

## ***Staphylococcus aureus* kökenlerinde fusidik asit ile levofloksasin ve siprofloksasin arasındaki in-vitro antagonizmanın araştırılması (\*)**

### ***Investigation of in vitro antagonism between ciprofloxacin and levofloxacin with fusidic acid in Staphylococcus aureus strains***

Asuman İnan<sup>1</sup>, Serda Gülsün<sup>2</sup>, İlknur Erdem<sup>1</sup>, Naz Oğuzoğlu<sup>3</sup>, Seniha Ş. Akçay<sup>3</sup>, Seyfi Ç. Özyürek<sup>1</sup>, Paşa Göktaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, <sup>2</sup>Diyarbakır Devlet Hastanesi, Diyarbakır, <sup>3</sup>Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul

İletişim / Correspondence: Asuman İnan Adres / Address: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul E-mail: asumaninan@hotmail.com

#### **ÖZET**

Stafilokok enfeksiyonları, toplumda ve hastanelerde gittikçe artan sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Fusidik asit, metisiline dirençli kökenler de dahil olmak üzere stafilokokkal enfeksiyonların tedavisinde tek olarak veya diğer antimikrobiklerle kombine edilerek kullanılan bir antibiyotiktir. Bu çalışmada, hastanemizdeki çeşitli klinik örneklerden elde edilen ve enfeksiyon etkeni olarak belirlenen *Staphylococcus aureus* kökenlerinde, fusidik asit ile kombinasyon rejimlerinde yer alan siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki in-vitro antagonizma disk yaklaşım yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam 115 *S. aureus* kökeninin 33(%28.6)'ünde fusidik asit ile siprofloksasin arasında, 27(%23.4)'ünde fusidik asit ile levofloksasin arasında antagonizma saptanırken; iki kökende fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin, bir kökende fusidik asit ile levofloksasin arasında sinerjizm olduğu belirlenmiştir. Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) kökenlerindeki fusidik asit ile siprofloksasin arasındaki antagonizma oranı %38.9, Metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) kökenlerinde %17.8 olarak bulunmuş olup; sonuçlar kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). MRSA kökenlerindeki fusidik asit ile levofloksasin arasındaki antagonizma oranı %30.5, MSSA kökenlerinde %16.0 olarak bulunmuş ve kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Bu antagonistik etkinin nedeni ve klinik yansımaları henüz net olarak bilinmemektedir. Ancak, in-vitro olarak duyarlılık saptanmış olsa bile, fusidik asit ve siprofloksasin veya levofloksasin kombinasyonları ile tedavi uygulamalarında daha dikkatli olmak gerektiği kanısına varılmıştır

**Anahtar kelimeler:** Fusidik asit, siprofloksasin, levofloksasin, in-vitro antagonizma

#### **SUMMARY**

Nowadays staphylococcal infections has increasingly emerged in hospitals and community. Fusidic acid is used in the treatment of staphylococcal infections including methicillin resistant isolates, alone or in combination with other antibacterial agents. In this study, antibacterial antagonism between fusidic acid with ciprofloxacin and levofloxacin in staphylococci strains isolated from various clinical samples was investigated by agar disk diffusion method. It was detected that an antagonism between fusidic acid with ciprofloxacin in 33(28.6%), and fusidic acid with levofloxacin in 27(23.4%) of 115 *S.aureus* strains. Synergy was seen in the two strains between fusidic acid with ciprofloxacin and levofloxacin, in the one strain among fusidic acid with levofloxacin. The antagonism rate between fusidic acid with ciprofloxacin was 38.9% in MRSA strains, 17.8 in MSSA strains. There was a significant difference between these rates ( $p<0.05$ ). The antagonism rate between fusidic acid with levofloxacin was 30.5% in MRSA strains, 16.0% in MSSA strains. There was no statistical significance between the two results ( $p>0.05$ ).

