

YENİ BİR DOĞAL ANTİBİYOTİK: “TEİKSOKAKTİN”

A NEW NATURAL ANTIBIOTIC: TEIXOBACTIN

Gülseren AKTAŞ*

ÖZET

Ciddi sağlık problemlerine sebep olan antibiyotik direnci, etkili yeni antimikrobiyal maddelerin klinik kullanıma girmesinden çok daha hızlı bir şekilde ortaya çıkmakta ve yayılmaktadır. Antibiyotiklerin çoğu toprak mikroorganizmalarından elde edilmişlerdir. Bu, kültürü yapılabilen sınırlı sayıdaki toprak bakterilerini, 1960’lı yıllara kadar yoğun olarak antibiyotik üretiminde kullanılmışlardır. Doğal ortamlarda yaşayan mikroorganizmaların yaklaşık olarak % 99’unun *in vitro* şartlarda kültürü yapılamamış bakteriler olduğu ve bunların henüz keşfedilememiş yeni antibiyotiklerin kaynağı olduğu bildirilmiştir.

Kültürü yapılamamış mikorganizmaları üretmek için doğal ortamlarının veya özel üreme faktörlerinin kullanıldığı yeni bir teknoloji geliştirilmiştir. Bu teknoloji ile henüz kültürü yapılamamış *Eleftheria terrae* olarak isimlendirilen yeni bir toprak bakterisinden, “teiksobaktin” olarak isimlendirilen yeni bir antibiyotik elde edildiği bildirilmiştir. “Teiksobaktin”, Gram-pozitif bakterilerde peptidoglikanın öncü maddesi olan ve çok iyi korunmuş lipid II’ye ve hücre duvarındaki teikoik asidin öncü maddesi olan lipid III’e bağlanır. Böylece, hücre duvarı sentezini engelleyerek bakterisit etki gösterir. “Teiksobaktin”, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ile kanda ve *Streptococcus pneumoniae* ile akciğerlerde enfeksiyon oluşturulmuş iki hayvan modeli üzerinde denenmiştir. Sonuçta, tüm denenen hayvanlar başarılı bir şekilde tedavi edilmişler ve hiçbirinde direnç gelişimi gözlenmemiştir. Eğer onaylanırsa, “teiksobaktin” yeni bir antibiyotik sınıfının ilk üyesi olacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal ilaç direnci; Gram-pozitif bakteriler; teiksobaktin.

ABSTRACT

Antibiotic resistance is spreading faster than the introduction of new antimicrobials into clinical practice, causing a public health crisis. Most antibiotics were produced by screening soil microorganisms. This limited resource of cultivable bacteria was overmined by the 1960s. It is reported that uncultured bacteria by *in vitro* conditions make up approximately 99% of all species in external environments, and are a source of new antibiotics which could not be explored yet. The new technology for growing uncultured organisms by cultivation *in situ* or by using specific growth factors have been developed. As a result, it is reported that a new antibiotic termed as teixobactin has been discovered in the screening of the new soil bacterium named as *Eleftheria terrae*. Teixobactin has bactericidal effects in Gram-positive bacteria inhibiting cell wall synthesis by binding to lipid II which is a highly conserved precursor of peptidoglycan and lipid III which is a precursor of cell wall teichoic acid. It has been tested in two animal infection models: blood infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and lung infections of *Streptococcus pneumoniae*. As a result, all animals were treated successfully and none developed resistance. If teixobactin is approved, it will be the first of a new class of antibiotics.

Key words: Antimicrobial drug resistance; gram positive bacteria; teixobactin.

