

MAKROLİD-LİNKOZAMİD-STREPTOGRAMİN B DİRENCİ GÖZLENEN KLİNİK STAFİLOKOK İZOLATLARINDA FUSİDİK ASİDİN İN-VİTRO AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ*

Emel SESLİ ÇETİN, Hayati GÜNEŞ, Ayşe AYNALI, Selçuk KAYA, Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN, Mustafa DEMİRCİ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

ÖZET

Makrolid-linkozamid-streptogramin B direnci gözlenen klinik stafilocok izolatlarında fusidik asidin in-vitro aktivitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma Ocak 2006-Ocak 2007 arasında laboratuvarımıza gönderilmiş olan çeşitli klinik örneklerden izole edilen 59'u MRSA, 101'i MSSA, 200'ü MRKNS, 172'si MSKNS olmak üzere toplam 532 stafilocok izolatı ile yapılmıştır. MLS_B direnci CLSI kriterleri kullanılarak 'D-zon' testi ile araştırılmıştır. Fusidik asit duyarlılığı ise agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş, Fransa Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyogram Komitesi'nin belirlediği kriterlere göre değerlendirilmiştir. Fusidik aside duyarlılık oranları MLS_B direnci olmayanlarda ve induklenebilir MLS_B direnci olanlarda (% 83), yapısal MLS_B direnci olanlardan (% 58) daha yüksek bulunmuştur (p<0.001). Metisiline dirençli stafilocokların oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde fusidik asit halen bir alternatif olarak kabul edilebilirse de, bu sonuçlar etkenin metisilin direnci yanında yapısal MLS_B direnci gösterdiği durumlarda fusidik aside duyarlılık oranlarının da beklenenden daha düşük olacağına akıldaki bulundurulması gerektiğini düşündürmüştür.

Anahtar sözcükler: fusidik asit, MLS_B direnci, stafilocok

SUMMARY

Evaluation of In-vitro Effect of Fusidic acid on Clinical *Staphylococcus* Strains with Macrolide-Lincosamid-Streptogramin B Resistance

This study was carried out in order to determine the in-vitro effect of fusidic acid on staphylococcal isolates with macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance. The study included 532 *Staphylococcus* isolates consisting of 59 MRSA, 101 MSSA, 200 MRCNS and 172 MSCNS strains collected between January 2006 and January 2007 from clinical samples. Testing for MLS_B was accomplished by the 'D-zone' test in accordance with the recommendations of the CLSI. Fusidic acid susceptibility was investigated by agar disk diffusion method according to the criteria of 'Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie'. Susceptibility rate to fusidic acid was higher among strains without MLS_B resistance and strains with inducible MLS_B resistance (83 %) than that observed among isolates with constitutive MLS_B resistance (58 %) (p<0.001). These results indicated that, although fusidic acid can still be considered as an alternative agent for the treatment of infections caused by methicillin resistant staphylococcal strains, it should be kept in mind that susceptibility rates may be lower than expected if the isolate is also constitutively resistant to MLS_B antibiotics.

Keywords: fusidic acid, MLS_B resistance, staphylococci

Yazışma adresi: Emel Sesli Çetin. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA
Tel.: (0246) 211 20 81, GSM: (0535) 977 71 90
e-posta: seslicetin@med.sdu.edu.tr
Alındığı tarih: 12.03.2008, revizyon kabulü: 26.03.2008

*18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases'de poster olarak sunulmuştur.
(19-22 Nisan 2008, Barcelona)

