

Gram Negatif Bakterilerde Tigesiklin Duyarlılığı

Özdemir ÖZKAN, Bülent ÖZBEK, Melda SINIRTAŞ, Cüneyt ÖZAKIN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Kimyasal olarak bir minosiklin derivesi olan tigesiklin, çok sayıda gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmaya in vitro etkinlik gösteren yeni bir antibiyotiktir. Bu çalışmada gram negatif bakterilerden *Acinetobacter baumannii*, *Echerichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin tigesiklin yanı sıra sefoperazon/sulbaktam ve imipenem duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Otomatize bakteri tanımlama ve duyarlılık sistemi ile tanımlanan ve duyarlılığı belirlenen 56 *A. baumannii* 43 *E. coli* ve 47 *K. pneumoniae* izolatının tigesiklin duyarlılığına disk difüzyon ve Etest yöntemleriyle, sefoperazon/sulbaktam ve imipenem duyarlılıklarına ise yalnız Etest yöntemi ile bakılmıştır. Suşların genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi otomatize sistem dışında seftazidim ve seftazidim/klavulonat Etest stripleri ile teyit edilmiştir.

Bulgular: *A. baumannii* suşlarında en yüksek direnç oranları imipenemde (%59), *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında ise en yüksek direnç oranları sefoperazon/sulbaktamda saptanmıştır. GSBL (+) *E. coli* suşlarının bir tanesi (%2) tigesiklin ve imipenem de dirençli iken, GSBL (+) *K. pneumoniae* suşları ve imipenem dirençli bir *K. pneumoniae* suşunda tigesiklin direnci görülmemiştir. İmipenem dirençli *A. baumannii* suşlarının hemen hemen yarısı (%51) ise tigesikline dirençli bulunmuştur.

Sonuç: Tigesiklin direnci, GSBL (+) ve imipenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında ender, ancak imipenem dirençli *A. baumannii* suşlarında oldukça sıktır.

Anahtar kelimeler: Tigesiklin, Etest, disk difüzyon

SUMMARY

Tigecycline Susceptibility Among Gram Negative Bacteria

Objective: Tigecycline which is chemically a minocycline derivative, is active against many gram-positive and gram-negative organisms in vitro. The objective of this study was to evaluate the susceptibility of *Acinetobacter baumannii*, *Echerichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* against tigecycline, cefoperazone/sulbactam and imipenem.

Materials and Methods: In this study a total of 56 *A. baumannii*, 43 *E. coli* and 47 *K. pneumoniae* isolates identified and tested for susceptibility to relevant antimicrobials by an automated bacterial identification and susceptibility testing system, were analyzed by disk diffusion, and E test for the determination of susceptibilities against tigecycline, imipenem and cefoperazone/sulbactam. The presence of extended spectrum beta lactamases (ESBL) was confirmed by using E test strips containing ceftazidime and ceftazidime/clavulonate.

Results: The highest rate of resistance was found against imipenem (59%) among *A. baumannii*, and against cefoperazone/sulbactam among *E. coli* and *K. pneumoniae* strains. One (2%) of the ESBL (+) *E. coli* strains was found resistant against both imipenem and tigecycline. No tigecycline resistance was detected among ESBL (+) *K. pneumoniae* strains, and one imipenem resistant *K. pneumoniae* strain. Resistance to tigecycline was determined in 51% of imipenem resistant *A. baumannii* strains.

Conclusion: While tigecycline resistance was rare among ESBL (+) and imipenem resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* strains, it was common among imipenem resistant *A. baumannii* strains.