The reason for this interaction and its clinic implications are not known. It was concluded that it should be more careful in combined treatment of fusidic acid with ciprofloxacin and levofloxacin, even if it was found a susceptibility with these combinations.

**Keywords:** Fusidic acid, ciprofloxacin, levofloxacin, in-vitro antagonism

(\*) XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde (15-20 Kasım 2005, Antalya) sunulmuştur.

## GİRİŞ

Stafilokoklar hastane infeksiyonu etkeni olarak günümüzde yeniden önem kazanmakta; özellikle *Staphylococcus aureus*; impetigo, sellülit ve yara infeksiyonu gibi yumuşak doku infeksiyonlarının; osteomyelit, septik artrit, bakteremi gibi metastatik infeksiyonların, haşlanmış deri ve toksik şok sendromu etkeni olarak öne çıkmaktadır. Son yıllarda stafilokoklarda artan metisilin direncinin yanı sıra glikopeptidlere azalmış duyarlılık gösteren veya dirençli kökenlerle oluşan infeksiyonların da görüldüğü bildirilmektedir. Metisiline dirençli kökenlerin aynı zamanda florokinolonlar, makrolidler ve aminoglikozidlere de çoğul direnç göstermesi zorluklara yol açmakta ve bu durum yeni tedavi arayışlarını gündeme getirmektedir (1,2).

Stafilokokal infeksiyonların tedavisinde kullanılan ajanlardan olan Fusidik asit, Fusidium coccineum mantarından elde edilen, fusidan sınıfı bir antimikrobiyal olup, kimyasal olarak sefalosporin P1 ve helvolik asit ile ilişkilidir. Bakteriyel protein sentezi için gerekli olan elengasyon faktör G (translokaz)'yi bloke etmek yoluyla, bakteri ribozomuna bağlanmadan protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel etkinlik gösterir. Etki mekanizmasındaki bu özgüllük fusidik asit ile diğer antibiyotikler arasında çapraz direnç gelişimini önlemektedir. Düşük dozlarda bakteristatik etki gösterirken, yüksek dozlarda bakterisit etkilidir. Fusidik asidin klinik uygulama açısından önemi metisiline dirençli kökenler de dahil olmak üzere, *S.aureus* ve *S.epidermidis*'in etken olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılabilmesidir (3,4).

Tedavide sıklıkla kullanılan bir diğer grup kinolonlar olup; bunlardan siprofloksasin ve levofloksasin florokinolonlar grubunun üyeleridir. Florokinolonlar çoğu *Enterobacteriaceae* üyesi ile, Gram negatif basiller, Gram negatif koklar, *S.aureus* ve *S.epidermidis* gibi mikroorganizmalara karşı etkilidir. Florokinolonlar, topoizomeraz sınıfı enzimlerden, DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek, bakteriyel DNA sentezini bozarlar. *S.aureus* kökenlerinde birçok kino-

lonun primer hedefi topoizomeraz IV olarak görülmektedir. Bazı kinolonlar ise her iki enzimi de aynı oranda inhibe etmekte ve bu nedenle direnç gelişimine daha az rastlanmaktadır (5,6).

Bir çalışmada(7), *S.aureus* ile yapılan rutin antibiyotik duyarlılık testleri sırasında rastlantısal olarak yanyana gelen fusidik asit ile siprofloksasin diskleri arasında antagonizma şeklinde bir etkileşim olduğu gözlenmiş ve bunu izleyerek disk yaklaşma yöntemi ile bu iki antibakteriyel ajan arasında gerçek bir antagonizma olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden soyutlanan ve etken olduğu saptanan MRSA ve MSSA kökenlerinde, fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki in-vitro antagonizma varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden (kan, yara yeri, trakeal aspirat) elde edilen ve etken olduğu saptanan, 59(%51.3)'u metisiline dirençli (MRSA), 56(48.6)'sı metisiline duyarlı (MSSA) olmak üzere toplam 115 *S.aureus* kökeni çalışmaya alınmıştır. İzolatlar koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz testi, koagülaz testi ve DNaz testi ile tanımlanmıştır. Metisilin duyarlılığını ortaya koymak için %4 NaCl içeren Mueller-Hinton Agar (Oxoid) ve oksasilin diski (1µg, Oxoid) kullanılmıştır.