GİRİŞ

Hem toplum hem de hastane kökenli enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilen stafilokoklarda antibiyotik direnci en önemli tedavi problemi olmaya devam etmektedir⁽⁴⁾. Stafilokoklarda metisilin direncinin ortaya çıkışı ve diğer bazı antibiyotiklere direnci de beraberinde getirmesi bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisini ve kontrolünü güçleştirmektedir⁽¹⁸⁾. Bu direnç problemi alternatif antibiyotiklerin araştırılma ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Makrolid ve streptograminler bu alternatif tedavi seçenekleri arasındadırlar. Makrolid - linkozamid - streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotikler farklı kimyasal yapıya sahip olmakla birlikte benzer etki mekanizmasıyla etkilerini gösterirler. Bu nedenle MLS_B antibiyotiklerden birine dirence neden olan genler diğerlerine de çapraz direnç gelişmesine neden olabilmektedir. Dirence neden olan mekanizmaya bağlı olarak MLS_B direnci fenotipik olarak indüklenebilir veya yapısal direnç şeklinde ortaya çıkabilir. Eritromisine direncin nedeninin efluks sisteminde değişikliğe bağlı olduğu durumlarda eritromisine dirençli olan suş klindamisine duyarlı iken, makrolid direncinin ribozomal metilasyondan kaynaklandığı durumlarda ilgili suş klindamisine duyarlı veya dirençli (indüklenebilir veya yapısal) olabilmektedir⁽¹⁹⁾. Bu antibiyotiklerin Gram pozitif bakterilere bağlı enfeksiyonlarda sıklıkla kullanılmalarıyla birlikte son yıllarda dirençli stafilokok suşlarında artış olduğu bildirilmektedir⁽¹¹⁾.

Fusidik asit 1962 yılından beri klinik kullanımında olan, *Fusidium coccineum* mantarlarından elde edilen, steroid benzeri yapıya sahip fusidan sınıfı bir antibiyotiktir. Bakteriyel protein sentezi için gerekli olan elongasyon faktör G (EF-G)'yi bloke ederek bakteri ribozomuna bağlanmadan protein sentezini inhibe eder. Bu özgül antibakteriyel etki mekanizması diğer antibiyotiklerle arasında çapraz direnç gelişimini önlediğinden dirençli stafilokok suşları ile oluşan enfeksiyonlarda seçenek olabileceği ileri sürülmüştür^(12,24). Bunun yanında bu ilacın bilinen önemli bir yan etkisinin olmayışı, oral yoldan kolay kullanılabilir olması da önemli

avantajlarındandır. 1998 yılında topikal formuna ek olarak oral formu ile ülkemizde kullanıma giren fusidik asit, orta ve hafif stafilokokal enfeksiyonların hastane dışı tedavilerinde oral bir seçenektir⁽²²⁾. Bu çalışmada MLS_B direnci gözlenen klinik stafilokok izolatlarında fusidik asidin in-vitro aktivitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2006-Ocak 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiş olan çeşitli klinik örneklerden izole edilen 532 stafilokok izolatı ile çalışılmıştır. İzole edilen mikroorganizmalar koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz, lam ve tüpte koagülaz ve DNaz testleri gibi konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmış, 160'ının *Staphylococcus aureus*, 372'sinin koagülaz negatif stafilokok (KNS) olduğu belirlenmiştir. Aynı hastadan izole edilen tekrarlayan izolatlar çalışmaya dahil edilmemiştir. İncelenen stafilokok izolatlarının metisilin duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute kriterlerine göre⁽²⁾ sefoksitin (30 µg) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile, MLS_B direnç fenotipleri ise eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) kullanılarak disk yaklaşım yöntemi ile araştırılmıştır. İnkübasyon sonrası klindamisin diskinin eritromisin diskine bakan kenarındaki zonda bir küntleşme olması indüklenebilir MLS_B (iMLS_B) direncini gösterirken, eritromisin ve klindamisin her ikisine de direnç tespit edilmesi yapısal MLS_B (yMLS_B) direnci olarak değerlendirilmiştir. Fusidik asit duyarlılığı ise 15 µg fusidik asit diski kullanılarak test edilmiş ve Fransa Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyogram Komitesi'nin belirlediği kriterlere göre⁽³⁾ (≥ 22 mm zon çapı duyarlı, 15-21 mm zon çapı orta duyarlı, <15 mm zon çapı ise dirençli) değerlendirilmiştir. İndüklenebilir MLS_B direnci için pozitif kontrol olarak *S.aureus* ATCC BAA-977, diğer antibiyotikler için ise *S.aureus* ATCC 25923 suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda incelenen stafilocok izolatlarının 59'u metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), 101'i metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA), 200'ü metisiline dirençli KNS (MRKNS), 172'si metisiline duyarlı KNS (MSKNS) suşlarından oluşmuştur. Bu izolatların MLS_B antibiyotiklere direnç oranı % 38 olarak bulunmuştur. MLS_B direncinin % 62.5'i yMLS_B direnç fenotipi iken % 37.5'u iMLS_B fenotipi göstermiştir. Metisilin ve MLS_B direnç fenotiplerine göre sınıflandırılan stafilocok izolatlarının fusidik aside duyarlılık durumları tabloda verilmiştir. MSSA suşlarının hepsi fusidik aside duyarlı bulunmuştur. Fusidik aside duyarlılık oranlarının MLS_B direnci olmayanlarda ve iMLS_B direnci olanlarda (% 83), yMLS_B direnci olanlardan (% 58) daha yüksek bulunduğu görülmüştür (p<0.001). Ayrıca fusidik asit duyarlılığı yMLS_B direnç fenotipi olan MRKNS suşlarında önemli oranda düşük (% 47) bulunmuştur.

