



Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (SAPD) Uygulanan Hastaların Nazal Örneklerinden İzole Edilen Stafilocoklarda Slime Oluşumu, Mupirosin ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması

Selma Ay*, Rukiye Aylaz**, Mehmet Sait Tekerekoğlu*

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

**İnönü Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Malatya

Bu çalışmanın amacı; sürekli periton diyalizi tedavisi alan hastaların nazal kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve koagulaz negatif stafilocoklarda (KNS) slime oluşumunu ve mupirosin ile diğer antibiyotiklere duyarlılıklarını araştırmaktır. Çalışma; Aralık 2007-Nisan 2008 tarihleri arasında, Malatya'da İnönü Üniversitesi Tıp Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Nazal stafilocok taşıyıcılığını belirlemek için, SAPD uygulayan 72 hastadan nazal kültürler alındı. Nazal kültür yapılan hastaların 51(%70.8)'inde stafilocok türleri üredi. Stafilocok üreyen 51 örneğin 45 (%76.2)'i KNS, 14 (%23.7)'ü *S. aureus* olarak tanımlandı. Metisilin direnci KNS için %93, *S. aureus* için %50 olarak saptandı. Ondokuz örnekte slime pozitif bulundu. Beş izolat mupirosin'e dirençli bulundu. Hem slime pozitif hem de metisiline dirençli olan örneklerde antibiyotiklere çoklu direnç bulunduğu saptandı. Sürekli periton diyalizi yapılan hastalarda nazal stafilocok taşıyıcılığının belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması, bu mikroorganizma enfeksiyonlarının önlenmesinde faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Stafilocok Taşıyıcılığı, Slime, Antibiyotik Direnci

Slime Production, Mupirocin and other Antibiotics Susceptibilities in Staphylococci Isolated from Nasal Samples in Patients Receiving Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD)

The aim of this study was to determine the prevalence of slime producing and to determine the mupirocin and other antibiotic susceptibilities of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and Coagulase negative staphylococci (CNS) strains isolated from nasal samples of patients on CAPD. This study was conducted at the İnönü University Medical Center, Microbiology Laboratory, Malatya, Turkey, between December 2007 and April 2008. Nasal swab cultures were taken from 72 CAPD patients to establish the prevalence of nasal staphylococci carriage. Fifty-one (70.8%) nasal culture were positive for staphylococci species. Between them 45 (76.2%) strains were identified as CNS and 14 (23.7%) strains were identified as *S. aureus*. Nineteen cultures were slime positive. The methicillin resistance rate for CNS strains was detected as 93% and *S. aureus* strains was detected as 50%. Five of the staphylococci strains were resistant to mupirocin. Resistance to multiple antibiotics was detected in both the slime producing and methicillin resistant staphylococci. Detection of staphylococci nasal carriage in CAPD patients and to get all precautions may be useful to prevent the infections with these microorganisms.

Key Words: Staphylococcus Carriage, Slime, Antibiotic Resistance

Hemodiyaliz veya periton diyalizi tedavisi gören hastalarda kateterle ilişkili bakteremi, kateter enfeksiyonları ve peritonit nedeni olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve koagulaz negatif stafilocoklar (KNS) sorumlu tutulmaktadır. Anterior nazal bölgenin ve kateter çıkış

yerindeki stafilocokların, enfeksiyonlar için önemli bir kaynak olduğu bildirilmiştir.¹⁻³ Bu bölgelere profilaksi amacı ile mupirosin uygulanmasının, kateter çıkış yeri enfeksiyonlarını ve peritoniti önemli ölçüde azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{4,5} Bazı stafilocok türleri için slime oluşturma en önemli virülans faktörleri arasında yer alır. Slime, bakteri tarafından oluşturulup hücre dışına salınan mukoid yapıda bir maddedir. Slime