GİRİŞ

Penisilinin 1928 yılında keşfini takiben 1943 yılında streptomisin keşfedilmesiyle, 1940’lı yıllardan itibaren önce penisilin, sonra streptomisin tedavide kullanıma sunulmuş ve böylece antibiyotik çağı

başlamıştır. Gittikçe artan sayıda ve geniş yelpazede antibiyotik kullanımına girmesi, dönemin en yaygın hastalıklarının etkili şekilde tedavi edilmelerine olanak sağlayarak tıpta büyük bir değişim başlatmıştır (1,2). Günümüzde bakterilerde antibiyotik direncinin

Date received/Dergiye geldiği tarih: 08.09.2016 – Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 12.01.2017

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: gulserena2001@yahoo.co.uk)

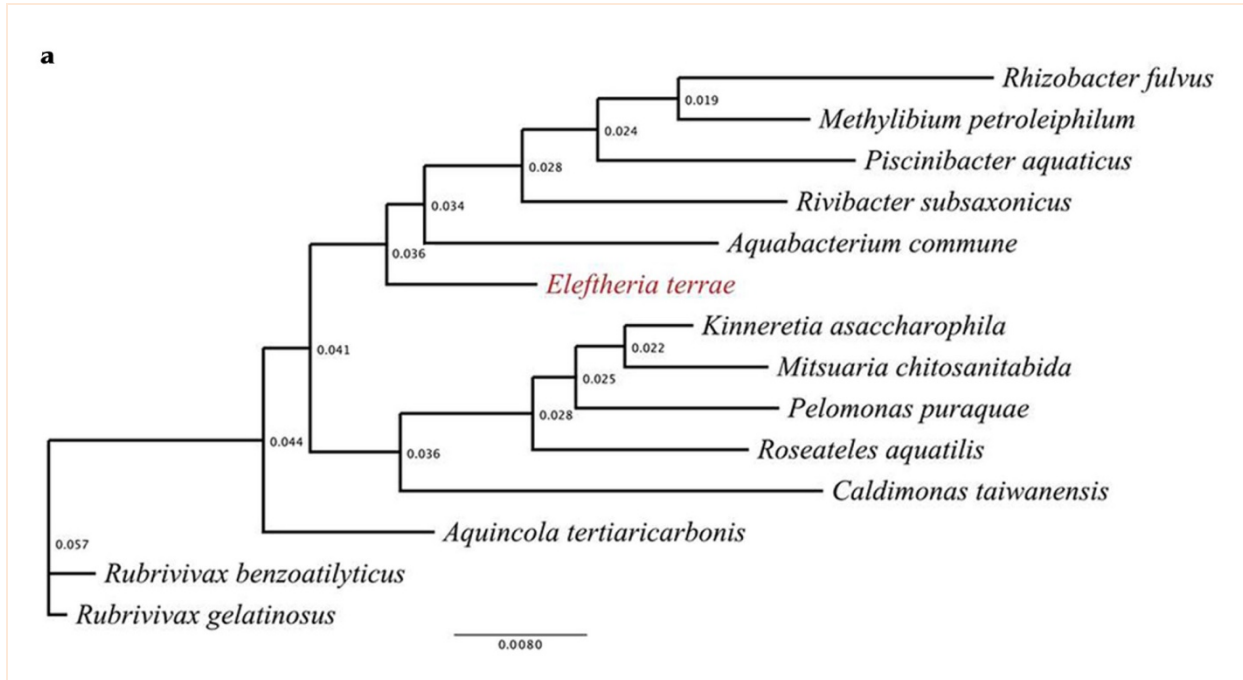
Yeni bir doğal antibiyotik

gelişmesi ve yayılımı dünyada yaşayan tüm insanlar için önlenemeyen bir tehdit oluşturmaya devam etmektedir (1,3,4).

