



# Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastalardan Elde Edilen Metisilin Dirençli Stafilokok Suşlarında Tigesiklin Etkinliğinin Araştırılması

## *Investigation of Antimicrobial Activity of Tigecycline in Methicillin Resistant Staphylococci Isolated from Hospitalized Patients in Intensive Care Units*

Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin\*

*İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye*

*\*İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Haseki, İstanbul, Türkiye*

### Öz

**Amaç:** Çalışmamızda yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen metisilin dirençli stafilokok suşlarında tigesiklinin *in vitro* aktivitesinin değerlendirilmesi amaçlandı.

**Yöntemler:** Haziran 2014-Aralık 2015 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Koroner ve Cerrahi Yoğun Bakım Üniteleri'nde yatan hastaların kan, yara, idrar, kateter ucu, endotrakeal aspirasyon (ETA) ve balgam kültürlerinden izole edilen metisilin dirençli stafilokoklar incelendi. Stafilokokların identifikasyonu için konvansiyonel metodlar kullanıldı ve antibiyotik duyarlılık testleri Mueller Hinton Agar'ın Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı.

**Bulgular:** Altmış yedi metisilin dirençli stafilokok suşununun 37'si (%55,2) *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve 30'u (%44,8) koagülaz negatif stafilokok (MRKNS) olarak tanımlandı. MRSA'ların 20'si kan, 10'u yara, üçü ETA, ikisi idrar, biri kateter ucu ve biri de balgamdan izole edildi. MRKNS'lerin 20'si kan ve 10'u yaradan izole edildi ve tigesikline direnç saptanmadı.

**Sonuç:** Çalışmamızda metisilin dirençli stafilokok suşlarının tamamı tigesikline duyarlı bulundu. Tigesiklin, metisilin dirençli stafilokoklarla oluşan enfeksiyonlara karşı alternatif ilaç olarak kullanılabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Yoğun bakım ünitesi, metisilin dirençli stafilokok, tigesiklin

### Abstract

**Aim:** The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antimicrobial efficacy of tigecycline in methicillin-resistant staphylococci isolated from patients hospitalized in intensive care units.

**Methods:** We investigated methicillin-resistant staphylococci isolated from blood, wound, urine, catheter tips, endotracheal aspiration fluids (ETA), and sputum specimens of patients hospitalized in the coronary and surgical intensive care units at Istanbul University Cardiology Institute, between June 2014 and December 2015. All staphylococci were identified by the conventional methods and susceptibility testing was performed using Mueller-Hinton Agar by the Kirby-Bauer disc diffusion method.

**Results:** Of 67 methicillin-resistant staphylococci, 37 (55.2%) were *Staphylococcus aureus* (MRSA) and 30 (44.8%) were coagulase negative staphylococci (MRCNS). MRSA were isolated from blood (20), wound (10), ETA (3), urine (2), catheter tips (1) and sputum (1). MRCNS were also identified in blood (20) and wound (10). All staphylococci were susceptible to tigecycline.

**Conclusion:** In our study, tigecycline was effective against all methicillin resistant staphylococci. Tigecycline can be an alternative to other drugs against infections caused by methicillin-resistant staphylococci.

**Keywords:** Intensive care unit, methicillin resistant *staphylococci*, tigecycline

### Giriş

Stafilokoklar insan bakteri florasının bir üyesidirler ve insanda zararsız bir şekilde kolonize olabilirler. *Staphylococcus aureus* bütün dünyada toplum ve hastane

kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenidir. Hastane enfeksiyonları günümüzde çok önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Günümüzde koagülaz negatif stafilokoklar da hastane enfeksiyonları etkenleri arasında

