

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA FUSİDİK ASİT DUYARLILIĞININ SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI*

Feryal ÖZTÜRK, Gözde ÖNGÜT, Hadiye DEMİRBAKAN, Duygu DAĞLAR, Filiz KIZILATEŞ,
Dilara ÖĞÜNÇ, Meral GÜLTEKİN

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

ÖZET

Şubat 2003-Haziran 2004 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 162 metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşunda fusidik asit duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Çalışmaya alınan MRSA suşlarının MİK₉₀/MİK₅₀ değerleri 0.12/0.06 µg/ml olarak saptanmıştır. Suşların 159'u (% 98) fusidik aside duyarlı bulunmuştur. Bu duyarlılık oranı ile fusidik asidin özellikle hastane infeksiyonlarında sık karşılaşılan MRSA infeksiyonlarının tedavisinde alternatif bir ilaç olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: fusidik asit, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*

SUMMARY

In Vitro Susceptibility of Fusidic Acid in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Various Clinical Specimens by Broth Microdilution Method.

Susceptibility of 162 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from various clinical specimens from February 2003 to June 2004 were tested for fusidic acid by broth microdilution method. The values of MIC₅₀/MIC₉₀ of fusidic acid for MRSA strains were determined as 0.12/0.06 µg/ml. Of all the isolates 159 (98 %) were susceptible to fusidic acid. We concluded that fusidic acid may be used as an additive alternative drug for treatment of nosocomial MRSA infections.

Keywords: fusidic acid, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*

GİRİŞ

Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direncinin ortaya çıkışı ve diğer bazı antibiyotiklere direnci de beraberinde getirmesi bu mikroorganizmanın neden olduğu infeksiyonların tedavisini ve kontrolünü güçleştirmektedir⁽²⁶⁾. Fusidik asit; çeşitli dokularda iyi dağılması, toksisitesinin ve allerjik reaksiyonlarının az olması, klinikte kullanılan diğer antibiyotiklerle çapraz reaksiyon vermemesi gibi özelliklerinden dolayı hem sistemik hem de topikal stafilokok

infeksiyonlarının tedavisinde önerilen bir ilaçtır⁽¹⁷⁾.

İlk olarak Danimarka'da Leo Laboratuvarlarında geliştirilen fusidik asit; Avrupa'da 1962 yılında, ülkemizde ise 1998 yılında oral formu ile kullanıma girmiştir. Genellikle bakteriyostatik etkili olmakla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal etki gösterebilir^(9,17,25). Antibakteriyel etkisini protein sentezini inhibe ederek gösterir. Fusidik asit ribozom elongasyon faktör G-GTP inorganik fosfat kompleksini stabilize eder ve sonuçta GTP hidrolizi inhibe olarak polipeptid zincirinin uzaması durur. Bu özgül etki mekanizması sayesinde

Yazışma adresi: Feryal Öztürk, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

Tel.: (0242) 322 80 50, (0535) 832 79 32

e-posta: feryalozturk@akdeniz.edu.tr

Alındığı tarih: 18.04.2005, revizyon kabulü: 12.09.2005

*31. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur (19-23 Eylül 2004, Kuşadası).

fusidik asit ve diğer antibiyotik grupları arasında çapraz direnç görülme olasılığı oldukça düşüktür⁽¹⁷⁾. Fusidik asitin bu özelliği metisilin dirençli stafilokoklara karşı etkin olmasına neden olmaktadır⁽²⁵⁾. Önemli yan etkilerinin olması, sadece yatan hastalarda kullanılabilmesi, tedavi maliyetinin pahalı olması glikopeptidlerin olumsuz yönleridir. Son yıllarda azalmış vankomisin duyarlılığı ve vankomisine karşı heterojen dirençli stafilokok suşlarının (VRSA) bildirilmesi özellikle metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşlarının etken olduğu infeksiyonların tedavisinde glikopeptidlere alternatif olabilecek bir antibiyotik arayışını gündeme getirmiştir^(7,17). Fusidik asit glikopeptid antibiyotiklere oral kullanım kolaylığı ve düşük maliyet açısından alternatif oluşturabilecek bir antibiyotiktir^(9,17,23).