Son yarım yüzyılda, direnç gelişimine karşı tek seçenek, yeni antimikrobiyal maddelerin keşfedilmesi olmuştur. 1960'lara kadar elde edilebilmiş sınırlı sayıdaki antibiyotiklerin aşırı kullanımı, antibiyotik keşfi çağının sonunu getirmiştir. Klinikte kullanılan antibiyotiklerin çoğu, kültürü yapılabilen az sayıda toprak mikroorganizmalarından elde edilmiştir. Sentetik antimikrobiyaller bakteri hücrelerine yeterli oranda penetre olamamasından dolayı doğal olanların yerini alamamıştır. Doğal ürünler, hedef mikroorganizmalara penetrasyon zorluğunu aşarlar. Yeni antibiyotik kaynağı olabilecek toprak mikroorganizmalarının %99'undan çoğunun *in vitro* şartlarda kültürü yapılamadığı için bu faydalı bakterilerden antibiyotiklerin keşfedilmesi yıllar önce durmuştur. Günümüzde, önceki yıllarda kültürü yapılamamış bu toprak mikroorganizmalarını üretmek için kendi doğal ortamlarının kullanıldığı çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Böylece doğal ortamlarında üretilen bakterinin daha önce farkedilemeyen gen ürünlerinin elde edilmesi ve kimyasal farklılıklarının ortaya çıkarılması sağlanabilmektedir (2,5-7).

Bir grup araştırmacı, geliştirdikleri iChip teknolojisi ile toprak bakterilerini *in vitro* şartlarda üretmeyi başararak bu bakterilerden farklı yapı ve etki

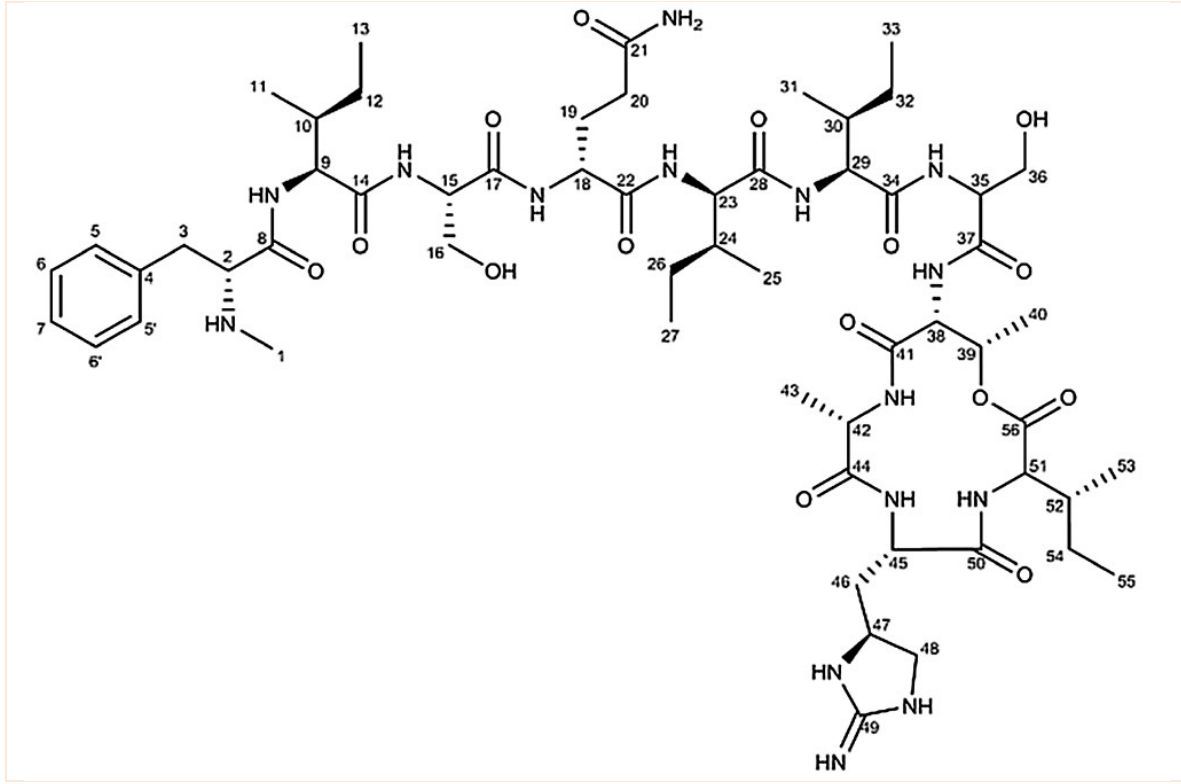
mekanizmasına sahip olan yeni bir hücre duvarı inhibitörü elde etmişlerdir. İChip teknolojisi, çevre mikroorganizmalarının kendi doğal ortamlarında üremelerine imkan veren bir sistemdir. Üzerinde toplam 384 delik olan (72-19-1mm) bir plastik levha, kültürü yapılacak doğal ortam süspansiyonu içine daldırılır. Plaktaki her bir delik, ortamın bakterilerini de içeren süspansiyon sıvısını içinde hapseder-tutar. Daha sonra deliklerin üst ve alt yüzeyine yarı geçirgen membran yerleştirilir ve bunlarında üstüne delikleri aynı hizada olacak şekilde delikli üst ve alt plaklar yerleştirilerek sıkıca vidalanır. Bu sistem, doğal ortamında inkübe edilir. İnkübasyon sonrası plaklar ayrılır, membranlar deliklerde bulunan bakterilerle birlikte alınır ve laboratuvar şartlarında üremeleri sağlanır. Araştırmacılar, bu şekilde önce kendi doğal ortamında, daha sonra da besin maddeleri ve üreme faktörleri katarak *in vitro* şartlarda üretmeyi başardıkları *Eleftheria terrae*'den, "teiksobaktin" olarak isimlendirilen yeni bir hücre duvarı inhibitörü antimikrobiyal madde elde edildiğini bildirmişlerdir. *E. terrae* yeni keşfedilen bir bakteridir. Bakteri genomunun dizi analizi çıkarılmıştır. Yapılan 16S rRNA ve DNA/DNA hibridizasyon sonuçlarına göre bu mikroorganizmanın genetik olarak *Aquabacteria*'larla yakın akrabalık ilişkisinin olduğu belirlenmiştir (7) (Şekil 1). Taksonomide beta-proteobacteria sınıfı içinde yer alır. Ürettiği



