

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARININ FUSİDİK ASİDE DİRENÇ DURUMU

Füsun MUT BEĞENDİK, Işıl FİDAN, Nedim SULTAN, Sevgi TÜRET

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 stafilocok suşunun fusidik aside duyarlılığı disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile incelenmiştir. Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilocok (MSKNS) suşlarında fusidik aside direnç belirlenememiştir. İncelenen 24 metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşunun 2'si (% 8) fusidik aside dirençli, 1'i (% 4) orta duyarlı olarak tespit edilirken, 37 metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocok (MRKNS) suşunun 4'ü (% 11) dirençli, 2'si (% 5.5) orta duyarlı olarak bulunmuştur.

SUMMARY

Fusidic acid resistance in clinical isolates of staphylococci.

The resistance of 100 strains of *Staphylococcus* spp. isolated from various clinical specimens to fusidic acid were investigated by disk diffusion and microdilution methods. No resistance to fusidic acid was found in methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains and in methicillin-sensitive coagulase-negative staphylococci (MSCNS). Two of the methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) strains (8%) were found resistant to fusidic acid while one of the MRSA strains (4%) was found intermediately sensitive. On the other hand 4 strains of the methicillin resistant coagulase-negative staphylococci (MRCNS) (11%) were found resistant to fusidic acid while 2 (5.5%) of the MRCNS strains were found intermediately sensitive.

GİRİŞ

Penisilin tedavisi amacıyla kullanılmaya başlandığı 1940'lı yıllarda hemen tüm stafilocok kökenleri bu antibiyotiğe duyarlı iken, kısa süre sonra beta-laktamaz enzimi üretimine bağlı olarak ortaya çıkan direnç tüm dünyada hızla yayılmıştır. Beta-laktamaz stabil penisilinler, sefalosporinler, eritromisin ve fusidik asit gibi ilaçlar bundan sonra tedavide alternatif olarak denenmeye başlanmıştır (10,23). Bu amaçla 1960'lı yıllarda kullanıma giren fusidik asit, *Fusidium coccineum*'dan izole edilen fusidanlar grubundan steroid benzeri bir antibiyotiktir. Antibakteriyel etkinliğini, bakteriyel protein sentezi için gerekli olan elongasyon faktör G (translokaz) ile interferens yoluyla göstermektedir. Bakteriyostatik olan bu etkinlik, yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal olabilmektedir (15,22).

Fusidik asit, Gram pozitif bakterilere, özellikle metisiline dirençli suşlar dahil, *S.aureus* ve *S.epidermidis*'e etkilidir. Etki mekanizmasının özgülüğü nedeniyle diğer antibiyo-

14. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (31 Mayıs - 4 Haziran 1999, Antalya).

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

tiklerle fusidik asit arasında çapraz direnç görülmemektedir. Bu nedenle metisiline dirençli stafilocoklar genellikle fusidik aside duyarlı olmaktadır (21).

Ülkemizde yıllardan beri lokal kullanıma uygun preparatı olan ve 1998 yılı içinde oral preparatı kullanıma sunulan fusidik asidin antistafilokoksik etkinliğinde önemli bir azalma olmadığı birçok araştırmada gösterilmiştir (1,2,4,11,12,18). Bu çalışmada hastanemiz laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen koagülaz pozitif ve patojen olduğu tespit edilen koagülaz negatif stafilocokların fusidik aside duyarlılığını kontrol etmek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yatan hastalardan izole edilen 100 stafilocok suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Bakteri tanımlamaları koloni morfolojileri, üreme ve Gram boyama özellikleri, katalaz ve koagülaz testleri ile gerçekleştirilmiştir (13).

Bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları NCCLS önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi için oksasilin 1 µg (Oxoid) ve fusidik asit 10 µg (Oxoid) diskleri kullanılarak belirlenmiştir (16). Mikrodilüsyon yönteminde fusidik asidin minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) NCCLS standartlarına uygun olarak araştırılmış ve değerlendirilmiştir (17). Mikrodilüsyon yöntemi için toz hammaddesi sağlanan fusidik asidin (Koçak) 0.25-256 µg/ml arasındaki konsantrasyonları denenmiştir. McFarland 0.5'e göre ayarlanan bakteri süspansiyonları 1/100 oranında sulandırılarak 10⁵ cfu/ml olacak şekilde inokulum hazırlanmıştır. 50 µl'de 0.5-512 µg/ml antibiyotik bulunan kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Testin güvenilirliği için antibiyotik içermeyen negatif kontrol çukurcukları hazırlanmıştır. Mikropleyter ve plaklar 35°C'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. Göz ile üreme saptanmayan en düşük antibiyotik konsantrasyonu MIC olarak belirlenmiştir (17).