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde fusidik asit kullanımının yaygınlık kazanmasından önce MRSA suşlarına karşı in-vitro duyarlılık oranının araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

MRSA suşları: Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nde Şubat 2003-Haziran 2004 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 162 MRSA suşu alınmıştır. *S.aureus* suşları, koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz ve tüp koagülaz testleri sonucuna göre tanımlanarak; metisilin direnci, oksasilin E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) yöntemi ile araştırılmıştır. Oksasilin E-test yöntemi üretici firmanın önerileri doğrultusunda % 2 NaCl eklenmiş Mueller Hinton Agar (Oxoid, İngiltere) besiyerlerinde uygulanmış ve 24 saat 35°C'de inkübasyon sonrası değerlendirilmiştir. Oksasilinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri ≥ 4 µg/ml olanlar metisiline dirençli olarak kaydedilmiştir⁽²¹⁾.

Fusidik asit duyarlılığı: Suşların fusidik aside duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine uyularak belirlenmiştir⁽²⁰⁾. Sonuçlar Fransa Mikrobiyoloji ve Antibiyogram Komitesinin önerilerine göre değerlendirilmiş ve buna göre fusidik asit MİK değeri ≥ 16 µg/ml olanlar dirençli, ≤ 2 µg/ml olanlar duyarlı olarak kabul edilmiştir⁽⁴⁾. Çalışmamızda kontrol suşları olarak *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 162 MRSA suşunun 47'si (% 29) trakeal aspirat, 46'sı (% 28) kan, 45'i (% 28) cerahat, 16'sı (% 10) kateter ve 8'i (% 5) diğer klinik örneklerden izole edilmiştir. MRSA suşlarında fusidik asit MİK₉₀/MİK₅₀ değerleri ise

0.12/0.06 µg/ml olarak saptanmıştır. Yüzaltmışiki MRSA suşundan 159'u (% 98) fusidik aside duyarlı bulunmuştur. Kalan üç izolatın ikisinde (% 1.2) azalmış duyarlılık (MİK= 4 µg/ml), birinde ise (% 0.6) fusidik aside direnç (MİK=16 µg/ml) saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Fusidik asit duyarlılık sonuçları.

MİK _{90/50}	Duyarlı		Az duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
0.12/0.06	159	98	2	1.2	1	0.6

TARTIŞMA

Bu çalışmada, nozokomiyal infeksiyonların önemli bir etkeni olan MRSA suşlarında fusidik asit duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Fusidik asit ABD'de lisanslı olmadığından NCCLS'in in-vitro duyarlılık değerleri için herhangi bir önerisi bulunmamaktadır. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda birbirinden oldukça farklı sınır değerleri bulunmuştur. Stafilokok suşlarında fusidik asit için duyarlılık ve direnç MİK değerlerini sırası ile; Avustralya'dan Coutant ve ark.⁽⁵⁾ ve Danimarka'dan Skov ve ark.⁽²²⁾ ≤ 0.25 mg/L ve ≥ 2 mg/L olarak bildirmişlerdir. Kanada'dan Toma ve Barriault⁽²⁴⁾ Gram pozitif koklarda duyarlılık ve direnç MİK değerlerini sırası ile < 2 ve ≥ 4 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Avustralya'dan Collignon ve Turnidge⁽³⁾ çeşitli çalışmaların verilerini inceleyerek stafilokok suşlarında fusidik asit MİK sınır değerlerini saptamaya çalışmışlar ve ≤ 0.25 mg/L değerlerinin duyarlı, ≥ 2 mg/L değerlerinin dirençli olarak değerlendirilmesini önermişlerdir. Bu değerler Fransa Mikrobiyoloji ve Antibiyogram Komitesinin⁽⁴⁾ önerisinden oldukça farklıdır (≤ 2 µg/ml duyarlı, > 16 µg/ml dirençli).

