



Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Tigesiklin Duyarlılığının Belirlenmesi

Determination of Susceptibility to Tigecycline in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates

Fırat Zafer Mengeloğlu¹, Tekin Taş¹, Esra Koçoğlu¹, Şeyda Karabörk¹

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu.

Özet

Amaç

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), burun ve deride kolonize olabilen, selülit, impetigo ve abseye yol açabilen, toplum ve hastane kaynaklı ciddi enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir. Direnç sorunu nedeniyle MRSA enfeksiyonlarında tedavide güçlüklerle karşılaşmaktadır. 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 MRSA izolatlarında tigesikline duyarlılık oranının in vitro olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Toplam 100 MRSA izolatına için tigesiklin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Bulgular

Tigesiklinin izolatlara karşı MİK değerleri 0,0625-4 µg/ml aralığında bulunmuş, buna göre izolatların 91'i (%91) tigesikline duyarlı, dokuzu (%9) ise dirençli bulunmuştur. MİK₅₀ değeri 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değeri ise 0,5 µg/ml olarak saptanmıştır.

Sonuç

Ülkemizde yapılmış diğer çalışmalardakinden daha yüksek bir direnç oranı bulunmuş olmasına rağmen, çalışmamızda elde edilen bulgular, hastanemizde MRSA nedenli enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinin halen uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: MRSA, *Staphylococcus aureus*, tigesiklin, mikrodilüsyon

Abstract

Aim

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an emergent pathogen which can colonize in nose and on the skin; lead cellulitis, impetigo and abscess and which can cause community and hospital-acquired serious infections. Treatment of MRSA infection encounters difficulties due to the resistance. Researchers continue to search for an alternative due to the limited treatment options. Tigecycline (GAR-936), a derivative of glycycline, 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 MRSA strains isolated from various clinical specimens in microbiology laboratory of Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine.

Material and Methods

Minimum inhibitory concentration (MIC) of tigecycline were determined with broth microdilution method for a total of 100 MRSA isolates.

Results

MIC values of tigecycline to the isolates were found between a range of 0.0625-4 µg/ml; according to this, 91 (91%) of the isolates were determined as susceptible and 3 (3%) were found as intermediate to tigecycline. The MIC₅₀ value was found 0.25 µg/ml and MIC₉₀ was 0.5 µg/ml.

Conclusion

Despite the higher resistance rate to tigecycline in comparison to data obtained from other studies of our country, the findings of our study shows that tigecycline is still an appropriate alternative in treatment of infections caused by MRSA in our hospital.

Key words: MRSA, *Staphylococcus aureus*, tigecycline, microdilution

Corresponding Author / Sorumlu Yazar:

Yrd. Doç. Dr. Fırat Zafer Mengeloğlu
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Bolu, Türkiye
Tel: 0 374 253 46 56 / 3264
E-mail: mengelolu@gmail.com

Article History / Makale Geçmişi:

Date Received / Geliş Tarihi: 21.03.2013
Date Accepted / Kabul Tarihi: 15.04.2013

Giriş

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), burun ve deride kolonize olabilen, selülit, impetigo ve abseye yol açabilen, toplum ve hastane kaynaklı ciddi enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir¹.

MRSA suşları, beta laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren penisilin bağlayan protein (PBP) 2a olarak adlandırılan bir protein üretmektedir. Bu protein kromozomal bir gen olan mecA tarafından kodlanmaktadır. Beta laktam antibiyotikler PBP'ye yeterince bağlanamamaktadır. Bu nedenle söz konusu olan beta laktam antibiyotiklerden penisilin, nafsilin, oksasilin, piperasilin, sefalosporinler, imipenem/meropenem tedavide kullanılmamaktadır. Ayrıca MRSA suşları aminoglikozidlere, makrolidlere ve kinolonlara farklı mekanizmalarla yüksek oranda direnç gösterebilmektedir¹⁻⁴.

Direnç sorunu nedeniyle MRSA enfeksiyonlarında tedavide güçlüklerle karşılaşılmaktadır. Araştırmacılar, tedavi seçeneklerinin sınırlı kalmasından dolayı alternatif arayışlarına devam etmektedirler. Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan ilk glisilsiklin antibiyotik olan tigesiklin (GAR-936) bir minosiklin türevidir ve son yıllarda kullanıma giren bir antimikrobiyaldir. Tigesiklin, tetrasiklinin çekirdeğinde yapılan N-alkilglisilamid modifikasyonu sonucu üretilmiştir³⁻⁵. Bakterilerin tetrasikline karşı gösterdikleri direnç mekanizmalarının, yapısal olarak tetrasiklinlere benzer olmasına rağmen tigesiklini etkilemediği bildirilmiştir. Bu mekanizmalardan tetrasikline özgül pompa mekanizması için tigesiklin zayıf bir substrat özelliği sergilemektedir. Benzer başka bir mekanizmada ise bakteri ribozomlarında tetrasiklin bağlanmasını engelleyen Tet(M) proteininin neden olduğu değişiklikten

etkilenmeyen tigesiklin ribozomlara bağlanabilmeyi sürdürmektedir. Tigesiklin, reversibl olarak ribozomun 30S alt ünitesine bağlanır ve amino-açıl transfer RNA'nın hedefe girişini engelleyerek protein sentezini inhibe eder. Bu bağlanma tetrasiklinlerin bağlanmasından daha güçlüdür³⁻⁵.

