRSA) suşlarının birinde teikoplanin direnci gözlemlendi. Metisilin duyarlı KNS suşlarında teikoplanin direnci saptanmazken, metisilin dirençli KNS suşlarının 4'ü teikoplanine dirençli bulundu (Tablo 1).

KNS'lerde teikoplanin MİK ortalama değerleri, *S. aureus* suşlarında da MBK ortalama değerleri, vankomisin MİK ve MBK değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 2,3).

S. aureus suşlarında vankomisin toleransı gözlenmezken, 14/29 suşta teikoplanine tolerans saptandı. KNS'lerde 11/50 suşun vankomisine, 2/46 suşun da teikoplanine toleran olduğu belirlendi (Tablo 4). Suşların hiçbirinde hem vankomisin hem de teikoplanin toleransı birlikte saptanmadı.

Vankomisine toleran metisilin dirençli koagülaz negatif stafilkok (MRKNS) suşları ve teikoplanine toleran *S. aureus* suşlarının MBK ortalamaları toleran olmayanlara göre belirgin olarak yüksek bulundu. *S. aureus* ve MRKNS suşları arasında toleran ve toleran olmayan suşların MİK ortalama değerleri belirgin bir farklılık göstermedi (Tablo 5,6).

İkisi vankomisine, biri teikoplanine toleran 9 KNS suşunda slime faktör pozitifliği saptandı. Slime yapımı ile tolerans arasında ilişki bulunmadı (Tablo 7) ($\chi^2 = 0.27$, $p > 0.05$).

Tablo 1. Teikoplanin ve Vankomisin MİK Değerlerinin Dağılımı.

MİK(mg/L)	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	128↑
MRSA(n:20)											
Vankomisin	-	-	-	1	19	-	-	-	-	-	-
Teikoplanin	-	2	-	1	14	2	-	1	-	-	-
MSSA(n:10)											
Vankomisin	-	-	-	2	8	-	-	-	-	-	-
Teikoplanin	-	2	2	5	1	-	-	-	-	-	-
MRKNS(n:41)											
Vankomisin	1	3	12	17	8	-	-	-	-	-	-
Teikoplanin	-	1	3	4	9	6	14	2	1	1	-
MSKNS(n:9)											
Vankomisin	-	1	6	2	-	-	-	-	-	-	-
Teikoplanin	-	1	-	-	-	3	5	-	-	-	-
MSSA : Metisilin duyarlı <i>S. aureus</i>			MRKNS: Metisilin rezistan KNS				MSKNS: Metisilin duyarlı KNS				

Tablo 2. MİK Ortalama (mg/L) ve Standart Hata Değerleri (MİK ortalama ± SE).

	MRKNS	MSKNS	MRSA	MSSA
Vankomisin	1.97 ± 0.18	1.06 ± 0.12	3.9 ± 0.01	3.6 ± 0.25
Teikoplanin	13.99 ± 3.33	7.83 ± 1.71	5.35 ± 1.42	1.7 ± 0.31
t	3.61	3.78	1.001	4.48
p	< 0.001	< 0.01	> 0.05	< 0.001

Tablo 3. MBK Ortalama(mg/L) ve Standart Hata Değerleri (MBK ortalama ± SE).

	MRKNS	MSKNS	MRSA	MSSA
Vankomisin	22.93 ± 4.79	23.61 ± 13.86	7.8 ± 1.40	9.60 ± 2.83
Teikoplanin	32.79 ± 5.73	44.5 ± 15.99	77.80 ± 10.85	30.0 ± 7.36
t	0.99	1.035	6.66	3.87
p	> 0.05	> 0.05	< 0.001	< 0.01

Tablo 4. Toleran Stafilocok Suşlarının Dağılımı.

	MRSA	MSSA	MRKNS	MSKNS
Vankomisine toleran suş sayısı	-(n:20)	-(n:10)	9(n:41)	2(n:9)
Teikoplanine toleran suş sayısı	10(n:19)	4(n:10)	1(n:37)	1(n:9)

Tablo 5. Toleran ve Toleran Olmayan *S. aureus* Suşlarında Teikoplanin MİK ve MBK Ortalama Değerleri.

