

## Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Üreten Escherichia coli İzolatlarında Tigesiklin Duyarlılığının Belirlenmesi

### *Determination of Susceptibility to Tigecycline in Extended Spectrum Beta-lactamase Producing Escherichia coli Isolates*

Fırat Zafer Mengeloğlu, Tekin Taş, Esra Koçoğlu, Özlem Bucak

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

#### Özet

**Amaç:** Escherichia coli dünyada en sık enfeksiyon yapan patojenlerden biridir. E. coli suşları toplum ve hastane kaynaklı önemli enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Kolay direnç kazanması tedavide zorluklara neden olmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşlarda tedavi seçenekleri azalabilmektedir. Araştırmacılar tedavi seçeneklerinin sınırlı kalmasından dolayı alternatif arayışlarına devam etmektedir. Bir glisilsiklin türevi olan tigesiklin (GAR-936) son yıllarda kullanıma giren bir ajandır. Bu çalışmada Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden elde edilen GSBL üreten E. coli izolatlarında tigesikline duyarlılık oranının in vitro olarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** : Toplam 100 GSBL üreten E. coli izolatına için tigesiklin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir.

**Bulgular:** Tigesiklinin izolatlara karşı MİK değerleri 0,125-4 µg/ml aralığında bulunmuş, buna göre izolatların 97'si (%97) tigesikline duyarlı, üçü (%3) ise orta duyarlı bulunmuştur. MİK50 değeri 0,5 µg/ml, MİK90 değeri ise 2 µg/ml olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda elde edilen bulgular, hastanemizde GSBL üreten E. coli nedenli enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinin halen uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** GSBL, Escherichia coli, Tigesiklin, Mikrodilüsyon.

#### Abstract

**Objective:** Escherichia coli is one of the most common pathogens causing infection in the world. E. coli strains can lead to emergent community- and hospital-acquired infections. Treatment of ESBL producing E. coli infections encounter difficulties due to the resistance which is easily acquired. Treatment options may decrease particularly in the strains producing extended-spectrum beta-lactamase (ESBL). Researchers continue to search for an alternative due to the limited treatment options. Tigecycline (GAR-936), a derivative of glycylcycline, is an agent accepted for the usage for treatment in recent years. In this study, it was aimed to investigate the in vitro susceptibility rate of ESBL producing E. coli strains isolated from various clinical specimens in microbiology laboratory of Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine to tigecycline.

**Method:** Minimum inhibitory concentration (MIC) of tigecycline were determined with broth microdilution method for a total of 100 ESBL producing E. coli isolates.

**Results:** MIC values of tigecycline to the isolates were found between a range of 0.125-4 µg/ml, according to this 97 (97%) of the isolates were determined as susceptible and 3 (3%) were found as intermediate to tigecycline. The MIC50 value was found 0.5 µg/ml and MIC90 was 2 µg/ml.

**Conclusion:** The findings obtained from our study shows that tigecycline is still an appropriate alternative in treatment of infections caused by ESBL producing E. coli in our hospital.

**Keywords:** ESBL, Escherichia coli, Tigecycline, Microdilution.

#### Giriş

Toplum ve hastane kaynaklı önemli enfeksiyonlara yol açabilen Escherichia coli kolay direnç kazanmasından dolayı tedavide zorluklara neden olmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşlarda tedavi seçenekleri azalabilmektedir (1-3).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi bakteride sefepim, sefazolin, sefuroksim, ve seftriakson gibi sefalosporinlere karşı etkili beta laktamaz üretimini ifade etmektedir. Bakteriler arası

direnç genlerinin aktarımıyla direnç kazanılmakta ve sefalosporinler tedavide etkisiz kalabilmektedir. GSBL üreten E. coli suşları hem hastane enfeksiyonları arasında sıklıkla görülmekte, hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlarda izole edilmektedir (1-4).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten E. coli suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda tedavide karşılaşılan güçlüklerden dolayı araştırmacılar alternatif arayışlarına devam etmektedir.

#### İletişim Bilgisi / Correspondence

Yard. Doç. Dr. Fırat Zafer Mengeloğlu, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD 14280 Bolu - Türkiye

E-mail: mengelolu@gmail.com

Tel: +90 374 2534656/3264

Geliş tarihi / Received: 10.04.2013

Kabul tarihi / Accepted: 16.04.2013

Çıkar Çatışması / Conflict of Interest: Yok / None



Bir minosiklin türevi olan tigesiklin (GAR-936) Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan ilk glisilsiklin antibiyotiktir ve son yıllarda kullanıma giren bir ajandır. Tigesiklin yapı olarak tetrasiklinin temel çekirdeğinde yapılan N-alkil-glisilamid modifikasyonu sonucu oluşturulmuştur. Bu antimikrobiyal; bakterinin 30S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve amino-açıl transfer RNA'nın hedefe girişini engelleyerek etki eder (3-5).