Disk difüzyon yönteminde oksasilin inhibisyon zon çapı ≤10 mm olanlar dirençli, ≥13 mm olanlar duyarlı ve fusidik asit inhibisyon zon çapı <15 mm olanlar dirençli, ≥22 mm olanlar duyarlı olarak değerlendirilmiştir (3).

Mikrodilüsyon yönteminde fusidik asit MIC değeri ≤2 µg/ml olanlar duyarlı, 4-16 µg/ml olanlar orta duyarlı, >16 µg/ml olanlar dirençli olarak kabul edilmiştir (17).

BULGULAR

İn-vitro metisilin ve fusidik asit duyarlılıkları araştırılan 44 *S.aureus* ve 56 koagülaz negatif stafilocokun (KNS) metisilin için disk difüzyon yöntemi ile tespit edilen duyarlılık oranları tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen stafilocok suşlarının metisiline duyarlılıkları.

Suşlar	Metisiline duyarlı	Metisiline dirençli	Toplam
<i>S.aureus</i>	20 (% 45)	24 (% 55)	44
Koagülaz negatif stafilocok	19 (% 33)	37 (% 66)	56

100 stafilokok suşunda fusidik asitle alınan disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinin sonuçları birbirine paralel olarak bulunmuştur. MSSA ve MRKNS'larda fusidik aside direnç belirlenmemiştir. İncelenen 24 MRSA'un 2'si (% 8) fusidik aside dirençli, 1'i (% 4) orta duyarlı; 37 MRKNS'un 4'ü (% 11) fusidik aside dirençli, 2'si (% 5) orta duyarlı bulunmuştur. Çalışılan suşların MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 2. Fusidik asidin suşlar için MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri ve MIC aralığı (µg/ml).

Suşlar	Sayı	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC aralığı
MSSA	20	0.5	2	<0.25-2
MRSA	24	1	8	<0.25-64
MSKNS	19	0.5	1	<0.25-2
MRKNS	37	1	16	<0.25-32

TARTIŞMA

Çeşitli infeksiyonlardan sorumlu olan stafilokoklar günümüzde halâ önemini korumaktadır. Yakın zamanlara kadar sadece *S.aureus* suşları ile oluşan infeksiyonlar yakından incelenmiş, diğer stafilokoklar daha az dikkate alınmışlardır. Günümüzde damar içi uygulamaları ve prostetik apereylerin kullanımlarının artması sonucu, *S.epidermidis* başta olmak üzere, koagülaz negatif stafilokok suşlarının da birçok infeksiyonda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu bakteriler ile oluşan infeksiyonlarda en önemli sorun bakterilerin kemoterapötik maddelere gösterdikleri dirençtir. Direnç gelişimi *S.aureus* suşlarında daha çok görülmektedir. *S.aureus* ve diğer stafilokok suşlarına yeni geliştirilen antibiyotikler başlangıçta etkili bulunurlarken, yaygın ve gelişigüzel kullanım sonucu bu antibiyotiklere çok kısa zamanda direnç gelişmektedir (14).

Stafilokokların fusidik aside iki mekanizma ile direnç geliştirdikleri görülmüştür. Bunlardan biri 1/10⁶⁻⁷ oranında ortaya çıkan kromozomlardaki spontan mutasyonlar sonucu antibiyotiğin hedefi olan elongasyon faktör G'deki değişikliklere bağlı olan dirençtir. Mutasyona uğramış suşlar, daha yavaş üremeleri, patojenitelerinin daha düşük olması ve fusidik asidin bulunmadığı ortamlarda duyarlı hale dönebilmeleri nedeniyle klinikte önemli sorun yaratmamaktadırlar. Diğer direnç mekanizması ise hücre membranında permeabilite değişikliklerine bağlı olarak antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi şeklindedir ve plazmid kaynaklıdır. Bu plazmid stabil olmadığı için in-vitro koşullarda fusidik asit direnci kaybolabilir ve direnç belirlenemeyebilir (21).

Çalışmamızda fusidik asit direncini MRSA'larda % 8, MRKNS'larda % 11 olarak belirledik. MSSA ve MSKNS'larda fusidik asit direnci tespit etmedik. Sonuçlarımız bu konuda ülkemizde değişik merkezlerde 1998 yılında yapılmış olan çalışmalarda elde edilmiş ve tablo 3'de gösterilmiş sonuçlar ile uyumlu görülmektedir.