		MİK (mg/L) ± SE	MBK (mg/L) ± SE
MRSA	toleran (n:10)	3.3 ± 0.35	112 ± 10.38
	toleran olmayan (n:9)	7.4 ± 2.66	43.6 ± 11.36
	t	1.53	4.45
	p	> 0.05	< 0.001
MSSA	toleran (n:4)	1.25 ± 1.37	52 ± 10.39
	toleran olmayan (n:6)	2 ± 0.41	15.33 ± 3.58
	t	0.55	3.34
	p	> 0.05	< 0.01

Tablo 6. Toleran ve Toleran Olmayan MRKNS Suşlarında Vankomisin MİK ve MBK Ortalama Değerleri.

	MİK (mg/L) ± SE	MBK (mg/L) ± SE
toleran (n:9)	1.42 ± 0.23	67.56 ± 7.86
toleran olmayan(n:32)	2.37 ± 0.32	10.37 ± 3.21
t	2.45	6.73
p	< 0.05	< 0.001

Tablo 7. Toleran ve Toleran Olmayan KNS Suşlarının Slime Faktör Pozitifliği (n:46).

	Toleran olmayan suş sayısı	Vankomisin toleran suş sayısı	Teikoplanin toleran suş sayısı
Slime faktör (+)	6	2	1
Slime faktör (-)	27	9	1

TARTIŞMA

Antibakteriyel tedavideki avantajlara rağmen ciddi stafillokokal enfeksiyonlar önemli bir klinik problemidir. Penisilin rezistansı yaygındır. Metisiline dirençli stafillokoklar pek çok hastanede güç başedilir nozokomiyal patojenler arasındadır. İntravasküler araçların geniş çapta kullanımı sonucu ABD'de yılda 24.000 hastada katetere bağlı septisemi oluşmaktadır. Stafillokoklar özellikle de KNS'ler intravasküler kateter enfeksiyonlarının dominant etkenidirler. Enfeksiyonun tanısını takiben kateter çıkarılmalı ve parenteral antistafillokokal tedaviye başlanmalıdır. Septisemide 2 haftalık, septisemiye bağlı endokardit veya metastatik enfeksiyon gelişmişse 6 hafta ve üzerinde antistafillokokal tedavi uygulanmalıdır (1).

Metisilin dirençli *S. aureus* suşları sıklıkla beta-laktamlara, linkozamidlere ve aminoglikozid-

lere dirençlidir. Bu bakterilerle oluşan enfeksiyonlarda ilk düşünülen antistafillokokal ajan vankomisinidir. MRSA enfeksiyonlarında vankomisin tedavisiyle klinik iyileşme, MSSA enfeksiyonlarında penisilinaz stabil penisilin veya sefalosporinlerle tedavideki klinik iyileşmeyle benzerdir (1).

MSSA enfeksiyonlarında diğer ajanlar etkinse vankomisin kullanımından kaçınılmalıdır. Teikoplanin vankomisine benzer aktivite spektrumuna sahip bir glikopeptiddir. Uzun yarı ömrü, yan etkilerinin azlığı ve olumlu farmakokinetik özellikleriyle vankomisine alternatif olarak gösterilmektedir (2).

Glikopeptidlerle ciddi stafillokokal enfeksiyonların tedavisi klinik ve bakteriyolojik başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Vankomisinle oluşan tedavi başarısızlığında suşların otolizinin-

deki defektlere ve KNS'lerde slime faktöre bağlı olarak tolerans gelişmesi sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca son yıllarda Almanya, İngiltere ve İtalya'da %0.3-0.5; Fransa, Singapur ve Tayland'da %0.1-1 arasında vankomisin dirençli *S. epidermidis* suşlarının varlığı rapor edilmektedir (7). *S. aureus* ve KNS'lerde teikoplanin direnci tanımlanmıştır. İntrinsik teikoplanin direnci KNS'ler arasında daha yaygındır. Tolerans ve direnç dışında tedavideki başarısızlık bakteriyel süperinfeksiyonlar nedeniyle de olabilmektedir (2,8-10).