Yapısal olarak tetrasiklinlere benzerlik göstermesine rağmen tigesiklin bakterilerin tetrasikline karşı gösterdikleri iki direnç mekanizmasından da etkilenmemektedir. Bu mekanizmaların ilkinde tetrasikline özgül pompa mekanizması için tigesiklin zayıf bir substrat özelliği göstermektedir. İkinci mekanizmada ise bakteri ribozomlarında tetrasiklin bağlanmasını engelleyen Tet(M) proteininin neden olduğu değişiklikten tigesiklin etkilenmemekte ve ribozomlara bağlanabilmeyi sürdürmektedir. Tigesiklin, geri dönüşlü olarak ribozomun 30S alt birimine bağlanır ve protein sentezini inhibe eder. Bu bağlanma tetrasiklinlerin bağlanmasından 5 kat daha güçlüdür (3-5). Tigesiklin, günümüzde geniş Gram pozitif ve Gram negatif bakteri spektrumu nedeniyle klinik kullanımda önemli bir yere sahiptir (4-5).

Bu çalışmada Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden elde edilen GSBL üreten E. coli izolatlarında tigesikline duyarlılık oranının in vitro olarak araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

### İzolatlar

Çalışmamıza mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden yollanan örneklerden elde edilen ve GSBL ürettiği belirlenen toplam 100 E. coli izolatı dahil edilmiştir. İzolatların elde edildiği örneklere göre dağılımı tablo-1'de gösterilmiştir. Çalışmaya enfeksiyon etkeni olarak belirlenen tüm GSBL üreten E. coli izolatları dahil edilmiştir. Aynı hastanın değişik örneklerinden aynı izolatın elde edildiği durumlarda, o hastaya ait tek izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

### GSBL tarama testleri

Kültürde izole edilen bakterilerden Gram negatif basil morfolojisinde olan kolonilerden konvansi-

yonel yöntemlerle E. coli identifikasyonu yapılan izolatların GSBL üretimi amoksisilin-klavulonik asit ve sefepim, seftriakson ve sefuroksim gibi sefalosporin diskleri ile yapılmış olan çift disk sinerji testiyle taranmıştır.

### Sıvı mikrodilüsyon testleri

Pozitif bulunan izolatlar için sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle tigesiklin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir.

Mikrodilüsyon yönteminde katyon ayarlı Müller Hinton sıvı besiyeri (Himedia, Hindistan) dağıtılmış mikroplak kuyucuklarına 64 µg/ml'den 0,125 µg/ml'ye kadar belirlenmiş konsantrasyonlarda seri dilüsyonlar halinde tigesiklin (Tigecycline hydrate, Sigma Aldrich, Almanya) konulmuştur. Kuyucuklara 0,5 McFarland bulanıklık standardına ayarlanmış E. coli süspansiyonlarından yapılan 1/10'luk seri dilüsyonlardan 5 mikrolitre kuyucuklara (yaklaşık 5 x 10<sup>5</sup> bakteri) eklenmiştir. Yirmidört saat 370 C'de inkübasyon sonrasında kuyucuklardaki üremeler değerlendirilmiş ve her bir izolat için MİK değerleri belirlenmiştir. MİK değerleri FDA kriterlerine göre yorumlanmıştır (4). Buna göre ≤2 µg/ml olan izolatlar duyarlı, ≥8 µg/ml olanlar dirençli kabul edilmiştir. Sonuçlara göre MİK50 ve MİK90 değerleri hesaplanmış ve antibiyotiğin antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir.

### Kalite kontrol

Çalışmada kalite kontrolü amacıyla standart suş olarak E. coli ATCC 25922 kullanılmıştır.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Versiyon 15.0) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir.

### Bulgular

Çalışmada elde edilen MİK değerlerinin dağılımı tablo-2'de gösterilmiştir. Tigesiklinin izolatlara karşı MİK değerleri 0,125-4 µg/ml aralığında bulunmuş, buna göre izolatların 97'si (%97) tigesikline duyarlı, üçü (%3) ise orta duyarlı bulunmuştur. MİK50 değerleri 0,5 µg/ml, MİK90 değerleri ise 2 µg/ml olarak saptanmıştır.

**Tablo-1.** Elde edilen izolatların örneklere göre dağılımı

Örnek	İzolat sayısı
İdrar	65
Kan	20
Balgam	12
Yara	3
Toplam	100

**Tablo-2.** İzolat sayılarının MİK değerlerine göre dağılımı.

Duyarlılık	MİK değerleri (µg/ml)	İzolat sayısı (n)	Toplam
Duyarlı	0,125	2	97
	0,25	14	
	0,5	46	
	1	25	
	2	9	
Orta duyarlı	4	3	3
Toplam		100	100

**Tablo-3.** Ülkemizde GSBL üreten *E. coli* izolatlarıyla yapılmış çeşitli çalışmalarda tigesikline ait MİK verileri.

Çalışma	Yıl	Toplam izolat sayısı (n)	Duyarlılık oranı (%)	MİK <sub>50</sub> (µg/ml)	MİK <sub>90</sub> (µg/ml)
Bu çalışma	2013	100	97,0	0,5	2
Karlı ve ark. (6)	2010	100	100		
Vardar-Ünlü ve ark. (7)	2009	100	100	0,25	0,5
Karaoğlu ve ark. (11)	2008	40	97,5	0,5	1
Kaya ve ark. (8)	2007	9	100	0,25	0,94
Korten ve ark. (9)	2007	164	100	0,19	0,5
Altındış ve ark.(10)	2007	28	1	0,25	1