Şekil 1: *Eleftheria terrae*'nin filogenetik ağaçta, yakın akrabaları arasındaki yeri (7)*

"teiksobaktin" molekülünün, bir çeşit aminoasit olan "enduracididine", bir metilfenilalanin ve dört D-aminoasitten oluşan makrosiklik bir depsiyeptid olduğu bildirilmiştir (Şekil 2). *E. terrae* keşfedilene kadar *Aquabacteria*'lar içinde antibiyotik üreten bir mikroorganizma bilinmemektedir (7-9).

Etki mekanizması: Teiksobaktin" Gram-negatif bir bakteri tarafından üretilir. Bakteri, ürettiği bu maddeyi dışarı atar ve tekrar içeri girmesi engellenir. Böylece, kendisini antibiyotiğin etkisinden korur (7).



Şekil 2. “Teiksobaktin”nin formül yapısı (7)*

“Teiksobaktin”, Gram-pozitif bakterilerde peptidoglikan öncü maddesi olan ve çok iyi korunan lipid II’ye ve hücre duvarındaki teikoik asidin öncü maddesi olan lipid III’e bağlanarak etkili olur. Hücre duvarı teikoik asit oluşumunun geç dönem sentezi aşamasında engellenmesi, üretilmiş toksik etkili ara ürünlerin birikimine neden olur. Bu da bakterisit etkiyi oluşturur. Ayrıca, teikoik asitler, peptidoglikan sentezini önleyen otolizinleri bağlar. Bu da bakteriyi otolizinlerinin yıkıcı etkisinden korur. “Teiksobaktin”, bakteri hücresi teikoik asidin öncü maddelerine (lipid III) bağlanarak teikoik asitin sentezlenmesini engelleyip, otolizinlerin serbest kalmasına ve hücrenin lizisine sebep olur. Böylece, antibiyotiğin mükemmel litik ve bakterisit etkisi ortaya çıkar (7,10-13). “Teiksobaktin”nin, peptidoglikan sentezinde rol alan enzimlerden birini engellemediği, DNA, RNA ve protein sentezine etkili olmadığından dolayı, yeni bir peptidoglikan sentezi inhibitörü olduğu bildirilmiştir (7).