Tablo 3. Ülkemizde yapılan çeşitli araştırmalarda elde edilen fusidik asit direnç oranları.

Araştırma	MSSA	MRSA	MSKNS	MRKNS
Öztürk ve ark. (18)	% 1.8	% 1.6	% 16.7	% 8
Kocabeyoğlu ve ark. (12)	-	% 2	-	% 4
Karadenizli ve ark. (11)	% 5	% 8	-	-
Bengisun ve ark. (2)	-	-	% 7	-
Altun ve ark. (1)	-	% 6	-	% 8
Şalcıoğlu ve ark. (22)	% 5	% 3.5	% 4	% 11.5
Çavuşoğlu ve ark. (4)	% 7.6	% 13.6	% 17.7	% 20.3

Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi'nden Diler ve ark. (6), *S.aureus* suşlarında % 28.1, *S.epidermidis* suşlarında % 34.1 ve *S.saprophyticus* suşlarında % 26.7 oranlarında fusidik asit direnci bildirmişlerdir. Bu oranlar gözleyebildiğimiz en yüksek direnç oranlarını oluşturmaktadır.

Stafilokoklarda fusidik asit direnci ile ilişkili olarak Avrupa ülkeleri, Kanada ve Avustralya'dan bildirilen değişik oranlar mevcuttur. Faber ve ark. (7), Danimarka'da 1963 ve 1987 yılları arasında bakteriyemi olgularından izole edilen 8176 *S.aureus* suşunda fusidik asit direncini % 1 olarak belirlemişlerdir. Laverdiere ve ark. (14), 1988-1995 yılları arasında Kanada'da izole edilen KNS suşlarında bu zaman periyodu içerisinde fusidik asit direncinde % 12 oranında bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Gottlieb ve ark. (9), 1990-1995 yılları arasında Avustralya'da izole edilen 1467 stafilokok suşundaki fusidik asit direnç oranını % 5'in altında belirlemişler ve direncin metisiline duyarlı ve dirençli suşlar arasında eşit dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir. Neeling ve ark. (5) Hollanda'dan MRSA suşları için % 7, Schimtz ve ark. (20) ise Almanya'dan *S.aureus* suşları için % 0.7 ve KNS suşları için % 2.5 oranında direnç bildirmişlerdir. Petreska ve ark. (19), lösemili ve son dönem renal yetmezliği olan hastaların santral venöz kateterlerinden izole ettikleri KNS suşlarında fusidik asit direncini % 56 oranında tespit etmişler; MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerlerini 6.25 µg/ml ve 12.5 µg/ml olarak bildirmişlerdir.

Fusidik aside direnç gelişimi antibiyotik kullanımının süresi ve infeksiyonun lokalizasyonuna göre farklılıklar göstermekle birlikte tedavi sırasında direnç gelişimi oranı % 0-46 arasında bildirilmektedir. Direnç gelişiminin engellenmesi için özellikle sistemik infeksiyonlarda fusidik asidin diğer antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılması ve kültürlerin tedavi sırasında tekrarlanması önerilmektedir (8,21).

Fusidik asit oral uygulandığında iyi absorbe olmakta ve uzun süreli yüksek serum seviyeleri tespit edilmektedir. Etki mekanizmasının özgüllüğü nedeniyle diğer antibiyotiklere çapraz reaksiyon geliştirmemesi bu antibiyotik için önemli bir üstünlük olarak görülmektedir (24). Ülkemizde 1998 yılı içinde oral preparatı kullanıma sunulan bu antibiyotik, özellikle metisiline dirençli *S.aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların neden oldukları infeksiyonlarda şimdiye kadar elde edilen sonuçlar doğrultusunda uygun tedavi protokolu eşliğinde güvenle kullanılabilir bir alternatif olduğu sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Altun B, Kocagöz, S, Uzun Ö, Akova M, Ünal S: Türkiye'deki stafilokokların fusidik asit ve diğer dört antibiyotik ile birlikte direnç durumunun karşılaştırılması, XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı No. 12-164, Antalya (1998).
- 2- Bengisun JS, Palabıyıkoglu I, Aksu G: AÜTF İbni Sina Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarının tiplendirilmesi ve fusidik asit duyarlılığının invitro değerlendirilmesi, XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı 12.163, Antalya (1998)
- 3- Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie: 18. Communiqué 1996, Path Biol 44:1 (1996).
- 4- Çavuşoglu C, Badak Z, Zünger A, Hilmioglu S, Güzelant A, Bilgiç A: Kan kültürlerinden soyulanan Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif stafilokok izolatlarının fusidik aside invitro duyarlılıkları, Infeksiyon Derg, 12:467 (1998).