Tigesiklin, günümüzde geniş 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 MRSA izolatlarında tigesikline duyarlılık oranının in vitro olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

İzolatlar

Çalışmamıza mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden yollanan örneklerden elde edilen ve katalaz ve koagülaz testleri ile sefoksitine direncin belirlenmesi gibi geleneksel yöntemlerle MRSA olduğu doğrulanan toplam 100 izolat dahil edilmiştir. İzolatların elde edildiği örnekler göre dağılımı tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Elde edilen izolatların örnekler göre dağılımı.

Örnek	İzolat sayısı
Solunum yolu örnekleri	39
Yara	28
Kan	24
İdrar	9
Toplam	100

Aynı hastanın değişik örneklerden aynı izolatın elde edildiği durumlarda, o hastaya ait tek izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

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 MRSA süspansiyonlarından yapılan 1/10'luk seri dilüsyonlardan 5 mikrolitre kuyucuklara (yaklaşık 5×10^5 bakteri) eklenmiştir. Yirmidört saat 37^0 C'de inkübasyon sonrasında kuyucuklardaki üremeler değerlendirilmiş ve her bir izolat için MİK değerleri belirlenmiştir. MİK değerleri FDA kriterlerine göre yorumlanmıştır, buna göre $\leq 0,5$ µg/ml olan izolatlar duyarlı kabul edilmiştir⁵⁻⁷. Sonuçlara göre MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri hesaplanmış ve antibiyotigin antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir.

Kalite kontrol

Çalışmada kalite kontrolü amacıyla standart suş olarak *S. aureus* ATCC 29213 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.

Tablo 2. İzolat sayılarının MİK değerlerine göre dağılımı.

Duyarlılık	MİK değerleri (µg/ml)	İzolat sayısı(n)	Toplam (n)
Duyarlı	0,0625	3	91
	0,125	36	
	0,25	47	
	0,5	5	
Dirençli	1	2	9
	2	6	
	4	1	
Toplam		100	100

Tigesiklinin izolatlara karşı MİK değerleri 0,0625-4 µg/ml aralığında bulunmuş, buna göre izolatların 91'i (%91) tigesikline duyarlı, dokuzu (%9) ise dirençli bulunmuştur. MİK₅₀ değeri 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değeri ise 0,5 µg/ml olarak saptanmıştır.

Tartışma

Dünyada sık ve önemli hastalık etkenlerinden olması ve tedavi zorluğu MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde yeni ajan arayışlarının devam etmesine neden olmaktadır¹⁻³. Tigesiklin, son yıllarda kullanıma giren, etkili, ve direnç kazanımının diğer ajanlara göre daha seyrek geliştiği bir antimikrobiyaldir¹⁻⁴. Çalışmamızda tigesikline duyarlılık oranı %91 olarak bulunmuştur. Bu oran ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda %96,9 ile %100 arasında bildirilmiştir. Bu çalışmalardan; Köse ve ark.⁸, Pelitli ve ark.⁹, Tunçkanat ve ark.¹⁰, Altındiş ve ark.¹¹, Korten ve ark.¹² ve Arslan ve ark.¹³ %100 olarak; Cesur ve ark.¹⁴ %96,9, Ünlü ve ark.¹⁵ %99,0, Öksüz ve ark.⁶ %98, Kaya ve ark.¹⁶ %98,3 olarak bildirmişlerdir (Tablo 3).

Çalışmamıza dahil olan izolatların MİK değerleri 0,0625-4 µg/ml aralığında bulunmuştur. Bu aralığı Köse ve ark.⁸ 0,064-0,25 µg/ml, Ünlü ve ark.¹⁵ $\leq 0,015$ -1 µg/ml, Tunçkanat ve ark.¹⁰ 0,03-0,5 µg/ml ve Altındiş ve ark.¹¹ $\leq 0,12$ -0,5 µg/ml olarak bulmuşlardır (Tablo-3). MİK₅₀ değeri 0,25 µg/ml, MİK₉₀ değeri ise 0,5 µg/ml olarak saptanmıştır. Arslan ve ark.¹³ MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla 0,094 µg/ml ve 0,25 µg/ml, Öksüz ve ark.⁶ 0,19 µg/ml ve 0,38 µg/ml, Pelitli ve ark.⁹ 0,094 µg/ml ve 0,5 µg/ml, Tunçkanat ve ark.¹⁰ 0,12 µg/ml ve 0,5 µg/ml, Ünlü ve ark.¹⁵ 0,12 µg/ml ve 0,25 µg/ml, Altındiş ve ark.¹¹ 0,5 µg/ml ve 0,5 µg/ml olarak bildirmişlerdir (Tablo 3). Çalışmamızda

Tablo 3. Ülkemizde MRSA izolatlarıyla yapılmış çeşitli çalışmalarda tigesikline ait MİK verileri.