Çalışmamızda MİK<sub>50</sub> değeri 0,5 µg/ml, MİK<sub>90</sub> değeri ise 2 µg/ml olarak saptanmıştır. Vardar-Ünlü ve ark. (7) MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,5 µg/ml; Karaoğlu ve ark. (11) 0,5 µg/ml ve 1 µg/ml; Kaya ve ark. (8) 0,25 µg/ml ve 0,94 µg/ml; Korten ve ark. (9) 0,19 µg/ml ve 0,5 µg/ml; Altındış ve ark. (10) 0,25 ve 1 µg/ml olarak bildirmişlerdir (Tablo-3).

Çalışmamızda bulunan MİK<sub>90</sub> değerinin diğer çalışmalardakine göre yüksek olması *E. coli* izolatlarının tigesikline duyarlılığının azalmaya başladığı düşüncesini desteklemektedir. Bununla birlikte %97'lik bir duyarlılık oranı tigesiklinin *E. coli*'ye karşı etkinliğinin devam ettiğini göstermektedir.

## Tartışma

Dünyada en sık hastalık etkenlerinden olması ve tedavisinde yaygın olarak antibiyotik kullanımı, kolay direnç kazanan *E. coli* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde yeni ajan arayışlarının devam etmesine neden olmaktadır (1-3). Tigesiklin, son yıllarda kullanıma giren, etkili, ve direnç kazanımının diğer ajanlara göre daha seyrek geliştiği bir antimikrobiyaldir (1-4).

Çalışmamızda tigesikline duyarlılık oranı %97 olarak bulunmuştur. Bu oranı Karlı ve ark. (6), Vardar-Ünlü ve ark. (7), Kaya ve ark. (8), Korten ve ark. (9) ve Altındış ve ark. (10) %100; Karaoğlu ve ark. (11) %97,5 (39/40), olarak bildirmişlerdir (Tablo-3). Çalışmamızda bulunan duyarlılık oranı ülkemiz verileriyle yakın olmakla birlikte, orta duyarlı suş sayısının üç olması *E. coli*'nin tigesikline duyarlılığının azalmaya başladığı düşündürmektedir.

Çalışmamızda elde edilen bulgular, hastanemizde tigesiklinin GSBL üreten *E. coli* enfeksiyonlarında halen uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir. Ayrıca zaman içinde *E. coli* izolatlarının söz konusu ilaca karşı kazanacakları olası direnç durumunda günümüz suşlarına ait veriler karşılaştırma amaçlı kullanılabilir.

## FİNANSAL DESTEK

Bu Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kapsamında Desteklenmiştir (PROJE NO: 2013.08.01.578).

## KAYNAKLAR

1. Pullukçu H, Ulusoy S: Tigesiklin. Flora. 2008; 13(Ek 3): 3-16.
2. Taşova Y. Tetrasiklinden tigesikline. ANKEM Derg. 2010; 24(Ek 2): 36-44.
3. Çalık N, Akova M. Tigesiklin. ANKEM Derg. 2007; 21 (ek-2): 29-33.
4. Stein GE, Craig WA. Tigecycline: A Critical Analysis. Clin Infect Dis. 2006; 43(4): 518-24.
5. Estes KS, Derendorf H. Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin and daptomycin. Eur J Med Res. 2010; 15: 533-43.
6. Karlı Ş, Ceran N, Genç İ, İnan A, Öztürk D, Taşdemir C, Uzun B, Aksaray S, Göktaş P. Toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen GSBL pozitif Escherichia coli suşlarında tigesiklin duyarlılığının araştırılması. ANKEM Derg. 2010; 24(4): 209-14.
7. Vardar-Ünlü G, Ünlü M, Yağmuroğlu A, Yıldırım D. Efficacy of Tigecycline to Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Clinical Specimens. ANKEM Derg. 2009; 23(1): 22-5
8. Kaya I, Göker G, Bal Kayacan Ç, Gürler N: Yoğun bakım isolatı Gram negatif bakterilerde tigesiklin duyarlılığı. ANKEM Derg. 2007; 21(3): 142-5.
9. Korten V, Söyletir G, Leblebicioğlu H, Usluer G, Dünder D. In vitro activity of tigecycline against pathogens from Turkey-TEST Program 2006. Int J Antimicrob Agent. 2007; 29(Suppl 2): S517.
10. Altındış M, Şafak B, Demirdal T, Çetinkaya Z, Aktepe OC. Kan kültürlerinden izole edilen etkenlerde tigesiklin duyarlılığı. ANKEM Derg. 2007; 21(3):171-4.
11. Karaoğlan İ, Zer Y, Namıduru M. GSBL pozitif Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarında tigesiklinin in-vitro etkinliği. ANKEM Derg. 2008; 22(2): 69-71.