“Teiksobaktin”, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), vankomisine orta derecede dirençli *S. aureus* (VISA), vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Bacillus anthracis* ile *Clostridium difficile* gibi anaerob bakteriler de dahil, birçok Gram-pozitif patojene karşı mükemmel etkili olduğu bildirilmiştir (Tablo 1). “Teiksobaktin”, oksasilin ve vankomisin ile kıyaslandığında *S. aureus*’a karşı mükemmel bakterisit etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (şekil 3). Özellikle hücre bölünmesinin yavaşladığı dönemdeki hücreleri öldürme etkisi vankomisinden üstündür (7). Ayrıca, *S. aureus*’un 27 gün boyunca düşük dozda “teiksobaktin” içeren besiyerlerinde seri

pasajları yapıldığı halde dirençli suşun gelişmediği de bildirilmiştir (şekil 4). Gram-negatif bakterilere etkisizdir. Fakat hücre duvarı geçirgenliği hasarına sahip *Escherichia coli asmB1* suşuna etkili bulunmuştur (2,7).

Tablo 1: “Teiksobaktin”nin patojen mikroorganizmalara etkinliği (7)*

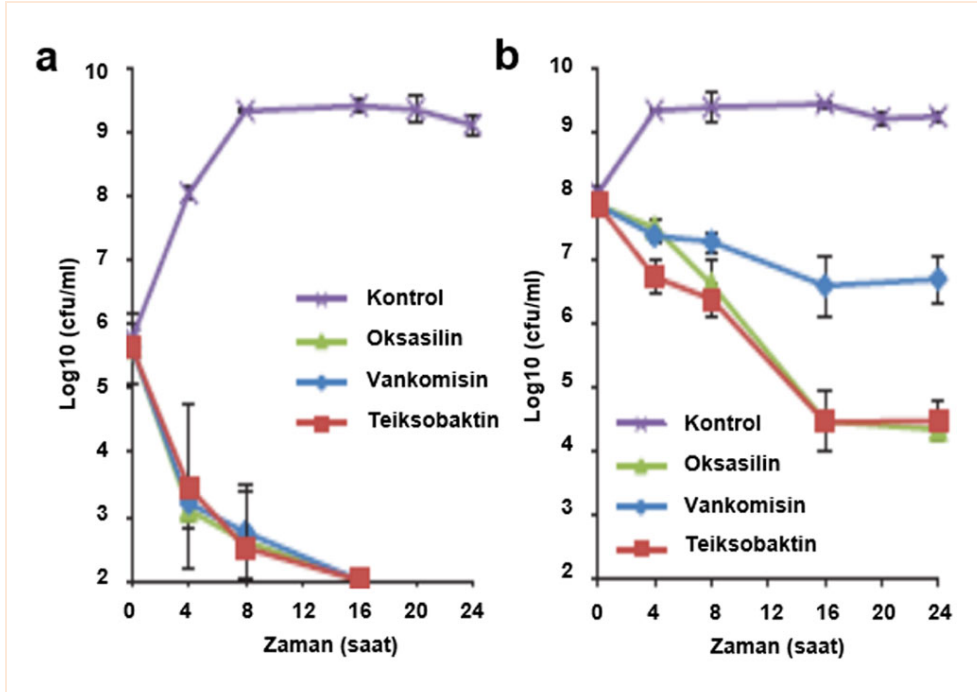
Mikroorganizma	MİK (µg/ml)
<i>S. aureus</i> (MSSA)	0.25
<i>S. aureus</i> (MRSA)	0.25
<i>E. faecalis</i> (VRE)	0.5
<i>E. faecium</i> (VRE)	0.5
<i>S. pneumoniae</i> (penisilin ^D)	≤0.03
<i>S. pyogenes</i>	0.06
<i>S. agalactiae</i>	0.12
<i>Viridans grup streptokok</i>	0.12
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	0.125
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	4
<i>E. coli</i>	25
<i>E. coli</i> (asmB1)	2.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>32
<i>B. anthracis</i>	≤0.06
<i>C. difficile</i>	0.005
<i>Propionibacterium acnes</i>	0.08