Çalışma	Yıl	Toplam izolat sayısı (n)	Duyarlılık oranı (%)	MİK aralığı (µg/ml)	MİK ₅₀ (µg/ml)	MİK ₉₀ (µg/ml)
Bu çalışma	2013	100	91,0	0,0625-4	0,25	0,5
Köse ve ark. ⁸	2012	14	100	0,064-0,25	-	-
Cesur ve ark. ¹⁴	2012	260	96,9	-	0,016	0,38
Pelitli ve ark. ⁹	2011	21	100	-	0,094	0,5
Ünlü ve ark. ¹⁵	2009	100	99,0	≤0,015-1	0,12	0,25
Tunçkanat ve ark. ¹⁰	2009	127	100	0,03-0,5	0,12	0,5
Öksüz ve ark. ⁶	2009	49	98,0	-	0,19	0,38
Kaya ve ark. ¹⁶	2008	60	98,3	0,032-1	-	0,38
Altındış ve ark. ¹¹	2007	19	100	≤0,12-0,5	0,5	0,5
Korten ve ark. ¹²	2007	99	100	0,03-0,5	0,125	0,5
Arslan ve ark. ¹³	2006	100	100	0.047-2	0,094	0,25

bulunan MİK₉₀ değerinin diğer çalışmalardakine benzer olmakla birlikte %91'lik bir duyarlılık oranı tigesiklinin MRSA'ye karşı etkinliğinin devam ettiğini göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, hastanemizde MRSA enfeksiyonlarında tigesiklinin uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir. Ayrıca zaman içinde MRSA

izolatlarının söz konusu ilaca karşı kazanacakları olası direnç durumunda günümüz suşlarına ait veriler karşılaştırma amaçlı kullanılabilir.

Finansal Destek

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir (Proje No: 2013.08.01.577).

Kaynaklar

1. Sancak B. Staphylococcus aureus ve antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2011; 45(3): 565-76.
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. Estes KS, Derendorf H. Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin and daptomycin. Eur J Med Res. 2010; 15(12): 533-43.
5. Stein GE, Craig WA. Tigecycline: A Critical Analysis Clin Infect Dis. 2006; 43(4): 518-24.
6. Fritsche TR, Strabala PA, Sader HS, Dowzicky MJ, Jones RN: Activity of tigecycline tested against a global collection of Enterobacteriaceae, including tetracycline-resistant isolates, Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52(3): 209-13.
7. 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.
8. Köse Ş, Ece G, Türken M, Gözaydın A, Tatar B. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında İzole Edilen Bakterilerin Tigesiklin ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığının İncelenmesi. Fırat Tıp Dergisi. 2012; 17(1): 10-3.
9. Pelitli TS, Cesur S, Kınıklı S, İrmak H, Demiröz AP, Karakoç E. Hastane Kaynaklı Metisiline Dirençli Stafilocok Suşlarında Vankomisin, Teikoplanin,

- Linezolid ve Tigesiklin Duyarlılığının E-Test Yöntemiyle Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011; 45(4): 758-61.
10. Tunçkanat F, Saribaş Z, Ercis S. Metisiline Dirençli Stafilocoklarda Tigesiklinin İn Vitro Etkinliğinin Araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2009; 43(2): 211-5.
11. Altındış M, Şafak B, Demirdal T, Çetinkaya Z, Aktepe OC. Kan kültürlerinden izole edilen etkenlerde tigesiklin duyarlılığı. ANKEM Derg. 2007; 21(3):171-4.
12. Korten V, Söyletir G, Leblebicioğlu H, Usluer G, Dündar D. In vitro activity of tigecycline against pathogens from Turkey-TEST Program 2006. Int J Antimicrob Agent. 2007; 29(Suppl 2): S517.
13. Arslan U, Yüksekaya Ş, Işık F, Tuncer İ. Metisiline dirençli Staphylococcus aureus suşlarının linezolid ve tigesikline in-vitro duyarlılığı. ANKEM Derg. 2006; 20(4): 210-3.
14. Cesur S, İrmak H, Simşek H, Cöplü N, Kılıç H, Arslan U, et al. Türkiye'de Yedi İldeki Hastanelerin Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen MRSA Suşlarında VISA-VRSA Araştırılması ve Antibiyotik Duyarlılık Durumlarının Saptanması. Mikrobiyol Bul. 2012; 46(3): 352-8.
15. Ünlü M, Vardar-Ünlü G, Yağmuroğlu A, Yıldırım D. Klinik örneklerden soyutlanan Staphylococcus aureus suşlarına tigesiklin etkinliği. ANKEM Derg. 2009; 23(1): 13-6.
16. 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