Kökenlerin siprofloksasin ve levofloksasin duyarlılığı National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, M2-A6, M100-S11) önerileri doğrultusunda 5µg (Oxoid) siprofloksasin ve 5µg (Oxoid) levofloksasin diskleri kullanılarak, disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır (8,9). Fusidik asit duyarlılığı ise fusidik asit 10µg (Oxoid) diskleri kullanılarak, Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie kriterlerine göre saptanmıştır (10). Kontrol kökeni olarak *S.aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.

Her bir köken için bu antibiyotiklerin zon çap-

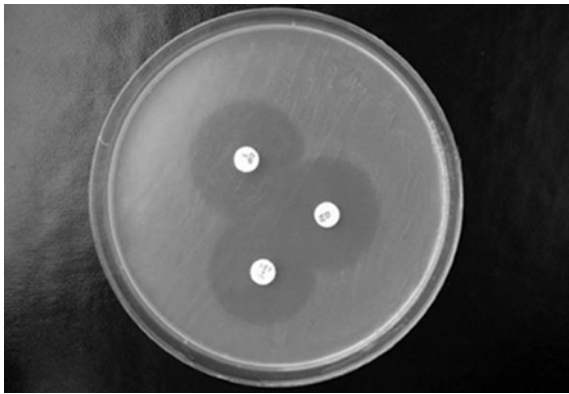
ları belirlendikten sonra, disk yaklaşırma testi ile aralarındaki etkileşim değerlendirilmiştir. Bu amaçla 0.5 McFarland yoğunluğundaki bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar (MHA) yüzeyine yayılmıştır. Fusidik asit diski plağın merkezine, diğer iki antibiyotik diski fusidik asit ile aralarındaki uzaklık inhibisyon zon yarıçaplarının toplamı olacak şekilde yerleştirilmiş ve 35°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Disklerin birbirine bakan taraflarında inhibisyon zon çapının iki mm ve daha fazla daralması in-vitro antagonizma olarak değerlendirilmiştir.

İstatiksel hesaplamalar için Fisher's exact test kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 115 *S.aureus* kökeninin 33(%28.6)'ünde fusidik asit karşısında siprofloksasinin zon çapında 2 mm ve daha fazla daralma görülürken, 27(%23.4)'sinde fusidik asit karşısında levofloksasinin zon çapında daralma görülmüş ve bu şekilde antagonizma varlığı olarak değerlendirilmiştir. Şekil 1'de *S.aureus* kökeninde fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki antagonizma görülmektedir.

Şekil 1. *S.aureus* kökeninde fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki antagonizma:



MRSA kökenlerinin 23(%38.9)'ünde fusidik asit ile siprofloksasin arasında, 18(%30.5)'inde fusidik asit ile levofloksasin arasında antagonizma olduğu saptanmıştır. MSSA kökenlerinin 10 (%17.8)'ünde fusidik asit ile siprofloksasin arasında,

9(%16.0)'unda fusidik asit ile levofloksasin arasında antagonizma varlığı belirlenmiştir. MRSA kökenlerindeki fusidik asit ile siprofloksasin arasındaki antagonizma oranı, MSSA kökenlerinde aynı oran ile kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). MRSA kökenlerinde fusidik asit ile levofloksasin arasındaki antagonizma oranı, MSSA kökenlerindeki aynı oran ile kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Tablo 1'de MRSA ve MSSA kökenlerinde fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki antagonizma oranları sunulmuştur.