“Teiksobaktin” VRE suşlarına karşı etkili bulunmuştur. Bu suşlar modifiye olmuş lipid II içerirler. Yani, Lipid II-D-Ala-D-Ala yerine Lipid II-D-Ala-D-Lac veya Lipid II-D-Ala-D-Ser içerirler. Vankomisinin aksine

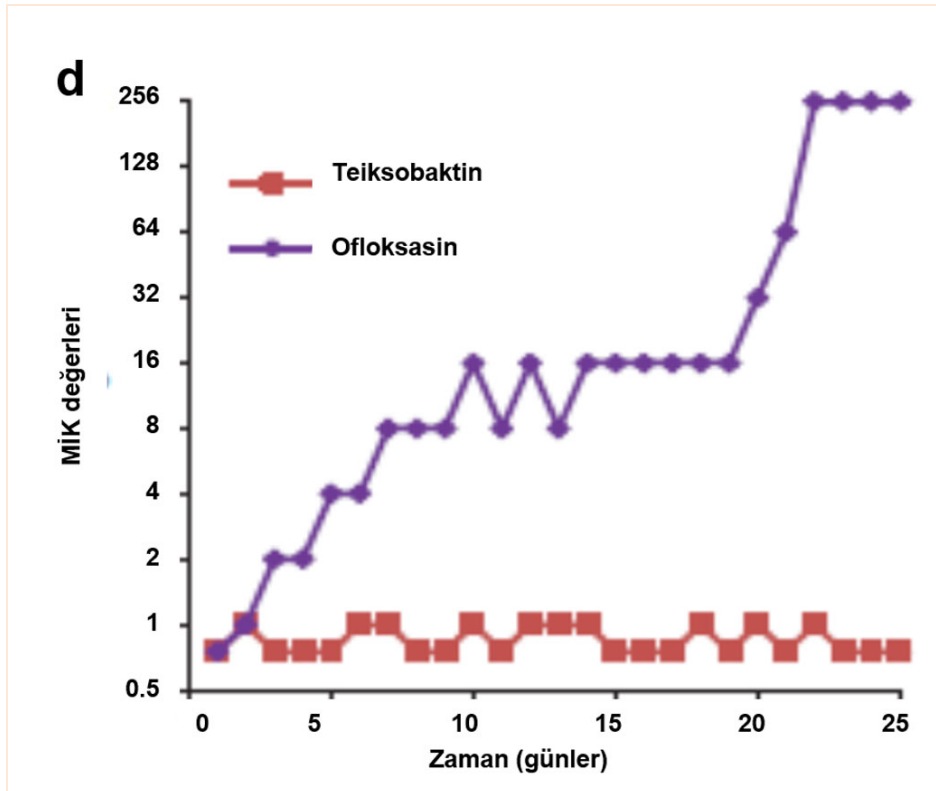
Yeni bir doğal antibiyotik

“teiksobaktin”, modifiye olmuş bu lipid II ye de bağlanabilir. Ayrıca, yüksek minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) dozlarında (100 µg/ml, test edilen

en yüksek doz), memeli hücrelerine toksik etkisi saptanmamıştır. Hemolitik aktivite göstermediği ve DNA’ya bağlanmadığı da bildirilmiştir (7,11,14-16).