TARTIŞMA

Stafilocoklarda metisiline direnç prevalansı arttıkça bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonların ampirik tedavi seçenekleri de da-

ha sınırlı hale gelmeye başlamıştır. Glikopeptidlerin önemli yan etkilerinin olması, sadece hastanede yatan hastalarda kullanılabilmesi, tedavi maliyetinin yüksek olmasının yanısıra son on yıl içinde azalmış vankomisin duyarlılığı ve vankomisine karşı heterojen dirençli stafilocok suşlarının bildirilmesi metisiline dirençli stafilocokların etken olduğu infeksiyonların tedavisinde glikopeptidlere alternatif olabilecek bir antibiyotik arayışını gündeme getirmiştir^(7,8).

Gerek metisiline dirençli, gerekse metisiline duyarlı olan stafilocok suşlarında in-vitro fusidik asit duyarlılığı yüksektir. Fusidik asidin metisiline dirençli suşlar dahil *S.aureus*'a yüksek etkinliği olmasının yanı sıra önemli bir yan etkisinin olmayışı, oral formda kullanılabilmesi ve tedavi maliyetlerinin düşük olması nedenleri ile özellikle çoklu dirençli *S.aureus* infeksiyonlarının tedavisinde iyi bir seçenek olarak ileri sürülmektedir⁽²²⁾. Ülkemizde Keşli ve ark.⁽⁹⁾ 122 stafilocok suşu ile yaptıkları çalışmada fusidik asidin MRSA infeksiyonlarının tedavisinde tek başına, başlangıçta veya oral ardışık tedavide uygun bir seçenek olabileceğini belirtmişlerdir. Özcan ve ark.⁽¹⁷⁾ yara örneklerinden izole ettikleri 1080 stafilocok suşu ile yaptıkları çalışmada MRKNS suşlarını, fusidik aside en dirençli suşlar olarak bulmuşlar ve direnci % 30 olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada MSSA suşların-

Tablo 1: Metisilin ve MLS_B direnç durumuna göre sınıflandırılan stafilocok izolatlarının fusidik aside duyarlılık durumları [n(%)].

Suşlar	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
MRSA n:30	24 (80)	3 (10)	3 (10)
MSSA n:90	90	0	0
MRKNS n: 89	55 (62)	6 (7)	28 (31)
MSKNS n:123	106 (86)	8 (7)	9 (7)
Toplam n:332	275 (83)	17 (5)	40 (12)
MRSA n:15	15	0	0
MSSA n:9	9	0	0
MRKNS n:25	19 (76)	1 (4)	5 (20)
MSKNS n:26	19 (73)	3 (12)	4 (15)
Toplam n:75	62 (83)	4 (5)	9 (12)
MRSA n:14	13 (93)	1 (7)	0
MSSA n:2	2	0	0
MRKNS n:86	40 (47)	8 (9)	38 (44)
MSKNS n:23	18 (78)	2 (8)	3 (13)
Toplam n:125	73 (58)	11 (9)	41 (33)

MLS_B Ø: MLSB direnci gözlenmeyenler; iMLS_B: indüklenebilir MLS_B direnci gözlenenler; yMLS_B: yapısal MLS_B direnci gözlenenler. Duyarlı ve dirençli suşlar için MLS_B Ø ile iMLS_B farkı p>0.50; MLS_B Ø ile yMLS_B farkı p<0.001; iMLS_B ile yMLS_B farkı p<0.001; MLS_B Ø + iMLS_B ile yMLS_B farkı p<0.001.