Tablo 1. MRSA ve MSSA kökenlerinde fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki antagonizma oranları

	MRSA (n:59)		MSSA (n:56)		Toplam (n:115)	
	n	%	n	%	n	%
Fusidik asit-siprofloksasin antagonizma	23	38.9	10	17.8 ( $p<0.05$ )	33	28.6
Fusidik asit-levofloksasin antagonizma	18	30.5	9	16.0 ( $p>0.05$ )	27	23.4

İki kökende fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasinin; bir kökende fusidik asit ile levofloksasinin zon çaplarının birbirine bakan yüzünde genişleme saptanmış ve bu bulgu sinerjizma olarak değerlendirilmiştir.

## TARTIŞMA

Stafilokoklar çok çeşitli infeksiyonlara neden olabilen, özellikle hastane infeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralarda yer alan, Gram pozitif koklardır. Fusidik asit, stafilokokların etken olduğu, akut ve kronik osteomyelit, septik artrit, endokardit, yanıklar da dahil olmak üzere yumuşak doku infeksiyonları ve kistik fibrozisli hastaların alt solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle metisiline dirençli stafilokoklarla meydana gelen kronik infeksiyonlarda, direnç gelişmesini önlemek için fusidik asidin diğer antistafilokokal antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılması önerilmektedir (3,4). Fusidik asit ve diğer antistafilokokal antibiyotiklerin in vitro kombinasyonlarının etkilerini araştırılan çok sa-

yıda araştırma olmasına rağmen, özellikle florokinolonlarla yapılan az sayıda çalışma bulunduğu ve genellikle araştırılan köken sayısının sınırlı olduğu görülmektedir (10-14).

Uri (7), 1992 yılında *S. aureus* kökenleri ile yaptığı rutin antibiyotik duyarlılık testi sırasında raslantısal olarak siprofloksasin ile fusidik asit arasında antagonizma saptamış, daha sonra disk yaklaşırma testini kullanarak bu iki antimikrobiyal arasında gerçek bir antagonizma olduğunu göstermiştir. Bu antagonistik etkinin siprofloksasinin yapısındaki kinolon halkasının N1 pozisyonuna bağlı siklopropil halkasından kaynaklandığı, bu halkayı içeren enrofloksasin, sparfloksasin ve WIN57273 gibi kinolonlar ile fusidik arasında antagonizma görüldüğü, ancak bu halkayı içermeyen enoksasin, norfloksasin, pefloksasin ve ofloksasin ile fusidik asit arasında antagonizma saptanmadığı bildirilmiştir.

Roder ve Gutschik (11), zamana bağımlı ölüm (time-kill) yöntemi ile 10 *S. aureus* kökeninde yaptıkları çalışmada, siprofloksasin, fusidik asit ve rifampisin tek olarak ve ayrıca siprofloksasin ile fusidik asit ve rifampisin kombinasyonlarının etkilerini incelemişlerdir. Fusidik asit ve rifampisin siprofloksasinin bakterisidal aktivitesini antagonize ettiğini göstermişlerdir.

Visalli ve ark.(12), dama tahtası ( checkerboard ) dilüzyon yöntemiyle Gram pozitif ve negatif bakterilerde travofloksasinle diğer ajanlar arasındaki sinerjistik aktiviteyi araştırdığı çalışmada; 10 metisiline hassas, 10 metisiline dirençli stafilokok kökeninden travofloksasin ile üç kökende fusidik asit, bir kökende, rifampisin, bir kökende fusidik asit ve iki kökende vankomisin arasında sinerjistik etki saptamışlar, hiçbir kökende antagonizma görülmediğini bildirmişlerdir.

Hoşgör ve ark.(13), *S. aureus* kökenleri üzerinde fusidik asit ile siprofloksasin arasında antagonizma varlığını disk difüzyon yöntemiyle incelemişler; 131 *S. aureus* kökeninin 24'ünde (%18) fusidik asit ile siprofloksasin arasında antagonizma, bir kökende her iki antibiyotik arasında sinerjizm olduğunu saptamışlardır.