Başvuru Tarihi: 09.03.2010, Kabul Tarihi: 29.03.2010

oluşturan bakterilerin antibiyotiklere daha dirençli oldukları ve vücuttan temizlenmesinin zor olduğu gösterilmiştir.^{6,7} Bu çalışma, hastanemizde SAPD tedavisi alan hastalarda nazal stafilokok taşıyıcılığı oranı, slime üretimi, mupirosin ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Aralık 2007-Nisan 2008 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesinde, SAPD tedavisi gören 72 hasta (39'u erkek, 33'ü kadın) incelenmeye alındı. Hastaların yaşı 18-73 arasında değişmekteydi. Rutin kontrollerine gelen hastalardan burun kültürleri kuru, steril eküvyon yardımı ile her iki burun deliğinden alınıp, %5 koyun kanlı agar tek koloni ekimi yapılarak 35 C' de 24 saat inkübe edildi.⁶ İnkübasyon sonunda koloni görünümü, Gram boyama, koagülaz, kümeleşme faktörü ve API Staph reagent kit (Biomerieux, France) yardımı ile *S. aureus* veya KNS olarak tanımlandı. Slime oluşumu Christensen's yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla kanlı pakta üremiş olan kolonilerden bir öze dolusu alınarak içinde 5 mL tryptic soy broth (Fluka BioChemika, Germany) bulunan cam tüp içine aktarılıp 37°C de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüp içeriği yavaşça dökülerek % 0.25 safranin-O solüsyonu (Merck,Germany) ile boyandı. Film oluşturmamayanlar slime negatif olarak kabul edildi. Testin kontrolü slime oluşturmamayan *S. aureus* ATCC 25923 ile yapıldı.^{6,8}

Gentamisin, eritromisin, klindamisin, siprofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol, vankomisin ve teikoplanin direnci standardize disk-difüzyon testi ile Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda yapıldı. Metisilin direnci oksasilin agar tarama testi ile araştırıldı.⁹ Mupirosin direncini belirlemek için 5 mikrogram mupirosin içeren diskler (Oxoid, England) kullanıldı. Düşük ve yüksek seviyede mupirosin direncini saptamak için minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) belirlendi. Bu amaçla

mupirosin'in (SmithKline, Beecham) seri dilüsyonları 0.12-1024 µg/mL olacak şekilde distile su ile hazırlandı. MIC'i belirlenecek örneklerle birlikte 35°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda MIC değeri ≤ 2 µg/mL ise duyarlı, 2-256 µg/mL arasında ise düşük düzey dirençli ve ≥256 µg/mL üzerinde ise yüksek düzey dirençli olarak değerlendirildi.¹⁰

Bulgular

SAPD tedavisi gören 72 hastanın 51'inde stafilokok türleri üredi. Elli bir hastanın 4'ünde KNS ve *S. aureus* birlikte üredi. Buna göre 51 hastadan izole edilen örnek sayısı 59 olarak belirlendi. İzole edilen 59 örneğin 45 (%76.2)'inin KNS, 14 (%23.7) ünün *S. aureus* olduğu saptandı. Metisilin direnci KNS 'larda %93, *S. aureus* 'larda %50 olarak bulundu. Örneklerin 19 (%32,2)'unun slime oluşturduğu belirlendi. Beş örneğin (2MRSA ve 3MRKNS) mupirosin'e dirençli olduğu, 2 MRSA ve 2 MRKNS örneğinde düşük düzey mupirosin direnci , bir MRKNS örneğinde yüksek düzey mupirosin direnci olduğu belirlendi. Slime pozitif ve negatif örneklerin çeşitli antibiyotiklere direnç durumları Tablo'da gösterilmiştir.

Tartışma

Stafilokoklar derinin normal florasında yer alan mikroorganizmalardır. Diabetes mellitus, kronik hemodiyaliz hastaları ve SAPD tedavisi altındaki hastalarda stafilokok burun taşıyıcılığı oranının yüksek olduğu bildirilmiştir. Burun stafilokok taşıyıcılığı, enfeksiyonların epidemiyolojisi ve patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Bu mikroorganizmalar el ve parmaklar aracılığı ile vücudun başka bölgelerine de taşınmaktadır. Kateterle ilişkili bakteremi, peritonit ve kateter çıkış yeri enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen iki bakteri grubu MRSA ve KNS'lardır.^{1-3,11,12} Akman ve arkadaşları SAPD uygulayan hastalarda en sık peritonit etkeni olarak KNS'ları (%20.6) bildirmişlerdir.¹ Lederer;

Tablo. Slime üreten ve üretmeyen stafilokokların antibiyotiklere direnç durumları.

