

## Vankomisine dirençli enterokoklarda linezolid, tigesiklin ve daptomisin duyarlılığının E-Test yöntemiyle araştırılması

### *Investigation of linezolid, tigecycline and daptomycin susceptibility in vancomycin-resistant enterococci using E-test method*

Mehmet Parlak<sup>1</sup>, İrfan Binici<sup>2</sup>, Aytekin Çıkman<sup>3</sup>, Mustafa Kasım Karahocagil<sup>4</sup>,  
Yasemin Bayram<sup>1</sup>, Mustafa Berktas<sup>5</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Çoğu antibiyotiğe intrensek direnci olan enterokoklarda son yıllarda artan glikopeptit direnci nedeniyle tedavide sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu durum tedavide yeni antibiyotiklerin denenmesini zorunlu kılmaktadır. Çalışmada, vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının linezolid, daptomisin ve tigesikline duyarlılıkları araştırılmıştır.

**Yöntemler:** Çeşitli klinik örneklerden elde edilen, 58 VRE suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle enterokok olarak belirlenen suşların ileri identifikasyonu ve vankomisin direncinin belirlenmesi için Phoenix otomatize sisteminden (Becton Dickinson, USA) yararlanılmıştır. Suşların vankomisin direnci E-test ile doğrulanmış, aynı yöntemle linezolid ve daptomisine karşı 58, tigesikline karşı ise 47 VRE suşu denenmiştir.

**Bulgular:** Vankomisin dirençli suşlarda  $MIC_{50}$ ,  $MIC_{90}$  ve  $MİK$  aralığı sırasıyla linezolid için 0.75, 1.5 ve 0.047-2 µg/ml; daptomisin için 1, 2 ve 0.19-3 µg/ml; tigesiklin için 0.064, 0.125 ve 0.016-0.19 µg/ml olarak saptandı. Linezolid, daptomisin ve tigesikline karşı dirençli suş tespit edilmedi.

**Sonuç:** VRE ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde linezolid etkili bir antibiyotik olarak önemini korumakta olup yeni kullanıma giren daptomisin ve tigesiklin, düşük  $MİK$  değerleri nedeni ile iyi tedavi seçenekleri olarak ortaya çıkmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Daptomisin, E-test, linezolid, tigesiklin, vankomisine dirençli enterokok

#### ABSTRACT

**Objective:** Problems are encountered in the therapy of enterococcal infections due to their intrinsic resistance to many antibiotics and increasing glycopeptide resistance in recent years. That is why clinical trials are required to test new antibiotics for the treatment. In this study, we investigated susceptibility to linezolid, daptomycin and tigecycline in vancomycin-resistant enterococci (VRE) strains.

**Methods:** Totally, 58 of VRE strains obtained from various clinical specimens were included in the study. The strains identified as enterococci by conventional methods and Phoenix automated system (Becton Dickinson, USA) was utilized for further identification of the strains and determination of their resistance to vancomycin. Vancomycin resistance in these strains was confirmed by E-test. Using the same method 58 VRE strains were tested for linezolid and daptomycin and 47 VRE strains for tigecycline.

**Results:**  $MIC_{50}$ ,  $MIC_{90}$  and  $MIC$  range for vancomycin-resistant strains was detected as 0.75, 1.5, and 0.047-2 µg/ml for linezolid; 1, 2 and 0.19-3 µg/ml for daptomycin and 0.064, 0.125, and 0.016-0.19 µg/ml for tigecycline, respectively. No strain resistant to linezolid, daptomycin; tigecycline was detected.

**Conclusion:** Although linezolid maintains its importance as effective antibiotic for the treatment of infections caused by VRE, recently introduced daptomycin and tigecycline with their low  $MIC$  values occur as good treatment options.

**Key words:** Daptomycin, E-test, linezolid, tigecycline, vancomycin-resistant enterococci

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Van, Türkiye

<sup>2</sup> Erciş Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, Van, Türkiye

<sup>3</sup> Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Erzincan, Türkiye

<sup>4</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Van

<sup>5</sup> Lokman Hekim Van Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van, Türkiye

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Mehmet Parlak,

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Van, Türkiye Email: mehmetparlak65@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received: 21.07.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 08.09.2014

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2014, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

## GİRİŞ

İnsan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasının bir üyesi olan enterokoklar, günümüzün önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında yer almaktadır. Bunun yanında kan dolaşımı enfeksiyonu, cerrahi alan enfeksiyonu, ventilatör ilişkili pnömoni ve çeşitli vücut sıvılarının enfeksiyonu şeklinde karşımıza çıkabilmektedir [1-5].