Key words: Tigecycline, Etest, disk diffusion

GİRİŞ

Tigesiklin, glisilsiklin grubuna ait bir minosiklin derivesi olup, glisilsiklinlerin kullanıma sunulan ilk üyesidir⁽¹⁾. Tetrasiklinlerin temel çekirdeğinde, dokuz pozisyonunda yapılan N-alkil-glisilamit modifikasyonu ile geliştirilmiştir ve böylece antibakteriyel

spektrum genişlemiş ve tetrasiklin direnç mekanizmalarına karşı dayanıklılık sağlanmıştır⁽¹⁻⁴⁾. Tigesiklin, ribozomun 30S alt ünitesine bağlanıp, amino-açıl transfer RNA'nın hedefine girişini engelleyerek protein sentezi ve bakteriyel üremeyi durdurur. Tigesiklin'in etkinliği 1997 yılından beri yapılan çok sayıdaki çalışmada araştırılmıştır. Geniş spekt-

Alındığı tarih: 27.07.2010

Kabul tarihi: 08.02.2011

Yazışma adresi: Cüneyt Özakin, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 16059 Görükle, Bursa
e-posta: ozakin@uludag.edu.tr

rumlu bu antibiyotiğin, çoklu ilaç direnci olan birçok bakteriye etkili olduğu gözlenmiştir ⁽¹⁾.

Tigesiklin klinik kullanıma yeni giren antimikrobik ajanlardandır ve yapılan klinik çalışmalarda komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile komplike intraabdominal enfeksiyonlarda etkili bulunmuştur. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterobacteriaceae* türleri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten gram negatif çomaklar, çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* türleri ve dirençli gram pozitif kokların etken olabileceği polimikrobiyal enfeksiyonlarda tercih edilebilecek bir antibiyotiktir ⁽⁵⁾.

Bu çalışmada gram negatif bakterilerden *A. baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin tigesiklin yanı sıra sefaperazon/sulbaktam, imipenem'e duyarlılıkları ile tigesiklin'in *A. baumannii* suşlarında Etest ve disk difüzyon ile duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SUAM) yatmakta olan hastaların, idrar dışı örneklerinden izole edilen 56 adet *A. baumannii*, 43 adet *E. coli*, 47 adet *K. pneumoniae* suşu çalışmaya alınmış ve suşların rutin tanımlama ve antibiyotik duyarlılığı PhoenixTM100 Otomatize Bakteri Tanımlama ve Duyarlılık sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile yapılmıştır. Suşların tigesiklin duyarlılığına disk difüzyon ve Etest yöntemleri ile, imipenem ve sefaperazon/sulbaktam duyarlılıklarına yalnızca Etest yöntemi ile Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine uygun olarak bakılmıştır ⁽⁶⁾. GSBL belirlemede ise otomatize sistem verileri yanı sıra seftazidim, seftazidim/klavulonat Etest stripleri kullanılmıştır. Disk difüzyon ve Etest değerlendirmeleri, plaklar 35°C'de enkübe edildikten 18-24 saat sonra yapılmıştır. Etest ile bulunan minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, CLSI antibiyotik duyarlılık kriterlerine göre duyarlı, orta duyarlı, dirençli olarak değerlendirilmiş ve PhoenixTM100 sistemi ile GSBL pozitif olarak belirlenen suşlar, seftazidim (TZ), seftazidim/klavulonat (TZL/TZ) Etest stripleri ile (TZ≥1 µg/ml ve TZL/TZ≥8 µg/ml) teyit edilmiştir ⁽⁶⁾. *E. coli* ve *K. pneumoniae* tigesiklin disk difüzyon duyarlılığı Food and Drug Administration (FDA)

kriterlerine göre yorumlanmış ve *A. baumannii* için de aynı kriterler kullanılmıştır ⁽⁵⁾. Ancak, Jones ve ark.'nın ⁽⁷⁾ *Acinetobacter* suşlarında MİK ve disk difüzyon sonuçları arasındaki belirgin farkı azaltmak için uyguladığı kriterler (duyarlılık için; ≥19 yerine ≥16 mm, direnç için; ≤14 mm yerine ≤12 mm) bu çalışmada da uygulanmıştır.

BULGULAR

Tigesiklin disk difüzyon duyarlılıkları FDA (≥19 mm ve ≤14 mm) ve *A. baumannii* için Jones kriterleri (≥16 mm ve ≤12 mm) kullanılarak yorumlanmış ve Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Tigesiklin disk difüzyon sonuçları.

