

# Fusidik Asitin Enterokoklar ve *Streptococcus Pyogenes* Suşlarına Etkinliğinin Araştırılması

Esra Koçoğlu, Oğuz Karabay, Nevin Koç İnce, İdris Şahin

## Özet:

**Amaç:** Bu çalışmada enterokok ve A grubu beta hemolitik streptokok (*Streptococcus pyogenes*) izolatlarının fusidik asit ve bazı antibakteriyel ajanlara karşı duyarlılıklarının Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Metod:** Çalışmada, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce ve İzzet Baysal Tıp Fakültelerinin mikrobiyoloji laboratuvarlarında, 2003-2005 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden klasik yöntemlerle izole edilen 85 *Enterococcus faecalis*, 7 *Enterococcus faecium* ve 25 *Streptococcus pyogenes* izolatının fusidik asit ve antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılarak araştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan enterokok suşlarından altısı (% 7) fusidik asite duyarlı, 38'i (%41) orta derecede duyarlı, 48'i (%52) dirençli bulundu. *Streptococcus pyogenes* suşlarının altısının (%64) fusidik asite duyarlı olduğu, yedisinin (%28) orta derecede duyarlı ve ikisinin (%8) de fusidik asite dirençli olduğu saptandı.

**Sonuç:** Enterokok suşlarının fusidik asit direncinin yüksek olduğu, bu nedenle fusidik asitin enterokok infeksiyonlarında alternatif bir tedavi seçeneği olamayacağı, *Streptococcus pyogenes* infeksiyonlarında fusidik asitin etkinliğinin daha geniş seriler ile araştırılmasının uygun olacağı kanısındayız.

**Anahtar kelimeler:** Fusidik asit, Enterokok, streptococcus pyogenes, antibiyotik duyarlılığı

Enterokoklar sindirim sisteminin normal flora bakterileridir ve dış ortam koşullarına dirençli olmaları nedeniyle hasta odaları, cihazlar ve hastaya bakım veren kişilerin ellerinde bulunabilirler. Bu bakterileri önemli kılan, antimikrobik maddelere dirençli olmaları ve bu direncin başka mikroorganizmalara aktarılma olasılığıdır. Günümüzde enterokoklar, hastane infeksiyonlarına giderek artan sıklıkta neden olmaktadır. Bu durumun en önemli nedeni, enterokoklara etkisiz olan antibiyotiklerin (3.kuşak sefalosporin vb) hastanelerde sık kullanılıyor olmasıdır. Enterokokların 10'dan fazla türü bulunduğu halde klinik örneklerden en sık izole edilen iki tür *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*' dur (1).

Enterokoklar başta bazı beta laktamlar ve aminoglikozitler(düşük düzeyde) olmak üzere birçok antibiyotiğe intrensek dirençlidir. Bazı antibiyotiklere de çok çabuk direnç geliştirirler. Enterokoklarda düşük düzeyde aminoglikozit direnci bulunmasına

rağmen, aminoglikozidler ciddi infeksiyonlarda penisilin veya vankomisinle birlikte kullanılmaktadırlar. Hayatı tehdit eden enterokok infeksiyonlarında tek başına aminoglikozit ya da tek başına penisilin kullanılması durumunda tedaviden sonuç alınması mümkün değildir (2). Üstelik son yıllarda enterokoklarda yüksek düzeyde aminoglikozit direnci olduğu gözlenmektedir. Yüksek düzeyde aminoglikozit direncine, aminoglikozitleri modifiye eden enzimlerin üretimi neden olur. Ülkemizde yüksek düzeyde aminoglikozit direncinin %11-40 arasında olduğu bildirilmektedir (3). Enterokoklarla oluşan ciddi infeksiyonlarında glikopeptitlerin ayrı bir önemi bulunmaktadır. Son yıllarda glikopeptitlere dirençli enterokok suşları bildirilmeye başlanmıştır. İlk kez 1986 yılında Avrupa'dan kısa süre sonra Amerika Birleşik Devletleri'nden vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) bildirilmiştir. Uzun süre hastanede kalma, uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanma ve alta yatan ciddi hastalıklar VRE kolonizasyonunun gelişmesinden sorumlu olan nedenlerin başında gelmektedir. Ülkemizde de menenjitli bir hastanın beyin omurilik sıvısından VRE izole edildiği bildirilmiştir (4).