Enterokokların günümüzde en göze çarpan özelliği antibiyotiklere giderek artan direnç oranlarıdır. Beta-laktamlar, aminoglikozidler, eritromisin, klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol dâhil birçok antibiyotiğe karşı intrinsek (kromozomal) direnç gösteren bakterilerdir. Hastane şartlarında yaygın olarak kullanılan başta sefalosporinler olmak üzere çoğu beta-laktam antibiyotiğe göreceli doğal direnci ve yüksek düzey aminoglikozid direnci bir çeşit virülans faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde daha çok ampisilin dirençli suşlarda kullanılan vankomisine karşı oluşan direnç önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır [1,3,4]. Vankomisin dirençli enterokoklara (VRE) bağlı enfeksiyonların tedavisinde problemlerle karşılaşmakta ve tedavide yeni antibiyotiklerin sürekli geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [6].

Çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen VRE suşlarının, linezolid, tigesiklin ve daptomisine karşı duyarlılıkları E-test yöntemiyle araştırılmıştır.

## YÖNTEMLER

Çalışmaya, hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2008-2011 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve vankomisine karşı dirençli olduğu belirlenen 58 enterokok suşu dâhil edilmiştir. Bu suşların 15'i enfeksiyon etkeni olarak farklı klinik örneklerden izole edilirken; 43'ü ise çalışma süresince farklı zamanlarda yapılan rektal sürüntü örneklerinden elde edilmiştir. Klinik örnekte üreme saptanan ve konvansiyonel yöntemlerle [uygun koloni morfolojisi, Gram pozitif kok görünümü, katalaz negatif ve pyrolidonyl aryl amidase (PYR-Oxoid) testi pozitif] enterokok olduğu belirlenen suşlar için ileri identifikasyon ve antibiyotik direnç oranları belirlenmiştir.

Suşların ileri identifikasyonu ve vankomisin direncinin belirlenmesinde Phoenix otomatize siste-

minden (Becton Dickinson, USA) yararlanılmıştır. Bu sistemle vankomisine dirençli olduğu belirlenen bu 58 suşun vankomisin direnci Mueller-Hinton agar besiyerinde (Oxoid, İngiltere) E-test yöntemiyle (Biomerieux, Fransa) araştırılmıştır. Aynı yöntemle suşların tamamı linezolid ve daptomisine, 47'si ise tigesikline karşı test edilmiştir. Vankomisin, linezolid ve daptomisine karşı direnç, CLSI kriterlerine göre belirlenmiştir. Bu kılavuzda enterokoklar için tigesiklin duyarlılık sınırları verilmediği için tigesikline karşı direnç, EUCAST önerilerine göre belirlenmiştir [7,8].

## BULGULAR

Toplam 58 VRE suşununun 43'ü (%74) gaita, 7'si (%12,1) kan, 5'i (%8,6) idrar ve 3'ü beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden izole edilmiştir. Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, USA) ile yapılan identifikasyon sonucu suşların 53'ü (%91,4) *Enterococcus faecium*, 5'i (%8,6) ise *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır. Otomatize sistemle VRE olarak tanımlanan suşların tamamı E-test metodu ile de vankomisine dirençli olarak tespit edilmiştir.

Vankomisine dirençli suşlarda, MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve MİK aralığı sırasıyla linezolid için 0.75, 1,5 ve 0.047-2 µg/ml; tigesiklin için 0.064, 0.125 ve 0.016-0.19 µg/ml; daptomisin için 1, 2 ve 0.19-3 µg/ml olarak saptanmıştır (Tablo 1). Bu sonuçlara göre tüm VRE suşları, linezolid, daptomisin ve tigesikline karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** VRE suşlarında elde edilen MİK değerleri (µg/ml)

Antibiyotik	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>	MİK aralığı
Linezolid	0.75	1.5	0.047-2
Daptomisin	1	2	19-3
Tigesiklin	0.064	0.125	0.016-0.19

## TARTIŞMA

VRE, ilk önce 1987 yılında Avrupa'da tanımlanmış, sonraki yıllarda tüm dünyada görülen bir patojen halini almıştır. Günümüzde ise yoğun bakım ünitelerinin en korkulan patojenleri arasında bulunmaktadır. Yapılan meta-analiz çalışmalarında VRE ile

mortalite arasında pozitif ilişki gösterilmiştir [9]. Antibiyotiklerin aşırı tüketimi zaten yapısal olarak birçok antibiyotiğe dirençli olan enterokokların normalde duyarlı oldukları glikopeptid antibiyotiklere karşı da direnç geliştirmelerine neden olmuştur. Hastanelere göre farklılıklar olsa da yoğun bakım ünitelerinden izole edilen enterokoklarda vankomisine direnç oranları ortalama % 20 düzeyinde bildirilmektedir [1,10].