da direnç oldukça düşük (% 3) bulunmuştur. Güleröğlü ve ark.⁽⁶⁾ 145 metisiline dirençli stafilocok suşunda 2002 yılında fusidik asit direncini % 1.4 olarak bulmuşlardır. Memikoğlu ve ark.⁽¹⁴⁾ hastanede yatan hastalardan izole ettikleri 225 MRSA suşunda fusidik asit direncini % 2.7 bulmuşlardır. Nergis ve ark.⁽¹⁵⁾ 88 MRKNS suşunda fusidik aside direnç oranını % 32 bulmuştur. Kuzucu ve ark.⁽¹⁰⁾ ise fusidik asit direncini MRSA suşlarında % 4, MRKNS izolatlarında % 27 olarak bildirmiştir. Bu çalışmaların en belirgin ortak bulguları fusidik aside direnç oranlarının *S.aureus* suşlarında düşük iken özellikle metisilin dirençli KNS'lerde yüksek olmasıdır.

Bir başka çalışmada 390 *S.aureus* suşunda metisilin direnci % 40, fusidik asit direnci % 3.6 olarak bulunmuş; MRSA suşlarının eritromisin, gentamisin, tetrasiklin ve siprofloksasine dirençleri yüksek iken klindamisin, fusidik asit, mupirosin ve rifampisine direnç oranlarının düşük olduğu tespit edilmiştir⁽²⁰⁾.

Daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmada⁽¹⁾ metisilin direncine ek olarak iMLS_B ve yMLS_B direnci de gözlenen stafilocok suşlarında siprofloksasine direnç oranlarında belirgin yükseklik gözlenmiş olması, çoklu ilaç direnci gözlenen suşlarla meydana gelen infeksiyonlarda seçenek olduğu kabul edilen fusidik aside direnç durumunu da araştırma gerekliliği duymamıza sebep olmuştur.

Çalışmamızda MLS direnç fenotipi ne olursa olsun fusidik aside karşı metisiline dirençli ve duyarlı KNS'larda bulduğumuz direnç, metisiline dirençli ve duyarlı *S.aureus* suşlarından daha yüksek bulunmuştur (p<0.001). Fusidik aside en yüksek direnç oranı yMLS_B direnç fenotipi gösteren MRKNS suşlarında (% 44) bulunmuştur. Bu sonuç ülkemizde yapılmış olan diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (5,9,16,23).

MLS_B direnci gözlenmeyen *S.aureus* suşları değerlendirildiğinde metisilin direnci gözlenen suşların fusidik aside direnci metisiline duyarlı olanlara göre yüksek bulunurken, iMLS_B gözlenen *S.aureus* suşlarının metisilin duyarlı ya da dirençli olsun, hepsinin fusidik aside duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan KNS

suşlarında, MLS_B direnç durumu ne olursa olsun, metisiline dirençli suşlarda fusidik aside direnç oranının da daha yüksek olduğu bulunmuştur (p<0.001). Bu sonuçlar, *S.aureus* suşlarında fusidik aside direnç oranlarının halen yeterince düşük olmasına rağmen, KNS suşlarında metisilin direncindeki artış eğiliminin yanında MLS_B ve fusidik asit gibi diğer antibiyotik gruplarına da direnç artışı eğilimi olduğuna işaret etmektedir.