*Streptococcus pyogenes* (A grubu beta hemolitik streptokok) infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçilmesi gereken ilaç penisilindir. Çünkü hem ucuz, hem güvenilirdir. Ayrıca bugüne kadar penisiline dirençli *S. pyogenes* kökeni bildirilmemiştir. Penisilin alerjisi olanlarda ikinci seçenek olarak eritromisin

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu  
Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu

**Yazışma Adresi:** Dr. Esra Koçoğlu

Abant İzzet Baysal Üniversitesi

İzzet Baysal Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

41280 Gölköy BOLU

Tablo I: Fusidik asit'in Enterokok ve *Streptococcus pyogenes* üzerine etkinliđi

Bakteri	Duyarlı		Orta duyarlı		Dirençli		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Enterokok	6	7	38	41	48	52	92	100
<i>S. pyogenes</i>	16	64	7	28	2	8	25	100
Toplam	22	19	45	38	50	43	117	100

Tablo II: *Streptococcus pyogenes* kökenleri için antibiyotik duyarlılıkları

	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Ampisilin	25	100	0	0	0	0
Klindamisin	25	100	0	0	0	0
Vankomisin	25	100	0	0	0	0
Eritromisin	24	96	0	0	1	4
Siprofloksasin	23	92	2	8	0	0
Fusidik asit	16	64	7	28	2	8

Tablo III: Enterokok kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları

	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Ampisilin	83	90	1	1	8	9
Vankomisin	92	100	0	0	0	0
Siprofloksasin	57	62	28	30	7	8
Nitrofurantoin	85	92	5	6	2	2
Fusidik asit	6	7	38	41	48	52

kullanılmaktadır. Ancak başta Avrupa ülkeleri olmak üzere birçok ülkede eritromisin ve diğer makrolitlere karşı yüksek oranda direnç bildirilmektedir (5).

Fusidik asitin keşfinden sonra gram pozitif bakterilere etkinliği olan birçok antibakteriyel ilacın keşfedilmesi, fusidik asite olan ilgiyi azaltmıştır. Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Enterokok* ve *Streptococcus pyogenes* suşlarının fusidik asit ve diğer bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Etik kurul onayı alındıktan sonra, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Düzce Tıp Fakültesi ve İzzet Baysal Tıp Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarlarından 2003-2005 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen Enterokok ve *Streptococcus pyogenes* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemiyle

değerlendirildi. Enterokokların tanımlanmasında; kanlı agarda yaptıkları kolonilerin morfolojisi, koyun kanlı agarda yaptıkları hemolizin karakteri, Gram boyaması, katalaz testi, %40 safra içeren eskülinli agar besiyerinde eskülin hidrolizi ve %6.5 NaCl içeren beyin-kalp infüzyonlu sıvı besiyerinde üreme ve pirodilonil arilamidaz (PYR, PYR card, Oxoid, Hampshire, England) testleri kullanıldı. Katalaz negatif, %40 safra eskülinli besiyerinde siyahlık oluşturan, %6.5 NaCl içeren beyin-kalp infüzyonlu sıvı besiyerinde üreyen ve pirodilonil arilamidaz (PYR, PYR card, Oxoid, Hampshire, England) testi pozitif olan Gram pozitif koklar enterokok olarak tanımlandı(cümlede değişiklik yapıldı). Bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasında API 20 Strep kiti (bioMerieux, Durham, NC, USA) kullanıldı.

*Streptococcus pyogenes* tanımlanmasında koyun kanlı agarda oluşturduğu beta hemoliz ve koloni morfolojisi, basitrasin duyarlılığı, ko-trimaksazole

direnç, katalaz testi ve pirodilonil arilamidaz testleri kullanıldı. Koyun kanlı agarda beta hemoliz oluşturan, katalaz testi negatif, basitrasın duyarlı, ko-trimaksazol dirençli ve PYR testi pozitif olan gram pozitif koklar *Streptococcus pyogenes* olarak tanımlandı. Antimikrobiyal duyarlılık testleri NCCLS'in önerileri doğrultusunda yapıldı. Disk difüzyon yöntemi ile ampisilin, klindamisin, vankomisin, eritromisin, siprofloksasin, nitrofurantoin ve fusidik asit ile antibiyotik duyarlılığı araştırıldı.