- 5- de Neeling AJ, van Leeuwen WJ, Schouls LM, Schot CS, van Veen-Rutgers A, Beundets AJ, Buiting AG, Hol C, Ligvoet E E, Petit PL, Sabbe LJ, van Griethuysen AJ, van Embden JD: Resistance of staphylococci in The Netherlands: surveillance by an electronic network during 1989-1995, *J Antimicrob Chemother* 41:93 (1998).
- 6- Diler M, Altanlar N, Emekdaş G, Kocabeyoğlu Ö, Akın A: Hastane ortamı ve cihazlarından izole edilen stafilocok suşlarında oksasilin, fusidik asit, mupirosin ve diğer antibiyotiklere direncin araştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.160, Antalya (1998).
- 7- Faber M, Rasdahl TV: Susceptibility of fusidic acid among Danish Staphylococcus aureus strains and fusidic acid consumption, *J Antimicrob Chemother* 25 (Suppl B):7 (1990).
- 8- Fantin B, Leclercq R, Duval J, Carbon C: Fusidic acid alone or in combination with vancomycin for therapy of experimental endocarditis due to methicillin resistant Staphylococcus aureus, *Antimicrob Agents Chemother* 42:67 (1998).
- 9- Gottlieb T, Mitchell D: The independent evolution of resistance of ciprofloxacin, rifampicin and fusidic acid in methicillin resistant Staphylococcus aureus in Australian teaching hospitals (1990-1995), *J Antimicrob Chemother* 42:67 (1998).
- 10- Hackbart C, Achambers H: Methicillin resistant staphylococci: Genetics and resistance, *Antimicrob Agents Chemother* 33:991 (1989).
- 11- Karadenizli AY, Katırcıoğlu I, Bingöl R: Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında fusidik asit duyarlılığının araştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.164, Antalya (1998).
- 12- Kocabeyoğlu Ö, Diler M, Emekdaş G, Erdemoğlu A, Kutlu H: Türkiye'de yeni kullanıma giren fusidik asidin stafilocok suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.159, Antalya (1998).
- 13- Koneman EW, Allen SD, Janda WD, Schreckenberger PC, Winn WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5. baskı, Lippincott, New York (1997).
- 14- Laverdierre M, Weiss K, Rivest R, Delorme J: Trends in antibiotic resistance of staphylococci over an eight year period: differences in the emergence of resistance between coagulase positive and coagulase negative staphylococci, *Microbial Drug Res* 4:119 (1998).
- 15- Mandell LA: Fusidic acid, "Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4. baskı" kitabında s. 278, Churchill Livingstone, New York (1995).
- 16- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically*, Documents M7-A3, NCCLS, Wayne (1997).
- 17- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*, 6. baskı, Approved Standards M2-A6, NCCLS, Villanova (1996).
- 18- Öztürk R, Akın EA, Hepgenç I, Tabak F: Değişik klinik örneklerden izole edilen oksasilin duyarlı ve dirençli stafilocok kökenlerinin fusidik asit ve diğer antimikrobik maddelere direnç durumu, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.158, Antalya (1998).
- 19- Petreska D, Janic I, Trajkovic J, Milosavljevic S: Sensitivity to antibiotics in coagulase negative staphylococci isolated from patients with central venous catheters, *Srp Arh Celok Lek* 126:157 (1998).
- 20- Schmitz FJ, Mac Kenzie CR, Geisel R, Wagner S, Idel H, Verkoef J, Hodding U, Heinz HP: Methicillin resistant Staphylococcus aureus strains in greater Dusseldorf area, *Eur J Epidemiol* 13:709 (1997).
- 21- Shanson DC: Clinical relevance of resistance to fusidik asid in Staphylococcus aureus, *J Antimicrob Chemother* 25 (Suppl B):15 (1990).

- 22- Şalcıoğlu M, Bal , Anđ : Stafilokoklarda fusidik asit duyarlığı, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, zet Kitabı* 12.165, Antalya (1998).
- 23- Vearch LA, Pfaller MA, Barret M, Koontz FP, Wenzel RP: Vancomycin resistance in *Staphylococcus haemolyticus* causing colonization and bloodstream infection, *J Clin Microbiol* 28:2064 (1990).
- 24- Verbist L: Antimicrobial activity of fusidic acid, *J Antimicrobial Chemother* 25 (Suppl B):1 (1990).