Glikopeptid direnci veya toleransı durumunda yeni streptogramin antibiyotik olan pristina-misin (RP 59500) tercihi gündemdedir. Ancak bu ajanla yeterli klinik sonuçlar elde edilmemiştir (1).

Çalışmamızda izole ettiğimiz stafilokok suşlarından hiçbirinde vankomisin direncine rastlanmamıştır. *S. aureus* suşlarında vankomisin toleransı gözlenmemiş, ancak bu suşlarda yüksek oranda teikoplanin toleransı saptanmıştır. Bu oranlar MRSA için %52.6 (10/19), MSSA için %40 (4/10) ve toplamda %48.2 (14/29) olarak belirlenmiştir. Ayrıca MRSA suşlarından biri de teikoplanine dirençli bulunmuştur. *S. aureus*'da vankomisin toleransı *S. aureus* septisemisi olan çocuklarda %50 olarak bildirilmiştir (11). *S. aureus* suşlarında vankomisin toleransında lizojenik konversiyonun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da 15 *S. aureus* suşunun 8'inde vankomisin toleransı saptanmıştır (12). İn vitro olarak *S. aureus* suşlarında birkaç siklus vankomisine maruz bırakılan 4 suşun 2'sinde vankomisin toleransı geliştiği gösterilmiştir (13). Salman ve arkadaşları 50 MRSA suşunun 4'ünde yüksek, 4'ünde de düşük düzeyde vankomisin toleransı bildirmişlerdir (14). Gedik ve arkadaşlarının çalışmasında ise 46 MRSA suşunda vankomisin toleransı saptanmıştır (15).

Çalışmamızda 50 KNS suşunun 41 tanesi MRKNS olup, 9 tanesi de MSKNS özelliğinde bulunmuştur. Hiçbirinde vankomisin direnci saptanmazken MRKNS'lerin %21.9'unda (9/41), MSKNS'lerin %22.2'sinde (2/9) ve toplamda %22 oranında (11/50) vankomisin toleransı saptanmıştır. 50 KNS suşunun %8'i (4/50) teikoplanine dirençli olup, hepsi MRKNS özelliğinde olanlardır. 2 KNS suşu ise teikoplanine toleran olup, 1'i MRKNS diğeri ise MSKNS suşudur. Ayrıca slime faktör yapımı ve tolerans arasında ilişki bulunmamıştır ($\chi^2=0.27$, $p > 0.05$). Vasküler kataterler-

den izole edilen 134 *S. epidermidis* suşunda vankomisin toleransı %93 olarak bildirilmektedir (16). Deneysel olarak *S. aureus* endokarditi oluşturulan sıçanlarda vankomisin ve teikoplanin toleransının klinik sonucu etkilediğine dair bir bulgu elde edilmemiştir (17). Glikopeptidlerle stafilokokal septisemi tedavisi sırasında non toleran-toleran konversiyonu gelişebileceği düşünülebilmekte ve hastaların klinik ve mikrobiyolojik olarak monitörizasyonunun gerekliliği vurgulanmaktadır (18).

Glikopeptidlere direnç gelişimini önlemek için bu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımı kısıtlanmalıdır, eğer suşlar diğer ajanlara duyarlı bulunmuş ise glikopeptid kullanımından kesinlikle kaçınılmalıdır. Elde ettiğimiz veriler KNS suşlarında vankomisin ve *S. aureus* suşlarında teikoplanin toleransının gözardı edilemez boyutlarda olduğunu göstermektedir. Bu nedenle özellikle ciddi stafilokokal infeksiyonlarda tedavi öncesinde ve tedavi sırasında klinik takibin yanı sıra bu ajanların MİK ve MBK düzeylerinin takibinin zorunluluğu gündeme gelmelidir.