Şekil 3: *S. aureus*'un çeşitli antibiyotiklerin bulunduğu ortamda zamana bağlı ölüm eğrileri. A- erken, b-geç dönem üreme fazında iken antibiyotiklerden etkilenme değerleri (7)*



Şekil 4: *S. aureus*'un "teiksobaktin'in sub-MİK konsantrasyonlarında yapılan seri pasajları sonucundaki direnç gelişimi (7)*.

In vivo etki: Serumdaki etkisinin kalıcı, düzenli ve iyi etkili olduğu bildirilmektedir. Toksikitesi düşüktür. Farmakokinetik parametreleri: serumda 4 saat MİK değerinin üstündeki değerlerde kalabilir. “Teiksobaktin”i iki farklı enfeksiyonlu fare modeli üzerinde test edilmiştir (7).

Model 1- MRSA ile oluşturulmuş bakteriyemi; İntraperiton yoldan %90 oranda letal dozda (LD₉₀) MRSA enjekte edilerek septisemi oluşturulan bir fare modelinde, enfeksiyondan 1 saat sonra 1-20mg/kg dozda intravenöz olarak tek doz “teiksobaktin” verilen farelerin tümü hayatta kalmıştır.

Model 2- İkinci araştırmada da, akciğerlerinde *S.pneumoniae* ile enfeksiyon oluşturulmuş hayvanların %50 sinin hayatta kaldığı koruyucu dozun (KD₅₀), KD₅₀: 0.2 mg/kg olduğu saptanmıştır. Vankomisinde ise bu doz KD₅₀: 2.75 mg/kg’dır.

Her iki enfeksiyon modelinde de, tüm hayvanlar başarı ile tedavi edilmişlerdir. Verilen tedavi dozlarında ilaca bağlı gelişen hiçbir yan etki görülmemiştir. Daha da önemlisi: hiçbir farede direnç gelişmemiştir (7).

Vankomisin direnci, klinik olarak kullanıma girmesinden 30 yıl sonra gelişmiştir. Lipid II’nin modifikasyonu ile oluşan vankomisin direncinin, vankomisin üreten mikroorganizmanın (*Amycolatopsis orientalis*) kendisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (17). “Teiksobaktin”, lipid II’ye bağlanarak etkili olan yeni bir antibiyotik sınıfının ilk üyesidir. Yapısal olarak glikopeptid antibiyotiklerden farklıdır. Bağlandığı bölgenin iyi korunmasından dolayı değişikliğe uğrama olasılığının çok az olduğu, böylece “teiksobaktin” direncinin muhtemelen daha da uzun bir süre sonunda ancak gelişebileceği tahmin edilmektedir (12,15,17,18). Toprak bakterilerinden, insan patojenlerindeki direnç genleri ile özdeş olan birçok antibiyotik direnç geni elde edilmiştir. Bu direnç genleri arasındaki bariz benzerlikler, örtüşmeler olmasına rağmen, topraktaki antibiyotik direnç genlerinin yapısını etkileyen faktörler ve direnç genleri ile çevreleri arasındaki ilişkileri (yayılmı) hemen hemen hiç bilinmemektedir (7,12,17,19-22). Bununla birlikte, bu yol ile “teiksobaktin”e direnç gelişebilmesinin çok zayıf bir olasılık olabileceği bildirilmektedir. Çünkü insanlarda hastalık oluşturan bakteri suşlarının bu antibiyotiğe direnç kazanabilmesi için “teiksobaktin”e dirençli toprak bakterileri ile birlikte bulunmaları gerekecektir (9).