Antibiyotik	Slime üreten		Slime üretmeyen	
	KNS (n=16) R sayısı (%)	<i>S. aureus</i> (n=3) R sayısı (%)	KNS (n=29) R sayısı (%)	<i>S. aureus</i> (n=11) R sayısı (%)
Metisilin	13 (81.25)	3 (100)	29 (100)	6 (54)
Gentamisin	8 (50)	3 (100)	8 (27,5)	0
Eritromisin	10 (62.5)	3 (100)	12 (41)	0
Klindamisin	10 (62.5)	3 (100)	5 (17)	0
Siprofloksasin	8 (50)	3 (100)	5 (17)	2 (18,1)
TMP-SXT	6 (37.5)	3 (100)	6 (20)	0
Vankomisin	0	0	0	0
Teikoplanin	0	0	0	0
Mupirosin	1 (6.25)	1 (33.3)	2 (6,8)	1 (9)

KNS: Koagülaz negatif stafilokok, R: Dirençli

hemodiyaliz hastalarında nazal *S. aureus* oranının %53 olarak, Şencan ise %67.5 olarak saptamıştır.^{4,13} Yaptığımız çalışmada SAPD hastaları arasında nazal *S. aureus* oranı %19.4 (14/72), KNS oranı ise %62.5 (45/72) olarak bulundu. *S. aureus* nazal taşıyıcılık oranları ülke, bölge ve hastanelere göre farklılık göstermektedir.

Kateterle ilişkili enfeksiyonlarda, stafilokokların hidrofobik interaksiyonla ve slime oluşturarak plastik yüzeylere yapışması en önemli rolü oynamaktadır. Slime oluşturan bakterilerin antibiyotiklere daha dirençli olduğu, bulunduğu yerden eradikasyonunun daha zor olduğu, kateter kayıpları yanında morbidite ve mortalitede artışa neden olduğu bildirilmiştir.^{4,7,14} İzole ettiğimiz stafilokoklar arasında slime oluşturanların oranı %32.2, metisilin direnci %86.4 olarak belirlendi. Metisiline dirençli ve aynı zamanda slime üreten örneklerde çoklu antibiyotik direnci gözlemlendi. Bu, daha önce yapılan çalışmalarda da bildirildiği gibi beklenen bir sonuçtur.^{4,14} Antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç saptanması, bu etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde alternatif antibiyotik arayışını gündeme getirmiştir. Özellikle yüzeysel stafilokok enfeksiyonlarının tedavisi amacı ile mupirosin topikal ajan olarak kullanılmaktadır. Mupirosin kullanımı ile birlikte bu antibiyotiğe direnç gelişimi sorunu ortaya çıkmıştır. Schmitz ve arkadaşları Avrupada çok merkezli bir çalışmada *S. aureus* kökenlerinde mupirosin direncini %3.9 oranında bulmuşlardır.¹⁵ Oğuzkaya Artan ve arkadaşları,¹⁶ nazal *S.aureus* taşıyıcılarında mupirosine direnç gözlenmediğini, Vardar,¹⁷ klinik örneklerden izole edilen stafilokok şuşlarında mupirosin direncini MRKNS için %4.5, metisilin duyarlı KNS için %1.2 olarak rapor etmişlerdir. Us ve arkadaşları¹⁸ nozokomiyal MRSA izolatlarının 35 (%5.9)'inde mupirosin direnci saptamışlar, bu örnekler arasında yüksek düzey mupirosin direncini %65, düşük düzey mupirosin direncini %34.2 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda beş (%9.8) örneğin mupirosin'e dirençli olduğu görüldü. Mupirosine dirençli iki MRSA'nın slime ürettiği, üç MRKNS örneğinin ise slime üretmediği belirlendi. Toplam dört örnekte (2 MRSA ve 2 MRKNS) düşük düzey mupirosin direnci, bir MRKNS'da yüksek düzey mupirosin direnci saptandı. Mupirosine dirençli örneklerin aynı zamanda metisiline de dirençli olması diğer çalışmalarla uyumlu görünmektedir. *S. aureus*'da yüksek düzey mupirosin direncini kodlayan *mupA* geni plazmid kontrolündedir. Yüksek düzey direncin, dekolonizasyon başarısızlığını beraberinde getirdiği ve bu direncin mupirosin kullanımı ile arttığı bildirilmektedir. Düşük düzey direncin ise kromozomal *ileS* genindeki mutasyon ile ilişkili olduğu bilinmektedir.^{18,19} Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda periton diyalizi tedavisi altındaki

hastalarda burun ve kateter çıkış bölgesine mupirosin uygulamasının hem kateter çıkış yeri enfeksiyonunu hem de peritoniti etkin biçimde azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte mupirosinin uzun süre uygulanması sonucunda özellikle KNS' larda mupirosin yanında metisilin direncinde de artış rapor edilmiştir.^{5,20}

Sonuç olarak; SAPD uygulayan hastaların burun stafilokok taşıyıcısı olup-olmadığının belirlenmesi ve kültür izolatlarının karakterize edilmesi ile; tedavi stratejileri yönlendirilebileceği gibi, hastanın enfeksiyon kontrol önlemleri konusunda daha dikkatli olması sağlanabilir kanısındayız.