KAYNAKLAR

1. Graninger W, Wenisch C, Hasenhüdl M. Treatment of staphylococcal infections. In: Andriole VT, Finch RG (eds). Current Opinion in Infectious Diseases, Current Science, Vol 8, Suppl 1, 1995:20-8.
2. Çetinkaya Y, Ünal S. Glikopeptid Antibiyotikler. Flora 1997;2:Ek 1:3-14.
3. Denny AE, Peterson LR, Gerding DN, Hall WH. Serious staphylococcal infections with strains tolerant to bactericidal antibiotics. Arch Intern Med 1979;139:1026-31.
4. Stratton CW, Cooksey RC. Susceptibility Tests: Special Tests. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1991: 1153-9.
5. Amsterdam D. Susceptibility Testing of Antimicrobials in Liquid Media. In: Lorian V (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine Fourth Edition, Williams & Wilkins, New York, 1996:52-111.
6. Freeman DJ, Falkiner FR, Reene CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. J Clin Pathol 1989;42:7.
7. Wiedemann B, Grimm H. Susceptibility to Antibiotics: Species Incidence and Trends. In: Lorian V (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine, Fourth Edition, Williams & Wilkins, New York. 1996:1162-3.
8. Goldstein FW, Coutrot A, Sieffer A, Acar JF. Percentages and distributions of teicoplanin and vancomycin resistant strains. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:899-900.

9. Klustersky J, Coppens L, von der Auwera P, Meunier Carpentier F. Vancomycin therapy of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. J Antimicrob Chemother 1983;11:361-7.
10. Cercenado E, Garcia-Leoni ME, Diaz MD et al. Emergence of teicoplanin resistant coagulase negative staphylococci. J Clin Microbiol 1996; 34:1765-8.
11. Reis AG, Eisenkraft AP, Ejzenberg B et al. *Staphylococcus aureus* septicemia in children: bacterial tolerance to vancomycin and serum bactericidal activity. Rev Assoc Med Bras 1995;41:47-52.
12. Mlynarczyk G, Mlynarczyk A, Zabicka D et al. Lysogenic conversion as a factor influencing tolerance to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. Med Dosw Microbiol 1997;49:13-7.
13. Worn GP, Thompson J, Goessens WH et al. In vitro development and stability of tolerance to cloxacillin and vancomycin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13:741-6.
14. Salman Z, Töreci K. Antibiotic tolerance for ceftriaxone, cefotaxime, cefoperazone, cefazolin and vancomycin in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Ankem Derg 1992;6:1.
15. Gedik H, Benzonana N, Taşer B, Kul Y, Özer S. Homojen MRSA suşlarında vankomisin toleransı. Ankem Derg 1998;12:81-5.
16. Khardori N, Yassien M, Wilson K. Tolerance of *Staphylococcus epidermidis* grown from indwelling vascular catheters to antimicrobial agents. J Ind Microbiol 1995;15:148-1.
17. Worn GP, Kuyuenhoven J, Goessens WH et al. Role of tolerance in treatment and prophylaxis of experimental *Staphylococcus aureus* endocarditis with vancomycin, teicoplanin and daptomycin. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:487-93.
18. Brunet F, Vedal G, Dreyfus F et al. Failure of teicoplanin therapy in two neutropenic patients with staphylococcal septicemia who recovered after administration of vancomycin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:145-7

YAZIŞMA ADRESİ:

Doç. Dr. Gül DURMAZ

Osmangazi Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ESKİŞEHİR

14. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) KONGRESİ

31 Mayıs - 4 Haziran 1999

Merit Limra Hotel

Le Jardin Rosert Hotel

Kiriş - Kemer

Naturland Aqua Resort Hotel

Camyuva - Kemer

Başvuru:

SymCon TURİZM TİCARET LTD. ŞTİ.

Şemsettin Günaltay Cad. Osmanlı Sitesi No: 213, K: 2, D: 13

81080 Erenköy-İSTANBUL

Tel: 0216. 478 40 40 pbx Faks: 0216. 478 40 50