### Bulgular

Çalışmaya 92 adet Enterokok ve 25 adet *Streptococcus pyogenes* kökeni dahil edildi. Enterokok kökenlerinin 85'i (% 92.4) *E. faecalis*, ve 7'si (% 7.6) *E. faecium* idi. Çalışmaya alınan enterokok kökenlerinden altısı (% 7) fusidik aside duyarlı, 38'i (%41) fusidik aside orta duyarlı ve 48'i (%52) dirençli bulundu. *Streptococcus pyogenes* kökenlerinin 16'sı (%64) fusidik aside duyarlı iken, yedisi (%28) orta derecede duyarlı ve 2'si (%8) dirençli idi. Çalışmadaki *Streptococcus pyogenes* ve enterokok kökenlerinin fusidik asit için duyarlılığını gösteren veriler Tablo 1' de sunulmuştur.

Çalışmaya alınan 25 *Streptococcus pyogenes* kökeninin hiçbirinde ampisilin, klindamisin, vankomisin ve siprofloksasin'e karşı direnç saptanmadı. Bir (% 4) köken eritromisine dirençli bulunurken, iki köken (% 8) siprofloksasine orta derecede duyarlı bulundu. *Streptococcus pyogenes* ve enterokok kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları sırasıyla Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

### Tartışma

Enterokoklar sahip oldukları mobil genetik elementler (plazmid ve transpozonlar) sayesinde son yıllarda belirgin direnç kazanmışlardır. Bunlar arasında en önemlileri yüksek düzeyde aminoglikozit direnci, glikopeptid direnci,  $\beta$  laktamaz yapımı ve diğer mekanizmalarla gelişen yüksek penisilin direncidir. Yüksek düzeyde aminoglikozit direnci 500-2000  $\mu\text{g/ml}$ 'nin üzerindeki MİK değerleri olarak tanımlanmaktadır. Yüksek düzeyli aminoglikozit direnci varlığında, hücre duvarına etkili ajanlarla aminoglikozitlerin kombinasyonlarının sinerjik özelliği kaybolmaktadır (6). Özellikle enterokok türleri ve metisiline dirençli stafilokoklarda çok sayıda farklı antibiyotik gruplarına karşı gözlenen yüksek direnç oranları dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiş ve tedavi seçenekleri kısıtlanmıştır. Dolayısıyla bu ajanlarla meydana gelen infeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç vardır.

Fusidik asit 1962 yılından beri klinik kullanımda olan, *Fusidium coccineum* mantarlarından elde edilen, steroid benzeri yapıya sahip fusidan sınıfı bir antibiyotiktir (7). Bakteriyel protein sentezi için gerekli olan elongasyon faktör G' (EF-G) yi bloke ederek bakteri ribozomuna bağlanmadan protein sentezini inhibe eder ve antibakteriyel etkisini gösterir (8). Bu ilacın bilinen önemli bir yan etkisinin olmayışı, oral yoldan kolay kullanılabilirliği önemli avantajlarındandır.

Çalışmamızda elde edilen verileri irdelemeden önce bazı sınırlamaların belirtilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Bu çalışmadaki ilk sınırlamamız; fusidik asite ait, NCCLS tarafından enterokok kökenleri için standardize edilmiş disk difüzyon değerleri yoktur. Biz bu çalışmada daha önce yayımlanan iki makaledeki değeri baz aldık (9,10). Diğer sınırlamamız ise antibiyotik duyarlılık testlerinde disk difüzyon testini kullanmamız idi. Oysa enterokok kökenlerindeki direnç, agar tarama ya da E test metotlarıyla en iyi şekilde gösterilebilir. Eğer testlerimizde bu metotlardan birini kullanabilseydik sonuçlarımız daha güvenilir olabilir.