	Duyarlı n (%)	Orta Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47 suş)	29 (%62)	18 (%38)	0 (%0)
<i>Escherichia coli</i> (43 suş)	30 (%70)	12 (%28)	1 (%2)
<i>Acinetobacter baumannii</i> (56 suş)	11 (%20)	31 (%55)	14 (%25)
<i>A. baumannii</i> (Jones kriterleri/önerileri)	31 (%55)	17 (%30)	8 (%14)

Tablo 2'de *A. baumannii*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının Etest yöntemi ile tigesiklin, imipenem ve sefaperazon/sulbaktam'a karşı belirlenen antibiyotik duyarlılıkları görülmektedir. *A. baumannii* suşlarında en yüksek direnç oranları imipenemde, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında ise en yüksek direnç oranları sefaperazon/sulbaktamda saptanmıştır.

E. coli suşlarında %49 (21 suş) oranında GSBL pozitifliği saptanmış ve GSBL(+) suşlardan yalnızca biri (%2) hem tigesiklin (MİK değeri ≥8 µg/ml) hem de imipeneme dirençli bulunmuştur.

K. pneumoniae için GSBL oranı %28 (13 suş) olarak saptanmış ve GSBL(+) suşlarda tigesiklin direnci tespit edilmemiştir. İmipenem dirençli tek suşta da tigesiklin direnci saptanmazken, bu suş GSBL (+) olarak bulunmuştur.

İmipenem dirençli *A. baumannii* suşlarının (33 suş) hemen hemen yarısı (17 suş=%51) ise tigesikline dirençli bulunmuştur.

Tablo 2. *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae* suşlarında Ettest ile belirlenen tigesiklin, imipenem ve sefaperazon/sulbaktam duyarlılığı

	Tigesiklin			İmipenem			Sefaperazon/sulbaktam		
	Duyarlı	OD	Dirençli	Duyarlı	OD	Dirençli	Duyarlı	OD	Dirençli
<i>Acinetobacter baumannii</i> (56 suş)	8 (%15)	8 (%15)	26 (%46)	20 (%36)	3 (%5)	33 (%59)	48 (%86)	3 (%5)	5 (%9)
<i>Escherichia coli</i> (43 suş)	41 (%96)	41 (%96)	1 (%2)	41 (%95)	0 (%0)	2 (%5)	27 (%63)	9 (%21)	7 (%16)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47 suş)	35 (%74)	35 (%74)	0 (%0)	46 (%98)	0 (%0)	1 (%2)	38 (%81)	3 (%6)	6 (%13)

OD: Orta duyarlı

TARTIŞMA

Tanı ve tedavi alanlarındaki gelişmelere rağmen, artan antibiyotik direnci son yıllarda önemli bir sorun haline gelmiştir. Özellikle yoğun bakımlar, hematoloji-onkoloji klinikleri, transplantasyon üniteleri gibi kritik hasta gruplarının bulunduğu alanlarda dirençli suşlarla gelişen hastane enfeksiyonları, mortalite ve ciddi morbiditeye ve ayrıca maliyet artışlarına da neden olmaktadır⁽⁵⁾.

FDA tarafından 2005 yılında onay alan tigesiklin ile ilgili yapılan çalışmalar, ilacın komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve komplike intraabdominal enfeksiyonlarda etkili olduğunu göstermektedir. MRSA, *Enterobacteriaceae* türleri, GSBL üreten gram negatifler, çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* türleri ve dirençli gram pozitif kokların etken olduğu polimikrobik enfeksiyonlarda tercih edilebilecek bir antibiyotik olduğu noktasında birleşmektedir⁽⁵⁾. EARSS 2003-2009 sonuçlarına göre, *E. coli* için 2003'te %29.1 olarak bulunan GSBL oranı 2009'da %43.7 yükselmiştir. Üçüncü kuşak sefalosporinler ve karbapenemlere, 2003 yılında sırasıyla %28.6 ve %0.5 direnç oranları saptanmışken, 2009'da bu oranlar %44.9 ve %0.1 olarak bulunmuştur⁽⁸⁾. Bu çalışmada da benzer şekilde *E. coli* için GSBL oranı %49 olarak bulunmuş ve GSBL(+) *E. coli*'lerde tigesiklin direnci (MIC \geq 8 μ g/ml) yalnız bir (%2) suşta tespit edilmiştir. Üçüncü kuşak sefalosporin (sefaperazon/sulbaktam) direnci biraz daha düşük (%16) saptanmışken, imipeneme daha yüksek (%5) direnç bulunmuştur. *K. pneumoniae* için ise GSBL pozitifliği %28 bulunurken, GSBL(+) *K. pneumoniae*'ler içinde tigesiklin direnci tespit edilmemiştir. Sefaperazon/sulbaktam'a %13, imipeneme ise %2 direnç bulunurken; imipenem dirençli tek *K. pneumoniae* suşu tigesikline duyarlı bulunmuştur. Sonuç olarak, tigesiklin direnci GSBL (+) ve imipenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlardan yalnızca bir tanesinde görül-