*E. faecalis* daha fazla olmak üzere enterokokal enfeksiyonlardan sorumlu olan en önemli iki tür *E. faecalis* ve *E. faecium*'dur. *E. faecium*'un *E. faecalis*'e göre antimikrobilyallere daha dirençli olduğu bilinmektedir [11]. Bu direnci nedeni ile VRE izolatlarının çoğunu *E. faecium* oluşturmaktadır [12,13]. Çalışmamızda *E. faecium*, 58 VRE suşunun 53'ünü oluşturmuştur.

Ampisilin ve vankomisin dirençli enterokokların spesifik tedavisinde yeni antibiyotikler sürekli geliştirilmektedir. Son yıllarda linezolid ve tigesiklin gibi Gram pozitif bakterilere etkin antibiyotikler ülkemizde kullanıma girmiştir. Bu antibiyotiklere son yıllarda kullanıma giren daptomisin dâhil olmuştur [6,14].

Ülkemizde 2005 yılında kullanım onayı alan ve oksazolidinon grubu antibiyotiklerin ilk üyesi olan linezolid, bakterilerde ribozomların 50S subunitine bağlanıp protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedir. İçerisinde VRE'lerin de bulunduğu Gram pozitif mikroorganizmaları kapsayan geniş bir etki spektrumuna sahiptir [15]. Rathe ve ark. [16] 124 VRE suşunun tümünü linezolide karşı duyarlı olarak bulmuşlardır. Tünger ve ark. [17] 96 VRE suşunda linezolid direncini araştırdıkları çalışmalarında 5 suşta direnç saptamışlardır. Yazgı ve ark. [18] ise disk difüzyon yöntemi ile 13 VRE suşunun tamamını duyarlı tespit etmişlerdir. Altun ve ark. [19] vankomisine dirençli 25 *E. faecium* suşlarını linezolide duyarlı olarak bulmuşlardır. Aktaş ve ark. [20] 100 VRE suşunun 2'sini linezolide karşı dirençli olarak, 66'sını ise orta duyarlı olarak bildirmişlerdir. Bu antibiyotik için MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve MİK aralığı sırasıyla 4, 4, 1-6 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Tigesiklin, bir minosiklin türevidir olup Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onaylanan glisilsiklin grubundan ilk antibiyotiktir. Tigesiklin, aerobik Gram pozitif, Gram negatif ve anaerob pa-

tojenlere karşı etkinlik göstermektedir. Tigesiklin, bakterinin 30S ribozomal alt ünitesindeki tek afinite bölgesine bağlanarak, hücre içindeki süreçleri bozmak yoluyla etki gösterir. Yapısal olarak tetrasiklinlere benzemesine karşın tetrasikline karşı geliştirilen direnç mekanizmalarından etkilenmemektedir [21,22]. Tigesiklin direncinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde; Rathe ve ark. [16] vankomisin dirençli bulunan 124 enterokok suşunun tümünü tigesikline karşı duyarlı olarak bulmuşlardır. Buna ek olarak; Zhang ve ark [23] vankomisine dirençli izolatların da dâhil edildiği 513 enterokok suşunun, Monaharan ve ark. [24] ise 63'ü VRE olan toplam 100 enterokok suşunun tümünü tigesikline karşı duyarlı olarak saptamışlardır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Karaoğlan ve ark.[10] vankomisine direnç saptanan 60 VRE suşunun tümünü tigesikline karşı duyarlı olarak bulmuşlardır. Altun ve ark. [19] vankomisine dirençli 25 *E. faecium* suşlarını tigesikline duyarlı olarak bulmuşlardır.

Daptomisin, siklik lipopeptit sınıfının ilk üyesi olan antibiyotik olup, bakterisidal etkisini bakteri hücre duvarına bağlanarak hızla membran depolarizasyonu ve hücreden potasyum pompalanmasını sağlayarak gösterir. Özellikle son yıllarda daha sık karşılaşılan MRSA ve VRE'lerin etken olduğu enfeksiyonlarda güvenle kullanılmaktadır. Günde tek doz kullanımı önemli bir avantajı olup VRE suşlarının inhibisyonu için daha yüksek yoğunlukta kullanılması gereklidir. ABD'de 2003 yılında deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılmak üzere onay almıştır [25,26]. Huang ve ark. [27] 20 VRE suşunda yaptıkları çalışmalarında daptomisin direncine rastlamamışlardır. Aynı şekilde Rathe ve ark. [16] 124 VRE suşunda ve Zhang ve ark [23] ise vankomisine dirençli izolatların da dâhil edildiği 513 enterokok suşlarının daptomisine karşı %100 olarak duyarlı olarak belirlemişlerdir. Aktaş ve ark. [28] vankomisine dirençli olan 118 enterokok suşunda daptomisine karşı direnç tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada daptomisin için MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve MİK aralığı sırasıyla; 1, 2, 0.125-2 µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda VRE suşlarında linezolid, tigesiklin ve daptomisine karşı dirençli suş tespit edilmemiştir. Ancak en düşük MİK<sub>90</sub> değerine sahip antibiyotik olarak tigesiklin bulunmuş, bunu sırasıyla linezolid ve daptomisinin takip ettiği görülmüştür.