Fusidik asitin enterokok infeksiyonlarında kullanımı ile ilgili veriler sınırlıdır. *Enterococcus faecalis*'e bağlı mitral kapak endokarditi gelişen bir olguda fusidik asit, penisilin ile kombine olarak kullanılmıştır. Başlangıçta tedaviye cevap veren olgunun durumunun, daha sonra tedavinin sefalosporin + streptomisinle değiştirilmesiyle kötüleştiği bildirilmiştir(11). Fusidik asitin in vitro aktivitesinin incelendiği bir derlemede streptokoklara etkinliğinin çok iyi olmadığı vurgulanmış, ancak özellikle VRE kökenlerinde başka bir alternatif yoksa kullanılabilirliği bildirilmiştir (12). Çalışmamızda 92 adet enterokok kökeninden sadece altısı (%7) fusidik aside duyarlı bulunmuştur. Dolayısıyla, disk difüzyon testiyle yaptığımız sonuçlarımız baz alındığında, fusidik asitin enterokok infeksiyonları için bir tedavi alternatifini olmaktan uzak olduğu söylenebilir. Çalışmamızdaki enterokok kökenlerinde vankomisin direnci saptanmamıştır. Bu durum, kökenleri topladığımız iki hastanenin yeni kurulan hastaneler olmasına ve sınırlı sayıda yoğun bakım yatak kapasitesinin olmasına bağlı olabilir.

Fusidik asitin streptokoklara etkinliğini değerlendiren çalışma sayısı azdır. Leclercg ve ark. (13) cilt infeksiyonundan izole edilen 242 adet streptokok suşunun fusidik asit duyarlılığını araştırdıkları bir çalışmada, kökenlerin %5.8'inin fusidik asite dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Streptococcus pyogenes* kökenlerinde bulduğumuz % 8'lik fusidik asit direnci literatür ile uyumludur. Ancak çalışmamızda sadece 25 adet *Streptococcus pyogenes* kökeni olduğunu vurgulamamız gerekir. Dolayısıyla bu konuda daha

fazla sayıda köken içeren çalışmalarla daha geçerli veriler elde edilebileceği düşünülebilir. Penisiline karşı alerji bulunan olgularda eritromisin birçok infeksiyonda alternatif tedaviyi oluşturmaktadır. Bu çalışmada *Streptococcus pyogenes* kökenlerinde eritromisine karşı %4 oranında direnç saptanmıştır. Ülkemizin değişik merkezlerinde yapılan araştırmalarda %2.6-3.3 arasında eritromisin direnci bildirilmiştir (14,15). Bizim saptadığımız %4'lük direnç sadece bir izolattan kaynaklanmaktadır ve eritromisin direncindeki bu yüksekliğin *Streptococcus pyogenes* köken sayısının az olmasıyla ilgili olduğu düşünülebilir. Penisilin alerjisi olan olgularda fusidik asit, eritromisine alternatif tedavi seçeneği olabilir. Ancak, fusidik asit steroid yapılı bir antibiyotiktir ve immün sistemi baskılayabileceği hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (16). Dolayısıyla fusidik asidi bir alternatif olarak sunmadan önce bu konuyla ilgili daha fazla sayıda örnek ile yeni klinik çalışmalara gereksinim olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak; fusidik asitin enterokok infeksiyonlarında alternatif bir tedavi seçeneği olamayacağı, *Streptococcus pyogenes* infeksiyonlarındaki etkinliğinin ve alternatif bir tedavi seçeneği olup olamayacağının anlaşılması için daha geniş serilerle yeni çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

### Assessment of Susceptibility of Enterococci and *Streptococcus Pyogenes* to Fusidic Acid

#### Abstract:

**Aim:** This study was aimed to evaluate the susceptibility of *Enterococcus* species and *Streptococcus pyogenes* to fusidic acid and some other antimicrobial agents using Kirby Bauer disc diffusion method.

**Method:** In this study, 85 *Enterococcus faecalis*, 7 *Enterococcus faecium* ve 25 *Streptococcus pyogenes* isolates that were identified in microbiological laboratory of Duzce Medical Faculty and Izzet Baysal Medical Faculty of Abant Izzet Baysal University between the years of 2003 and 2005, were studied. The susceptibility of isolates to fusidic acid and to some other antibiotics was investigated by using Kirby Bauer disc diffusion method.