Ertek ve ark.(14), 15'i *S. aureus*, 11'i koagülaz negatif stafilokok olmak üzere toplam 26 stafilokok kökeniyle yaptıkları çalışmada, fusidik asit ile ofloksasin, levofloksasin, siprofloksasin ve moksifloksasin arasındaki antagonizma varlığını disk yaklaşırma testi ile araştırmışlar; 26 suşun tümünde kinolonlar ile fusidik asit arasında antagonizma saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada 59 MRSA ve 56 MSSA olmak üzere toplam 115 stafilokok kökeninde, fusidik asit ile siprofloksasin ve levofloksasin arasındaki in-vitro etkileşim incelenmiş olup; MRSA kökenlerinin 23(%38.9)'ünde fusidik asit ile siprofloksasin arasında, 18(%30.5)'inde fusidik asit ile levofloksasin arasında; MSSA kökenlerinin 10(%17.8)'unda fusidik asit ile siprofloksasin arasında, 9(%16.0)'unda fusidik asit ile levofloksasin arasında antagonizma varlığı belirlenmiştir. Fusidik asit ile kinolonlar arasındaki antagonizmanın MRSA kökenlerinde daha yüksek oranda gözlemlendiği saptanmıştır. Ayrıca Ertek ve ark'nın çalışması ile benzer olarak sadece yapısında N<sub>1</sub> pozisyonuna bağlı siklopropil halkası içeren siprofloksasin ile değil, bu halkayı içermeyen bir kinolon olan levofloksasin ile de fusidik asit arasında antagonizma varlığı belirlenmiş ve fusidik asit ile kinolonlar arasındaki antagonizmanın bu yapısal özellikten kaynaklanmayabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak; günümüzde *S. aureus* kökenlerinde saptanan bu antagonistik etkinin nedeni ve klinik yansımaları henüz net olarak bilinmemektedir. Ancak, in-vitro olarak duyarlılık saptanmış olsa bile fusidik asit ve siprofloksasin veya levofloksasin kombinasyonları ile tedavi uygulamalarında daha dikkatli olmak gerektiği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Moreillon P, Que Y, Glauser MP. Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). " Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds) : Principles and Practice of Infectious Diseases", p2321, 6th Ed, Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
2. Marchese A, Schito GC, Debbia EA: Emergence of drug-resistant gram- positive pathogenic bacteria. J Chemother

2000; 12(Suppl.2): 12

3. Mandell LA: Fusidic acid. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, p326, 6th Ed, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005.
4. Willke Topçu A, Gündeş GS: Fusidik asit. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, s260, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005.
5. Hooper DC. Quinolons. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, p424, 6th Ed, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005.
6. Takei M, Fukuda H, Kishii R, Hosaka M. Target preference of 15 quinolones against *Staphylococcus aureus*, based on antibacterial activities and target inhibition. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 3544.
7. Uri JV. Antibacterial antagonism between fusidic acid and ciprofloxacin. Acta Microbiologica Hung 1993; 40: 141.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. Performance Standarts for Antimicrobial Aisk Susceptibility Test.

- 6th ed. Approved Standart M2-A6. Wayne, Pa: NCCLS (1997).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. 11th Informational Supplement M100-S12. Wayne, Pa: NCCLS (1997).
10. Comite de L'antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie. Communique Path Biol. 1996; 44:1.
11. Roder BL, Gutschik E. In-vitro activity of ciprofloxacin combined with either fusidic acid or rifampicin against *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemoter 1989; 23:347.
12. Visalli MA, Bajaksouzian S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Synergistic activity of travofloxacin with other agents against Gram-positive and negative organisms. Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 30: 61.
13. Hoşgör M, Ermertcan Ş, Eraç B, Coşar G. Siprofloksasin ve fusidik arasındaki antagonizma, İnfeks Derg 2000; 14: 99.
14. Ertek M, Yazgı H, Erol S, Altoparlak Ü. The demonstration of antagonism in-vitro among fusidic acid and quinolones. J Int Med Res. 2002; 30:525.