Çalışmamızda metisilin direncine MLS_B direncinin eşlik ettiği suşlarda tespit etmiş olduğumuz fusidik aside daha yüksek direnç oranları kromozomal olarak dirençli olduğu bir antibiyotiğe sürekli maruz kalan bir bakteri suşunda çoklu ilaç direncinin ortaya çıkabileceği görüşü ile açıklanabilir⁽¹³⁾. Metisiline dirençli stafilocokların oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde fusidik asit halen bir alternatif olarak kabul edilebilirse de, bu sonuçlar etkenin metisilin direnci yanında yapısal MLS_B direnci gösterdiği durumlarda fusidik aside direnç oranlarının da beklenenden daha yüksek olacağının akıldaki bu-lundurulması gerektiğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cetin ES, Gunes H, Kaya S, Aridogan BC, Demirci M: Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates, Int J Antimicrob Agents 2008;16; baskıda.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute: Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onyedinci bilgi eki (Çeviri editörü: Deniz Gür), Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İstanbul (Ocak 2007).
3. Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie: Communiqué 2005; s.32-5.
4. Çetinkaya Y, Ünal S: Metisilin dirençli Staphylococcus aureus infeksiyonları: epidemiyoloji ve kontrol, Flora 1996;1(3 Ek):3-16.
5. Güdül Havuz S, Uyar Y, Çetin M, Pekbay A, Lelebicioğlu H, Günaydın M: Metisiline dirençli ve duyarlı stafilocok suşlarında fusidik aside direnç, ANKEM Derg 2001;15(1):93-7.
6. Güleröğlü S, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş: Metisiline dirençli stafilocoklarda vankomisin, teikoplanin ve fusidik asit direncinin mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması, ANKEM Derg 2002;16(4):457-62.

7. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H et al: Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogenously resistant to vancomycin, *Lancet* 1997;350(9092):1670-3.
8. Howe RA, Wootton M, Walsh TR, Bennett PM, Macgowan AP: Heterogenous resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus*, *J Antimicrob Chemother* 2000;45(1):130-2.
9. Keşli R, Cander S, Çelebi S: Stafilocok suşlarında fusidik asit direnci, *Kocatepe Tıp Derg* 2004;5(1):33-6.
10. Kuzucu Ç, Dalgalar M, Durmaz B: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocoklarda fusidik asit duyarlılığı, *ANKEM Derg* 2003;17(1):7-9.
11. Lim JA, Kwon AR, Kim SK, Chong Y, Lee K, Choi EC: Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital, *J Antimicrob Chemother* 2002;49(3):489-95.
12. Mandell LA: Fusidic acid, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed." kitabında s.278, Churchill Livingstone, New York (1995).
13. Martins A, Couto I, Aagaard L et al: Prolonged exposure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) COL strain to increasing concentrations of oxacillin results in a multidrug-resistant phenotype, *Int J Antimicrob Agents* 2007;29(3):302-5.
14. Memikoğlu KO, Bayar B, Kurt O, Cokca F: In vitro sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to fusidic acid and trimethoprim-sulfamethoxazole, *Mikrobiyol Bült* 2002;36(2):141-5.
15. Nergiz Ş, Özekinci T, Gülhan B, Meşe S, Atmaca S: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocoklarda fusidik asit direnci, *ANKEM Derg* 2007;21(4):228-31.
16. Öngen B, Otağ F, Gürler N, Töreci K: Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında fusidik asit ve diğer antimikrobik maddelere direnç, *ANKEM Derg* 2000;14(1):36-8.
17. Özcan Ç, Durmaz ÇB, Oktar M: Yara örneklerinden izole edilen stafilocok suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması, 11. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabında s. 350, Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, İstanbul (2003).
18. Öztürk F, Öngüt G, Demirbakan H ve ark: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında fusidik asit duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması, *ANKEM Derg* 2005;19(3):135-8.
19. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H: Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(12):2823-30.
20. Rohani MY, RaudzahA, Lau MG et al: Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals, *Int J Antimicrob Agents* 2000;13(3):209-13.
21. Şengöz G, Yıldırım F, Kart Yaşar K, Şengöz A, Nazlıcan Ö: Stafilocok suşlarının fusidik asit ve çeşitli antibiyotiklere direnci, *ANKEM Derg* 2004;18(2):105-8.
22. Tabak F: Ülkemizde son yıllarda kullanıma giren antibiyotikler, "Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A (eds): Günümüzde Antimikrobik Tedavi" kitabında s.91, İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayın No. 12, İstanbul (1998).
23. Vardar-Ünlü G, Ünlü M, Şahin M: Kan kültürlerinden soyutlanan *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocok suşlarında fusidik asite direnç, *ANKEM Derg* 2001;15(1):88-92.
24. Verbist L: The antimicrobial activity of fucidic acid, *J Antimicrob Chemother* 1990;25(1):1-5.