

## Metisiline dirençli stafilocok suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması

### Investigation of activity of tigecycline against methicillin-resistant staphylococci strains

Ayşegül OPUŞ<sup>1</sup>, Recep KEŞLİ<sup>1</sup>, Muhammet Güzel KURTOĞLU<sup>1</sup>, Asuman GÜZELANT<sup>1</sup>, Elif Bilge UYSAL<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Amaç Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocoklar (MRKNS) dünya genelinde önemli enfeksiyon etkenleridir. Vankomisin ve diğer glikopeptit antibiyotikler MRSA ve MRKNS ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan belli başlı antibiyotiklerdir. Metisiline dirençli stafilocok suşlarının yüksek prevalansı, vankomisin kullanımında artışa yol açmıştır. Bu durum ise metisiline dirençli stafilocoklarda glikopeptitlere duyarlılığın azalmasına neden olmuştur. Vankomisine duyarlılığı azalmış olan MRSA suşlarının yol açtığı enfeksiyonların tedavi seçenekleri sınırlıdır. Tigesiklin MRSA ve/veya MRKNS' nin yol açtığı enfeksiyonların antimikrobiyal tedavileri için alternatif olarak göz önünde tutulmalıdır. Bu çalışmanın amacı tigesiklinin çeşitli kliniklerden izole edilen metisiline dirençli stafilocok suşlarına karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesidir.

**Yöntem:** Stafilocok suşları Ocak ve Aralık 2010 tarihleri arasında Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilmiştir. İzole edilen suşlar konvansiyonel metodlar ve tam otomatik bakteri identifikasyon ve duyarlılık sisteminin (Phoenix 100, BD, Sparks, USA) her ikisi kullanılarak tanımlanmıştır. Metisilin direnci disk difüzyon yöntemi

#### ABSTRACT

**Objective:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin-resistant coagulase negative staphylococci (MRCNS) are important cause of infections worldwide. Vancomycin and other glycopeptide antibiotics are mainstay of therapy for infections caused by MRSA and MRCNS. High prevalence of methicillin resistant staphylococci strains led to increased use of vancomycin. This situation caused to reduction of glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant staphylococci. Treatment options of infections due to MRSA with reduced susceptibility to vancomycin are limited. Tigecycline should be take into consideration as an antimicrobial therapeutic alternative for infecitons caused by MRSA and/or MRCNS. The aim of this study was to determine *in vitro* antimicrobial activity of tigecycline against methicillin-resistant staphylococci strains isolated from various clinical specimens.

**Method:** Staphylococcus strains isolated at the Microbiology Laboratory of Konya Education and Research Hospital in between January and December in 2010. The isolated strains were identified by using both conventional methods and fully automated bacteria identification and susceptibility system (Phoenix 100, BD, Sparks, USA). Methicillin resistance was determined

<sup>1</sup> Konya Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, KONYA

<sup>2</sup> Sivas Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SİVAS

İletişim / Corresponding Author : Recep KEŞLİ

Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, KONYA

Tel : +90 332 323 67 09-2039

E-posta / E-mail : recepkesli@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 15.07.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.79553

Opuş A, Keşli R, Kurtoğlu MG, Güzelant A, Uysal EB. Metisiline dirençli stafilocok suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(3): 121-6.

(oksasilin 1 µg ve sefoksitin 30 µg diskleri) Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün (Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI) talimatlarına göre uygulanmış ve değerlendirilmiştir. İzole edilen suşlar için tigesiklinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri E-test metodu (bio-Merieux Marcy l'Etoile, France) ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** Seksen beş dirençli stafilocok suşunda 35 (%41)'i *Staphylococcus aureus* ve 50 (%59)'si koagülaz negatif stafilocok olarak tanımlanmıştır. Otuz beş MRSA izolatu için tigesiklinin MİK değerleri şu şekilde bulunmuştur: MİK<sub>50</sub>: 0,094 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 0,5 µg/ml, 50 MRKNS izolatu için ise MİK<sub>50</sub>: 0,047 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 0,25. Bütün izolatların tamamı tigesikline duyarlı (%100) bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları tigesiklinin MRSA ve MRKNS izolatlarının her ikisine karşı etkili *in vitro* antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Tigesiklin, dirençli MRSA ve MRKNS etkenlerinin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde alternatif antibiyotiklerin tamamının dirençli olduğu durumlarda son seçenek olarak tercih edilebilir.

**Anahtar Sözcükler:** Tigesiklin, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, Metisiline dirençli koagülaz-negatif stafilocok, E-test.

and evaluated according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) instructions by using disc diffusion method (oxacillin 1 µg and cefoxitin 30 µg discs) Minimum inhibitory concentration (MIC) values of tigecycline for isolated strains were detected with E-test method (bio-Merieux Marcy l'Etoile, France).