Kaynaklar

1. Akman S, Bakkaloğlu SA, Ekim M, Sever L, Noyan A, Aksu N. Peritonitis rates and common microorganisms in continuous ambulatory peitoneal dialysis and automated peritoneal dialysis. *Pediatr Int* 2009; 5(2): 246-9.
2. Williams JD, Coles GA. Gram-positive infections related to CAPD. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27: 31-5.
3. Kavanagh D, Prescott GJ, Mactier RA. Peritoneal dialysis associated peritonitis in Scotland. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2584-91.
4. Lederer SR, Riedelsdorf G, Schffl H. Nasal carriage of methicillin resistant *S. Aureus*: the prevalence, patients at risk and the effect of elimination on outcomes among outclinic haemodialysis patients. *Eur J Med Res* 2007; 12(7):284-8.
5. Çavdar C, Sağlam F, Sifil A, Çelik A, Atay T, Gungor O ve ark. Effect of once-a-week vs thrice a-week application of mupirocin on methicillin and mupirocin resistance in peritoneal dialysis patients: three years of experience. *Ren Fail* 2008; 30(4): 417-22.
6. Bannerman TL. Staphylococcus, micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller, MA, Tenover FC, Tenover FC. eds. *Manuel of Clinical Microbiology*, 8th edition, Washington: ASM, 2003: 384-404.
7. Akiyama H, Yamasaki O, Kanzaki H, Tada J, Arata J. Adherence characteristics of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from various skin lesions. *Journ Derm Sci* 1998; 18(2):132-6.
8. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982;37: 318-26.
9. Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları; Onyedinci Bilgi Eki, Gür D. (ed) Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2007; 44-51.
10. Creagh S, Lucey B. Interpretive criteria for mupirocin susceptibility testing of *Staphylococcus* spp. using CLSI guidelines. *Br J Biomed Sci* 2007 ; 64:1-5.
11. Nakamura M, Watanabe Y, Osono E, Ohwada K, Kurihara S, Toume K, et al. Clonotypes of *Staphylococcus aureus* isolated from continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: what is the vector between nares and infection site? *Adv Perit Dial* 2006; 16 :48-51.
12. Laurain C, Durand YP, Albert M, Weber M, Kessler M, Chanliau J, et al. Infection peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis: microbiological review during a four-year period. *Pathol Biol* 2004;2: 575-8.
13. Şencan İ, Kaya D, Çatakoğlu N, Şahin İ, Bahtiyar Z, Yıldırım M. Hemodiyaliz hastalarında burunda MRSA taşıyıcılığı. *İnfeksiyon Dergisi* 2003;17(1): 31-4.
14. Baret P, Montelli AC, Batalha JE, Caramori JC, Cunha M de L. The role of virulence factors in the outcome of staphylococcal peritonitis in CAPD patients. *BJM Infect Dis* 2009;22 (9): 212-5.

Ay ve ark.

15. Schmitz FJ, Lindenlauf E, Hoffmann B, Fluit AC, Verhoet J, Heinz HP, et al. The prevalence of low-and high level mupirocin resistance in staphylococci from 19 European hospitals. *J Antimicrob Chemoter* 1998;42: 489-95.
16. Oğuzkaya-Artan M, Gülgün M, Baykan Z, Tok D. Hastane çalışanlarında *S. aureus* burun taşıyıcılığı ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması. *İnfek Derg* 2008;22(2): 87-90.
17. Vardar G, Ünlü M, Yağmuroğlu A. Klinik örneklerden soyutlanan *S. aureus* ve KNS izolatlarında mupirosin direnci. *Ankem Derg* 2006;20(4):222-5.
18. Us T, Kural M, Yayla B, Kiremitçi A, Çetin E, Akgün Y. Investigation of mupirocin resistance in nosocomial methicillin-resistant *S. aureus* isolates by phenotypic and genotypic methods. *Mikrobiol Bül* 2009; 3(3): 353-64.
19. Patel JB, Gorwitz RJ, Jernigan JA. Mupirocin resistance. *Clin Infect Dis* 2009; 49(6): 935-41.
20. Xu G, Tu W, Xu C. Mupirocin for preventing exit-cite infection and peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(2): 587-92.

İletişim Adresi: Doç.Dr. Selma AY
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA
0 422 341 06 60/ 48 09
09 422 341 00 48
E-mail: say@inonu.edu.tr