müştür. Hastane ve toplum kökenli enfeksiyonların en sık etkenlerinden olan *E. coli* ve *K. pneumoniae*, her yıl giderek artan GSBL oranları yüzünden hasta ve toplum sağlığını ciddi anlamda tehdit etmektedir. Şu an GSBL oranları kadar olmasa bile ilerleyen yıllarda önemli bir sorun haline geleceği öngörülen karbapenem direnci de göz önünde bulundurulduğunda tigesiklin iyi bir tedavi seçeneği olabilir.

Acinetobacter türleri, son yıllarda nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkili morbidite ve mortalitede artan oranlarda rol oynamaktadır⁽⁹⁾. *A. baumannii* izolatlarındaki yüksek antibiyotik direnç oranları, bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde alternatif tedavi seçeneklerine gereksinim doğurmaktadır. Dünyanın bir çok ülkesinden, çoklu antibiyotik direncine sahip *A. baumannii* salgınları ile ilgili raporlar bildirilmektedir⁽⁹⁻¹¹⁾. Cansız ve kuru yüzeylerde çok uzun süre canlılığını sürdürebilmesi, birçok antibiyotik grubuna karşı dirençli olması, bakteriyi yoğun bakım ünitelerindeki salgınlarda önemli bir patojen olarak karşımıza çıkarmaktadır⁽¹²⁾.

Eraksoy ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından 2007 yılında yayımlanan MYSTIC sürveyans çalışmasının Türkiye sonuçlarına göre, *Acinetobacter* türleri üzerine en yüksek etkinliğe sahip antibiyotiklerin, karbapenemler olduğu gözlenmiştir. Türkiye'den 13 merkezin katıldığı ve 2007 yılı izolatlarının değerlendirildiği HİTİT-2 süveyans çalışmasında ise *A. baumannii* suşlarında en düşük direnç oranlarının sırasıyla sefoperazon/sulbaktam ve imipenemde olduğu ve ayrıca değişik merkezlere göre direnç oranlarının oldukça farklılık gösterdiği gözlenmiştir⁽¹³⁾. Çalışmamızda imipenem direnci %59 olarak yüksek değerlerde tespit edilmiş ve imipenem dirençli suşlarda tigesiklin direnci nereden ise yarı yarıya (%51) olarak saptanmıştır.

Tigesiklinin in vitro antibiyotik duyarlılığı için bir çok çalışmada kantitatif MİK yöntemleri (sıvı mikro-

dilüsyon veya Etest) kullanılmakla birlikte disk difüzyon yönteminin denendiği çalışmalar da sürdürülmektedir.

Bu doğrultuda Jones ve ark. (7) FDA'in *Enterobacteriaceae* için belirlediği disk difüzyon kriterlerini (≥ 19 mm ve ≤ 14 mm) *Acinetobacter* türleri için kullandıklarında MİK ve disk difüzyon sonuçları oranında %23.3 gibi kabul edilemez bir farklılık olduğunu, sınır değerlerin ≥ 16 mm ve ≤ 12 mm olarak değiştirdiklerinde iki yöntem arasındaki hata oranının kabul edilebilir seviye olan %9.7'ye gerilediğini belirlemiştir. Benzer şekilde Navon-Venezia ve ark. (14) zon çapını ≥ 19 mm olarak kabul ettiklerinde *A. baumannii* suşlarında %66 gibi yüksek bir direnç oranı bulmuştur. Curcio ve ark. (15) aynı zon çapını kullandıklarında *Acinetobacter* türlerinde %26'lık bir direnç bildirmiş, buna karşılık Jones ve ark.'nın (7) belirlediği kriterleri kullandıklarında (≥ 16 mm) ise bu direnç oranının %3'e düştüğünü belirlemişlerdir.