Sonuç olarak; VRE ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde linezolid etkili bir antibiyotik olarak önemini korumakta olup yeni kullanıma giren tigesiklin ve daptomisin ise düşük MİK değerleri nedeni ile iyi tedavi seçenekleri olarak ortaya çıkmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ryan KJ, Ray CG. Sherris Medical Microbiology. 5th edn. USA: McGraw-Hill Companies, 2010:443-469.
- Tüfek A, Tekin R, Dal T, ve ark. Reanimasyon ünitesinde on yıllık sürede gelişen hastane enfeksiyonlarının değerlendirilmesi ve literatürün gözden geçirilmesi. Dicle Tıp Derg 2012;39:492-498
- Hızal K. Dirençli Gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavi ve yönetimi. ANKEM Derg 2011;25:50-53.
- Ulusoy S. Yoğun bakım ünitesinde gram-pozitif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Yoğun Bakım Derg 2003;3:118-128.
- Duman Y, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, ve ark. Bir üniversite hastanesi laboratuvarında beyin omurilik sıvısı'nda izole edilen mikroorganizmaların üç yıllık geriye dönük analizi. Dicle Tıp Derg 2012;39:70-74.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 5th edn. USA: Elsevier Mosby, 2005:259-263.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, M100-S24, 2014.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>.
- Köksal İ. Yoğun bakımda Gram pozitif bakteri sorunu. ANKEM Derg 2009;23:143-147.
- Karaoğlan İ, Zer Y, Namıduru M. Vankomisine dirençli enterokok suşlarında tigesiklinin in-vitro etkinliği. ANKEM Derg 2008;22:153-155.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, 1997:577-629.
- Ertek M, Yazgı H, Aktaş AE, Erol S, Taşyaran MA. Vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu araştırılması ve diğer antimikrobiyallere duyarlılıkları. İnfeksiyon Derg 2003;17:447-451.
- Gordts B, Van Landuyt H, Ieven M, et al. Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. J Clin Microbiol 1995;33:2842-2846.
- Özaras R, Tabak F. Daptomisin. Klimik Derg 2010;23:35-38.
- Usluer G. Linezolid. ANKEM Derg 2010;24:114-118.
- Rathe M, Kristensen L, Ellermann-Eriksen S, Thomsen MK, Schumacher H. Vancomycin-resistant Enterococcus spp.: validation of susceptibility testing and in vitro activity of vancomycin, linezolid, tigecycline and daptomycin. APMIS 2010;118:66-73.
- Tünger A, Aydemir S, Uluer S, Cilli F. In vitro activity of linezolid and quinupristin/dalfopristin against Gram-positive cocci. Indian J Med Res 2004;120:546-552.
- Yazgı H, Ertek M, Ayyıldız A, Özkurt Z, Taşyaran MA. Vankomisine dirençli enterokoklara in-vitro linezolid etkinliği. ANKEM Derg 2004;18:113-116.
- Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının çeşitli yöntemlerle araştırılması. ANKEM 2013;27:130-134.
- Aktaş G, Bozdoğan B, Derbentli S. Linezolid ve Dalbavansinin vankomisine dirençli enterokok suşlarına karşı in vitro aktivitesi. Mikrobiyol Bul 2012;46:359-365.
- Çalık N, Akova M. Tigesiklin. ANKEM Derg 2007;21:29-33.
- Çelebi S. Çocuklarda Gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlarda yeni antibiyotikler. J Pediatr Inf 2011;5:86-89.
- Zhang FF, Zhao CJ, Wang ZW, et al. A study of in vitro activity of daptomycin against 2679 Gram-positive cocci. Zhonghua Nei Ke Za Zhi 2013;52:474-479.
- Manoharan A, Chatterjee S, Madhan S, Mathai D. Evaluation of tigecycline activity in clinical isolates among Indian medical centers. Indian J Pathol Microbiol 2010;53:734-737.
- Öztürk R. Yeni anti-Gram pozitif antibiyotikler. ANKEM Derg 2007;21:34-39.
- Tabak F. 2010'da daptomisin. ANKEM Derg 2010;24:110-113.
- Huang YT, Liao CH, Teng LJ, Hsueh PR. Comparative bactericidal activities of daptomycin, glycopeptides, linezolid and tigecycline against blood isolates of Gram-positive bacteria in Taiwan. Clin Microbiol Infect 2008;14:124-129.
- Aktaş G, Derbentli S. Daptomisinin VRE ve MRSA suşlarına in vitro etkinliği. Mikrobiyol Bul 2014;48:123-128.