**Results:** Six (7%) *Enterococcus* species that were assessed in this study were found to be susceptible to fusidic acid, 38 (41%) strains showed intermediate susceptibility. Forty eight (%52) *enterococcus* isolates were resistant to fusidic acid. Of the *Streptococcus pyogenes* species, 6 isolates (%64) were susceptible to fusidic acid, 7 (%28) showed intermediate susceptibility, and 2 (%8) isolates were resistant to fusidic acid.

**Conclusion:** Our results indicate that fusidic acid may not be an alternative treatment modality in enterococcal infections since the susceptibility was found to be low in these species. Further studies with larger series may be

*helpful to investigate the effectiveness of fusidic as an alternative therapy in Streptococcus pyogenes infections.*

**Key words:** Fusidic acid, *Enterococcus*, *Streptococcus pyogenes*, Antibiotic susceptibility

### Kaynaklar

1. Gürler N: Hastanede sorun olan mikroorganizmalar: Gram pozitif koklar. 3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongre Kitapçığı, Samsun, 2003;36-39.
2. Ulusoy S.Dirençli Gram pozitif kok infeksiyonlarında antimikrobiyal tedavi ve glikopeptid antibiyotikler. Edited by Ulusoy S. Gram pozitif kok infeksiyonları sorun ve çözümler. Ankara. Güneş Kitabevi, 2003; 59-67.
3. Çınar T, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Sünbül M, Esen Ş, Günaydın M.Enterokoklarda penisilin ve aminoglikozit sinerjisinin araştırılması. Klimik Dergisi. 12:39-42, 1999.
4. Inan D, Gunseren F, Colak D, Saba R, Kazan S, Mamikoglu L. First confirmed case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis in Turkey: case report and literature review. J Chemother. 16: 608-611, 2004.
5. Kobayashi I, Hasegawa M, Kanayama A, Saika T, Shimada J. Alarming trend of clarithromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Japan (1998-2002). J Infect Chemother. 11: 56-58, 2005.
6. Korten V: Hastane infeksiyonlarına yol açan Gram pozitif bakterilerde direnç durumu, In: Gram Pozitif Kok İnfeksiyonları Sorun ve Çözümleri. Edited by Ulusoy S. Ankara, Güneş Kitabevi, 2003, pp 11-15.
7. Godtfredsen W, Roholt K, Tybring L. Fucidin: a new orally active antibiotic. Lancet. 1: 928-931, 1962.
8. Mandell LA. Fusidic acid. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Edited by Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. 4th ed., New York; Churchill Livingstone, 1995, pp: 278.
9. Toma E, Barriault D. Antimicrobial activity of fusidic acid and disk diffusion susceptibility testing criteria for gram-positive cocci. J Clin Microbiol. 33: 1712-1715, 1995.
10. 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. 25: 9-13, 1996.
11. Smith H. Intravenous penicillin: the use of large doses in the treatment of endocarditis. Postgrad Med J. 43: 785-796, 1967.
12. Collignon P, Turnidge J. Fusidic acid in vitro activity. Int J Antimicrob Agents. 12: S45-58, 1999.
13. Leclercq R, Bismuth R, Casin I, Cavallo JD, Croize J, Felten A, Goldstein F, Monteil H, Quentin-Noury C, Reverdy M, Vergnaud M, Roiron R. In vitro activity of fusidic acid against streptococci isolated from skin and soft tissue infections. J Antimicrob Chemother. 45: 27-29, 2000.

14. Akata F, Ozturk D, Tansel O, Tatman-Otkun M, Otkun M, Fitoussi F, Bingen E, Tugrul M. Resistance to macrolides in Group A streptococci from the European section of Turkey: genetic and phenotypic characterization. *Int J Antimicrob Agents*. 20: 461-463, 2002.
15. Gazi H, Kurutepe S, Surucuoglu S, Teker A, Ozbakkaloglu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. *Indian J Med Res*. 120: 489-494, 2004.
16. Bellahsene A, Forsgren A. Effect of fusidic acid on the immune response in mice. *Infect Immun*. 29: 873-878, 1980.