SONUÇ OLARAK

Bir toprak bakterisinden “teiksobaktin” olarak isimlendirilen yeni bir antimikrobiale madde, bir seri yeni teknikler kullanılarak elde edilmiştir. Antibiyotiğin klinik deneylerinin iki yıl içinde başlayacak hale gelebileceği, bunun da ilave olarak 2-3 yıl alabileceği tahmin edilmektedir. Yakın bir gelecekte, “teiksobaktin”in yeni bir antibiyotik sınıfının ilk üyesi olarak yerini alacağı ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

1- Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell* 2007; 128(6): 1037-50.

- 2- Lewis K. Antibiotics: Recover the lost art of drug discovery. *Nature* 2012; 485(7399): 439-40.
- 3- Bush K, Courvalin P, Dantas G, Davies J, Eisenstein B, Huovinen P et al. Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9(12): 894-6.
- 4- Livermore DM. Discovery research: the scientific challenge of finding new antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(9): 1941-4.
- 5- Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12(5): 371-87.
- 6- Lewis K, Epstein S, D’Onofrio A, Ling LL. Uncultured microorganisms as a source of secondary metabolites. *J Antibiot (Tokyo)* 2010; 63(8): 468-76.
- 7- Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, Spoering AL, Engels I, Conlon BP et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 2015; 517(7535): 455-9.
- 8- D’Onofrio A, Crawford JM, Stewart EJ, Witt K, Gavrish E, Epstein S et al. Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria. *Chem Biol* 2010; 17(3): 254-64.
- 9- Laura J. V. Piddock. Teixobactin, the first of a new class of antibiotics discovered by iChip technology? *J Antimicrob Chemother* 2015; 70(10): 2679-80.
- 10- Bryskier A, Dini C. Peptidoglycan synthesis inhibitors. In: Bryskier A (ed). *Antimicrobial Agents*. ASM Press. Washington DC, USA, 2005; 377-400.
- 11- D’Elia MA, Pereira MP, Chung YS, Zhao W, Chau A, Kenney TJ et al. Lesions in teichoic acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus* lead to a lethal gain of function in the otherwise dispensable pathway. *J Bacteriol* 2006; 188(12): 4183-9.
- 12- Kahne D, Leimkuhler C, Lu W, Walsh C. Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chem Rev* 2005; 105(2): 425-48.
- 13- Schneider T, Sahl HG. An oldie but a goodie - cell wall biosynthesis as antibiotic target pathway. *Int J Med Microbiol* 2010; 300(2-3): 161-9.
- 14- Bryskier A, Veyssier P. Glycopeptides and Lipoglycopeptides. In: Bryskier A, ed. *Antimicrobial Agents*. ASM Press. Washington DC, USA 2005; p.880-905.
- 15- Patel R. Enterococcal-type glycopeptide resistance genes in non-enterococcal organisms. *FEMS Microbiol Lett*. 2000; 185(1): 1-7.
- 16- Sancak B. *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance. *Mikrobiyol Bul*. 2011; 45(3): 565-76.
- 17- Marshall CG, Broadhead G, Leskiw BK, Wright GD. D-Ala-D-Ala ligases from glycopeptide antibiotic-producing organisms are highly homologous to the enterococcal vancomycin-resistance ligases VanA and VanB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(12): 6480-3.
- 18- Wiedemann I, Breukink E, van Kraaij C, Kuipers OP, Bierbaum G, de Kruijff B et al. Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *J Biol Chem* 2001; 276(3): 1772-9.

- 19-D'Costa VM, Griffiths E, Wright GD. Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Curr Opin Microbiol* 2007; 10(5): 481-9.
- 20-D'Costa VM, McGrann KM, Hughes DW, Wright GD. Sampling the antibiotic resistome. *Science* 2006; 311(5759): 374-7.
- 21-Forsberg KJ, Patel S, Gibson MK, Lauber CL, Knight R, Fierer N, et al. Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats. *Nature* 2014; 509(7502): 612-6.
- 22-Pickup RW, Rhodes G. Mechanisms for resistance in soil. *Science* 2006; 312(5773): 529.