Çalışmamızda da Jones ve ark.'nın (7) kriterleri kullanıldığında, dirençli suş oranı %25'ten %14 düşerken, duyarlı suş oranı %20'den %55'e yükselmiştir. Ancak, Etest yöntemi ile elde edilen veriler oldukça farklıdır. Tablo 1 ve Tablo 2'de yer alan *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının tigesikline karşı disk difüzyon ve Etest yöntemleri ile elde edilen sonuçları ile *A. baumannii* suşlarının sonuçları karşılaştırıldığında, tigesiklin disk difüzyon yönteminin *A. baumannii* suşlarında sorunlu olduğu literatürle uyumlu olarak bu çalışmada da görülmektedir.

Ülkemizde ve dünyada halen birçok laboratuvarında antibiyotik duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemi ile yapılmaktadır. Sonuçlar karşılaştırılırken hangi yöntemlerin kullanıldığına dikkat etmek gerekir. Ayrıca artan karbapenem direnci konuyu daha önemli hale getirmektedir. Bu nedenle disk difüzyon yöntemiyle *Acinetobacter* türlerinde tigesiklin duyarlılığının belirlenmesinde daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. **Ulusoy S.** Tigesiklin. *ANKEM Derg* 2006; 20:117-9.
2. **Betriu C, Rodriguez-Avial I, Sanchez BA, et al.** In vitro activities of tigecycline (GAR-936) against recently isolated clinical bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 40:173-7.
3. **Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC.** Activities of the glycyglycylglycyl tigecycline (GAR-936) against 1924 recent European clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:400-4.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.47.1.400-404.2003>
PMid:12499224 PMCid:149011
4. **Peterson PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, Sum PE, Testa RT.** In vitro and in vivo antibacterial activities of novel glycyglycylglycyl, the 9-tbutylglycylamide derivative of minocycline (GAR-936). *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:738-44.
PMid:10103174 PMCid:89200
5. **Çalk N, Akova M.** Tigesiklin. *ANKEM Derg* 2007; 21(Ek2): E29-33.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th informational supplement, M100-S18. Wayne PA: CLSI, 2008.
7. **Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sader HS.** Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2007; 45:227-30.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01588-06>
PMid:17093026 PMCid:1828968
8. **Gülmez D, Gür D, Haşcelik G, EARSS-Türkiye Çalışma Grubu.** Kandan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında antimikrobiyal duyarlılık: EARSS 2003-2009. XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, 7-11 Kasım 2010, Girm: Kıbrıs. Sayfa 213.
9. **Maragakis LL, Cosgrove SE, Song X, et al.** An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* associated with pulsatile lavage wound treatment. *JAMA* 2004; 292:3006-11.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.292.24.3006>
PMid:15613669
10. **Karageorgopoulos DE, Falagas ME.** Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect Dis* 2008; 8:751-62.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70279-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70279-2)
11. **Eraksoy H, Basustaoglu A, Korten V, et al.** Susceptibility of bacterial isolates from Turkey—a report from the meropenem yearly susceptibility test information collection (MYSTIC) Program. *J Chemother* 2007; 19:650-7.
12. **Turner PJ.** MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63:217-22.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.11.004>
PMid:19070453
13. **Gür D, Gülay Z, HİTİT-2 Sürveyansı Çalışma Grubu.** Gram negatif hastane izolatlarında antibiyotiklere direnç:HİTİT-2 sürveyans çalışmasının sonuçları. 14. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı, 25-29 Mart 2009, Antalya: Türkiye. Sayfa 196.
14. **Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y.** High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:772-4.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm018>
PMid:17353223
15. **Curcio D, Fernández F, Jones RN et al.** Tigecycline disk diffusion breakpoints of *Acinetobacter* spp: a clinical point of view. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2095-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00107-07>
PMid:17548459 PMCid:1933103