**Results:** Of all the eighty five methicillin-resistant staphylococci strains 35 (41%) were identified as *Staphylococcus aureus* and 50 (59%) coagulase negative staphylococci. MIC values of tigecycline for the 35 MRSA isolates were MIC<sub>50</sub>: 0.094 µg/ml, MIC<sub>90</sub>: 0.5 µg/ml and for the 50 MRCNS isolates were MIC<sub>50</sub>: 0.047 µg/ml, MIC<sub>90</sub>: 0.25 µg/ml. All isolates (100%) were found to be sensitive to tigecycline.

**Conclusion:** Results of this study showed that tigecycline was effective *in vitro* antimicrobial activity against both MRSA and MRCNS isolates. Tigecycline may be preferred as a last choice in the treatment of resistant infections due to the MRSA and MRCNS that alternative antibiotics were all resistant.

**Key Words:** Tigecycline, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant coagulase negative staphylococci, E-test.

## GİRİŞ

Staphylococcus çok sayıda tür içeren, deri ve mukozalarda kolonize olabilen, değişik türleri ile farklı hastalıklar yapan önemli bir bakteri cinsidir; *Staphylococcus aureus* ise çok sayıdaki patojenik faktörü ile çeşitli doku ve organlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilen bu cinse ait en önemli türdür. *Staphylococcus aureus* dışında kalan koagülaz negatif stafilocok (KNS) türleri ise, geçmişte sadece flora elemanı olarak kabul edilmişken; günümüzde özellikle hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasında yer almış ve önemleri giderek artmıştır. Penisilin yaygın olarak kullanımının ardından kısa süre içinde penisilin direnci, metisilin kullanımından bir yıl sonra da metisilin direnci tanımlanmıştır

(1). MRSA suşları tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençlidir. Ayrıca beta-laktam dışı antibiyotiklerin çoğuna da direnç geliştirmiş olmaları nedeniyle bu etkenle oluşan ağır enfeksiyonların tedavisinde glikopeptid antibiyotikler ilk seçenek olmuştur (2).

Son yıllarda Vancomycin Intermediate *S. aureus*'lar (VISA) ve hetero-rezistan suşların oranlarında artış olması sonucu glikopeptid ilaçlara alternatif olabilecek başka anti-biyotiklere ihtiyaç duyulmuştur (3). Tigesiklin (GAR-936), klasik tetrasiklinlerin semi-sentetik analogu olan glisilsiklin grubunun ilk üyesidir (4). Tetrasiklinlerin temel çekirdeğindeki dokuz pozisyonunda yapılan N-alkyl-

glycylamido modifikasyonu bu yeni moleküle çok geniş bir antibakteriyel spektrum ve tetrasiklin direnç mekanizmalarına karşı dayanıklılık sağlamıştır. Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu iki farklı genetik mekanizmaya (ribozomal korunma ve efluks mekanizmaları) karşı dirençli olması en önemli özelliğidir (5). Gram pozitif ve gram negatif bakteriler, atipik bakteriler ve anaeroplara dâhil olmak üzere geniş bir etki alanına sahiptir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* (PRSP), vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), genişletilmiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi çoğul dirençli bakteriler de etki alanına girmektedir (6).

Bu çalışmada, klinik örneklerden soyutlanan metisiline dirençli 35 *S. aureus* (MRSA) ve 50 metisiline dirençli koagülaz negatif *Staphylococcus* (MRKNS) suşu olmak üzere toplam 85 metisilin dirençli stafilokok suşunun tigesikline direnci, E-test yöntemi ile araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Her hastaya ait sadece bir suş olmak üzere, Ocak ve Aralık 2010 tarihleri arasında Konya Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 85 MRSA ve MRKNS suşu çalışmaya alınmıştır. Bakteriler koloni morfolojisi, üreme ve Gram boyanma özelliği, katalaz ve koagülaz testleri gibi konvansiyonel yöntemler ve tam otomatik bakteri tanımlama ve duyarlılık sistemine (Phoenix 100, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) ait Gram pozitif tanımlama panelleri kullanılarak tanımlanmıştır. Bakterilerin metisilin duyarlılık testleri, disk difüzyon yöntemi ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI) kriterlerine göre uygulanmış ve değerlendirilmiştir (7). Bu amaçla Müeller-Hington agarda (Mueller Hington Agar, Becton

Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany) oksasilin diski (1 µg) ile çalışılmış, inhibisyon zon çapı ≤10 mm olanlar MRSA olarak tanımlanmadan önce bir kez de sefoksitin (30 µg) diski ile test edilmiştir. Tigesiklin aktivitesini değerlendirmek için E-test yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan suşlar %5 koyun kanlı agara (Columbia Agar with 5% Sheep Blood, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany) pasajlanmış, üreyen bakteri buyyon içinde süspansiyon edilerek McFarland 0,5 bulanıklık standardına ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonundan Mueller Hington besiyerine sürüntü ekim yapılarak E- test stripleri (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) yerleştirilmiş, 37 °C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda inhibisyon zonunun E-test şerit kenarını kestiği noktadaki antimikrobiyal yoğunluğu MİK olarak belirlenmiştir. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29.213 kullanılmıştır (7). Sonuçlar Food and Drug Administration (FDA) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (Bu kuruluş tigesiklin için ≤2 µg/ml değerlerini duyarlı, ≥8 µg/ml değerlerini dirençli olarak kabul etmektedir) (8).

## BULGULAR

Çalışmada hem MRSA, hem de MRKNS suşları arasında tigesikline dirençli suşa rastlanamamıştır. Tigesiklinin 35 MRSA suşu için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,094 µg/ml ve 0,5 µg/ml, 50 MRKNS suşu için MİK<sub>50</sub>: 0,047 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 0,25 µg/ml olarak bulunmuştur (Tablo 1).

**Tablo 1.** MRSA ve MRKNS suşlarında E-test yöntemi ile tigesiklinin MİK değerleri (µg/ml).

Tigesiklin	MRSA	MRKNS
MİK <sub>50</sub>	0,094	0,047
MİK <sub>90</sub>	0,5	0,25

## TARTIŞMA

Metisilin direncine sahip ve beta-laktamaz enzimi üreten *S. aureus* suşlarının oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli sorunlar ortaya çıkarmaktadır (9). MRSA ve MRKNS suşlarında direncin artması, yakın zamana kadar gelişmesi beklenmeyen glikopeptid direncinin görülmesi (önce Japonya ve ABD’de) ve vankomisine azalmış duyarlılık gösteren suşların bildirilmesi yeni antibiyotiklere gereksinim olduğunun göstermiştir (10-12). Tigesiklin çoğul ilaç direnci gösteren mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli yeni antimikrobiyal ilaçlardır. Türkiye’de 2008 yılında klinik kullanıma girmiştir (8-9). Dünyada ve ülkemizde bu ilaçların Gram pozitif mikroorganizmalara etkinliğini belirleyen çok sayıda *in vitro* duyarlılık testi yapılmıştır. İspanya’da Betriu ve ark., linezolid ve tigesikline dirençli MRSA suşu saptamamışlar ve MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 1 ve 0,5 µg/ml olarak bulmuşlardır (13). Hope ve ark. bakteriyemilerden izole edilen MRSA ve MRKNS suşlarında tigesiklinin mükemmel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir (14). Hoban ve ark., TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial) programı bünyesinde 11 ülkeden, 6.792 Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerinde değişik antibiyotiklerin *in-vitro* aktivitesini 348 MRSA suşunda linezolid ve tigesiklinin MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 2 ve 0,25 µg/ml olarak tespit etmişlerdir (15). The Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST) çalışması 2004 yılında ABD’de farklı coğrafi bölgelerden izole edilen 3.989 Gram negatif ve Gram pozitif klinik kökenin incelendiği ve tigesiklinin 13 farklı antibiyotikle *in vitro* etkinliğinin karşılaştırıldığı yeni bir çalışmadır. MRSA için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri

4 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre tigesiklinin metisilin ve vankomisin duyarlılığına bakılmaksızın *S. aureus* kökenlerine etkinliğinin çok iyi olduğu sonucuna varılmıştır. (16). Tunçkanat ve ark.’nın yaptığı bir çalışmada, tigesiklin MİK değer aralıkları, çalışmaya alınan 127 MRSA suşu için 0,032-1 µg/ml (MİK<sub>50</sub>: 0,25 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 0,75 µg/ml), MRKNS izolatları için ise 0,047-1 µg/ml olarak (MİK<sub>50</sub>: 0,25 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 0,5 µg/ml) saptanmıştır (17). Kao ve ark.’nın çalışmasında vankomisin MİK değeri 2’nin üzerinde olan 470 MRSA suşunda %100 oranında tigesiklin duyarlılığı saptanmıştır (18). Kaya ve ark. 60 MRSA suşundan sadece birinin tigesiklin MİK değerinin duyarlılık sınırı üzerinde olduğunu bildirmişlerdir (19). Öksüz ve ark., 2009’da gerçekleştirdiği 49 MRSA suşunda %2, 59 MRKNS suşunda %3 oranında direnç saptanmış ve suşların izole edildiği hastaların tedavisinde tigesiklin kullanılmadığından, antibiyotik kullanımına bağlı olmayan bir mekanizma ile örneğin MATE efluks pompası ailesi yoluyla direnç gelişmiş olabileceğini düşünmüşler (20). 2009’da García-Rodríguez JA ve ark.’nın İspanyada yaptığı çok merkezli bir çalışmada MRSA için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri 0,125-0,25 µg/ml olarak bulunmuştur (21). Çalışmamızın sonuçları yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermiştir.