Bakterilerin antibiyotiklere direncini belirlemede kullanılan sınır değerlerinin ülkeler arasında farklılık gösterebileceği ve bir ülkede dirençli saptanan bir suşun başka bir ülke ya da bölgede duyarlı olabileceği bilinmektedir⁽¹⁵⁾. Stafilokoklarda fusidik asit MİK sınır değerlerinin bu kadar farklı olması bu durumu desteklemektedir. Fusidik asit için birçok ülkede farklı MİK sınır değerlerinin kullanılmasından dolayı duyarlılık ve direnç oranları karşılaştırılırken bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Fusidik asit MİK sınır değerleriyle ilgili çalışmaların sonuçları, bu konuda standardizasyon oluşturuluncaya dek MİK duyarlılık sınır değerinin ≤ 2 µg/ml olarak kabul edilebileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada fusidik asit duyarlılığı % 98 olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınan MRSA suşlarında fusidik asidin MİK₉₀/MİK₅₀ değerleri 0.12/0.06 µg/ml olarak saptanmıştır.

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda birbirinden oldukça farklı MİK₉₀/MİK₅₀ değerleri bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2: MRSA suşlarında fusidik asitin in-vitro inhibitör aktivitesi.

Ülke	Yıl	Suş sayısı	MİK ₅₀ (mg/l)	MİK ₉₀ (mg/l)	MİK aralığı (mg/l)	Direnç oranı (%)
ABD ⁽²⁾	1984	90	0.04	0.08	0.04-1.2	0
İrlanda ⁽¹⁹⁾	1985	185	>32	>32	0.03-64	97
İngiltere ⁽⁶⁾	1985	62	0.19		0.06-64	
Japonya ⁽¹⁴⁾	1987	27	3.13	6.25	0.1->100	51.9
Suudi Arabistan ⁽¹²⁾	1987	50	2	4	0.5-8	
ABD ⁽¹³⁾	1987	111	0.03	0.12	0.008-4	
Japonya ⁽¹⁴⁾	1988	52	>100	>100	0.2->100	88.5
21 farklı ülke ⁽¹⁸⁾	1989	106	0.12	4	0.12->16	12
Belçika ⁽²⁴⁾	1990	108	0.06	0.06	0.03-8	1
Almanya ⁽¹¹⁾	1992	100	0.125	4	0.03-8	
Fransa ⁽⁸⁾	1994	24	0.06	0.06	≤0.015-0.125	

Ülkemizde MRSA suşlarında mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmış çalışmalarda MİK₉₀/MİK₅₀ değerlerini; Kocabeyoğlu ve ark.⁽¹⁶⁾ 8/2 µg/ml, Güleröğlü ve ark.⁽¹⁰⁾ 1/0.125 µg/ml, Aygün ve ark.⁽¹⁾ < 0.125/< 0.125 µg/ml olarak saptamışlardır. Dirençli suş sayısının fazla olduğu çalışmalarda MİK₉₀/MİK₅₀ değerlerinde ve MİK dağılımlarında farklılıklar olabileceği bildirilmektedir⁽³⁾. Hastanemizde olduğu gibi fusidik asit oral formunun kullanılmadığı merkezlerde direnç gelişiminin takibi disk difüzyon sınır değerleri oluşturuluncaya kadar dilüsyon yöntemleri ile yapılmalıdır.

MRSA'nın etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonlar ciddi sorunlara neden olmaktadır. Vankomisin MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan etkin bir glikopeptiddir. Fakat son yıllarda vankomisine dirençli Gram pozitif bakteriler bildirilmektedir. Fusidik asit metisilin dirençli olanlar da dahil olmak üzere hafif ve orta şiddette stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde doğrudan veya ardışık olarak, ciddi enfeksiyonların tedavisinde ise diğer etkin antibiyotiklerle birlikte kombine kullanılabilir bir antibiyotiktir^(7,17).

Sonuç olarak; MRSA suşlarına karşı fusidik asidin in-vitro duyarlılık oranı yüksek olarak saptanmıştır. Fusidik asit, bu duyarlılık oranı ile hastanemizde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir alternatif bir ilaç olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Aygün H, Bozkurt GY, Genç A et al: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının siprofloksasin, moksifloksasin ve fusidik asit için minimal inhibitör konsantrasyonlarının araştırılması, 31. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı s. 267, Aydın (2004).
2. Chokkavelu V, Chandrasekar P, Rolston K, LeFrock JL, Schell RF: Activity of eleven antimicrobial agents against methicillin and rifampin

3. Collignon P, Turnidge J: Fusidic acid in vitro activity, *Internat J Antimicrob Agents* 1999;12:45-58.
4. Comite de'Antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie Report 2000-2001: MIC and zone diameter interpretive standards and interpretive reading rules for *Staphylococcus* spp., Paris (2001).
5. Coutant C, Olden D, Bell J, Turnidge JD: Disk diffusion interpretive criteria for fusidic acid susceptibility testing of staphylococci by the National Committee for Clinical Laboratory Standards method, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996;25:9-13.
6. Dixon S, Brunfitt W, Hamilton-Miller JM: In vitro activity of six antibiotics against multiresistant staphylococci and other Gram-positive cocci, *Eur J Clin Microbiol* 1985;4:19-23.
7. Dobie D, Gray J: Fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus*, *Arch Dis Child* 2004;89:74.
8. Drugeon HB, Caillon J, Juvin ME: In vitro antibacterial activity of fusidic acid alone and in combination with other antibiotics against methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus*, *J Antimicrob Chemother* 1994;34:899-907.
9. Gorbach SL: Fusidic acid, "Gorbach SL, Barlet GB, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*, 2. baskı" kitabında s. 313, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1995).
10. Güleröğlü S, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş: Metisiline dirençli stafilocoklarda vankomisin, teikoplanin ve fusidik asit direncinin mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması, *ANKEM Derg* 2002;16:457-62.
11. Huebner J, Kropee A, Engels I, Daschner F: In vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and slime-producing and non-slime-producing coagulase-negative staphylococci to fusidic acid, *Chemotherapy* 1992;38:206-10.
12. Ishag AJ, Durgham SM, Shibi AM: In vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to imipenem and other antimicrobial agents, *Chemiotherapia* 1987;6:261-3.
13. Jones RN, Barry AL: Antimicrobial activity of coumestrolin and recommendations for disk diffusion tests with 5 and 15 µg disks, *Diagn Microbiol Infect Dis* 1987;7:77-82.
14. Kanazaki H, Akiyama H, Kanamoto A et al: Outbreak of fusidic acid resistant *Staphylococcus aureus*, *Nippon Hifuka Gakkai Zasshi* 1989;99: 507-10.
15. Kaygusuz A: Antibiyotik duyarlılık deneyi sonuçları tedavide kullanılırken nelere dikkat edilmelidir, "Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds): *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*, 1. baskı" kitabında s. 43, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2003).
16. Kocabeyoğlu Ö, Diler M, Emekdaş G, Erdemoğlu A, Kutlu H: Türkiye'de yeni kullanıma giren fusidik asidin stafilocok suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması, 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı poster no. 159, Antalya (1998).
17. Mandell LA: Fusidic acid, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5. baskı" kitabında s. 306, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
18. Maple PAC, Hamilton-Miller JMT, Brunfitt W: World-wide antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Lancet* 1989;

- 1:537-40.
19. Moorhouse EC, Mulvihill TE, Jones L, Money D, Falkiner FR, Keane CT: The in-vitro activity of some antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J Antimicrob Chemother* 1985;15:291-5.
 20. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 12. Informational Supplement V: 22, No. 1, NCCLS, Villanova (2002).
 21. Ngui-Jen JH, Bryce EA, Porter C, Smith JA: Evaluation of the E test by using selected Gram-positive bacteria, *J Clin Microbiol* 1992;30:2150-2.
 22. Skov R, Frimodt-Moller N, Espersen F: Correlation of MIC methods and tentative interpretive criteria for disk diffusion susceptibility testing using NCCLS methodology for fusidic acid, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;40:111-6.
 23. Tabak F: Fusidik asit, "Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds): Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler, 1. baskı" kitabında s. 421, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2003).
 24. Toma E, Barriault D: Antimicrobial activity of fusidic acid and disk diffusion susceptibility testing criteria for gram-positive cocci, *J Clin Microbiol* 1995;33:1712-5.
 25. Verbist L: The antimicrobial activity of fusidic acid, *J Antimicrob Chemother* 1990;25(Suppl B):1-5.
 26. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus*, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 5. baskı" kitabında s. 2069, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).