Sonuç olarak, tigesiklinin hastanemizde klinik örneklerden soyutlanan MRSA ve MRKNS suşlarına karşı etkin ve antimikrobiyal tedavide kullanılabilecek yeni bir alternatif antibiyotik olduğu düşünülmektedir. Ancak bu antibiyotiğe karşı da direnç gelişebileceği akıldan çıkartılmamalı kullanımı sırasında azami dikkat gösterilmeli ve sadece uygun endikasyonlarda tercih edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Sevgican E, Sınırtaş M, Özakin C, Gedikoğlu S. *Staphylococcus* türlerinde metisilin direncinin farklı yöntemlerle saptanması. *İnfeksiyon Dergisi*, 2009; 23: 63-8.
2. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). Philadelphia, Pennsylvania, Elsevier Churchill Livingstone, 2005; p. 2321-51.
3. Dowzicky MJ, Chmelařová E. Global *in vitro* activity of tigecycline and linezolid against Gram-positive organisms collected between 2004 and 2009. *Int J Antimicrob Agents*, 2011; 37(6): 562-6.
4. Petersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, Sum PE, Testa RT. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of novel glycylycylamine, the 9-t-butylglycylamido derivate of minocycline (GAR-936). *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43: 738-44.
5. Arslan U, Yüksekaya Ş, Işık F, Tuncer İ. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının linezolid ve tigesikline in-vitro duyarlılığı. *Ankem Derg*, 2006; 20: 210-3.
6. Sorlozano A, Gutierrez J, Roman E, de Dios Luna J, Roman J, Liebana J, et al. A comparison of the activity of tigecycline against multiresistant clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007; 58: 487-9.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Gür D: Çeviri editörü): Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayını, İstanbul, 2008.
8. Noskin GA. Tigecycline: A new glycylycylamine for treatment of serious infections. *Clin Infect Dis*, 2005; 41: 303-14.
9. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother*, 2005; 56(3): 470-80.
10. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*, 1997; 40: 135-6.
11. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agent Chemother*, 2004; 48: 275-80.
12. Zhanel GG, Karlowsky JA, Rubinstein E, Hoban D. Tigecycline: A novel glycylycylamine antibiotic. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2006; 4: 9-25.
13. Betriu C, Rodriguez-Avial I, Sanchez BA, Gómez M, Alvarez J, Picazo JJ; Spanish Group of Tigecycline et al. *In vitro* activities of tigecycline (GAR-936) against recently isolated clinical bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46: 892-5.
14. Hope R, Livermore DM, Brick G, Lillie M, Reynolds R. Non-susceptibility trends among staphylococci from bacteremias in the UK and Ireland, 2001-06. *J Antimicrob Chemother*, 2008; 62: 65-74.
15. Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson BM, Johnson JL, Dowzicky MJ. Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program) Group: *In vitro* activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global tigecycline evaluation and surveillance trial (TEST Program, 2004). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2005; 52: 215-27.
16. Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson BM, Johnson JL, Hsiung A, dowzicky MJ. *In vitro* activity of tigecycline against 3989 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the United States Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program; 2004). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2005; 52: 173-9.
17. Tunçkanat F, Sarıbaş Z, Ercis S. Metisiline dirençli stafilokok klinik izolatlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması, 8. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı s.216-7, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:57, İstanbul, 2008.
18. Kao TM, Wang JT, Weng CM, Chen YC, Chang SC. *In vitro* activity of linezolid, tigecycline, and daptomycin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates from adult patients. 2006-2008: Stratified analysis by vancomycin MIC. *J Microbiol Immunol Infect*, 2011; 20: in press.

19. Kaya O, Akçam FZ, Temel EN. *In vitro* activities of linezolid and tigecycline against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microb Drugs Resist*, 2008; 14(2): 151-3.
20. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilocok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere *in vitro* duyarlılık sonuçları. *Ankem Derg*, 2009; 23(2): 71-7.
21. García CP, Juliet LC, Fernández VA, San Martín SM, Cifuentes DM, Porte TL, et al. Multicenter study on the monitoring of *in vitro* susceptibility to tigecycline in Santiago, Chile. *Rev Chilena Infectol*, 2009; 26: 220-6.