önemli bir yer yere sahiptir. Hastane enfeksiyonlarının üçte biri yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) oluşur. Bu enfeksiyonların gelişmesi; YBÜ'lerine yatan hastaların antibiyotik kullanımı ve dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon, invaziv cihazların ve işlemlerinin süresi, tipi ve sayısı, YBÜ'de kalış süresi, bozulmuş konak savunması ve altta yatan hastalığın mevcudiyeti gibi predispozan faktörlerin yüksek insidansına bağlıdır (1-6). *Staphylococcus aureus*'a metisilin direnci ilk olarak 1961 yılında bildirilmiştir. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları bütün beta laktam antibiyotiklere dirençlidirler. Bu nedenle glikopeptid antibiyotikler MRSA tedavisinde ilk seçenek olmuştur. Son yıllarda vankomisin intermediate ve hetero-rezistan MRSA suşların bildirilmesiyle birlikte alternatif antibiyotiklere gereksinim oluşmuştur (1-3,7).

Tigesiklin, klasik tetrasiklinlerin semi-sentetik analogu olan glisilsiklin denen antibiyotik grubunun ilk üyesidir. Tigesiklin pasif difüzyonla porinler yoluyla bakterilerin dış membranından geçerek enerji bağımlı mekanizma tarafından sitoplazmaya ulaşarak ribozomlardaki protein sentezini inhibe eder. Bu etki, ilacın bakterilerin 30S ribozomal alt ünitesine bağlanarak aminoacyl tRNA'nın hedefine girişini engelleyerek oluşur ve etki bakteriyostatiktir. Tigesiklinin en önemli özelliği, ribozomal korunma ve efluks mekanizmaları gibi iki büyük tetrasiklin direnç mekanizmasına karşı etkili olmasıdır. Tigesiklin ve diğer antibiyotikler arasında çapraz direnç gözlenmemiştir. Tigesiklin aerob, Gram pozitif, Gram negatif, anaerob ve atipik bakteriyel patojenlere karşı geniş spektrumlu *in vivo* ve *in vitro* etkiye sahiptir. MRSA, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*, vankomisine dirençli enterokoklar, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Acinetobacter* cinsi çoğul dirençli bakterilere de etkilidir. *Bacteroides* cinsi *Clostridium perfringens* ve *Peptostreptococcus* cinsi anaerobik bakterilere, intrasellüler mikroorganizmalara ve non-tüberküloz mikobakterilere karşı da etkilidir. Bununla birlikte, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı aktivitesi düşüktür ve *Proteus mirabilis*'e karşı ise orta derecede etkiye sahiptir (8-13).

Çalışmamızda, Haziran 2014-Aralık 2015 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü koroner ve cerrahi ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen metisilin dirençli stafilokokların tigesikline karşı *in vitro* etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Yöntemler

Haziran 2014-Aralık 2015 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Koroner ve Cerrahi YBÜ'lerinde yatan hastaların mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerinden (kan, yara, idrar, kateter ucu, endotrakeal aspirasyon ve balgam) izole

edilen 67 metisilin dirençli stafilokok çalışmaya alındı (Tablo). Her hastaya ait aynı örnekten bir suş çalışılmıştır. Kan kültürleri BACTEC/9050 (Becton Dickinson, Maryland, USA) otomatize kan kültür sisteminde inkübe edildi. Örneklerin %5 koyun kanlı agar ve endo besiyerlerine ekimleri yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların makroskopik görünüşleri, koloni morfolojileri ve Gram boyama özellikleri incelendi. Bütün mikroorganizmaların identifikasyonu konvansiyonel metodlarla yapıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterlerine göre yapıldı ve değerlendirildi (14). Kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanıldı. Stafilokokların metisilin duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile yapıldı ve CLSI standartları doğrultusunda değerlendirildi. Bu amaçla Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid, UK) besiyerine 0,5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu yayıldı ve üzerine 30 µg sefoksitin (Oxoid, UK) diski yerleştirildi. 37°C'de 24 saat inkübe edildi ve zon çapları değerlendirildi.

Tigesiklin duyarlılığı için metisilin dirençli stafilokokların saf ve taze bakterikültüründen 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlandı ve MHA plakları yüzeyine yayıldı. Besiyerlerinin yüzeyine tigesiklin (15 µg) diski yerleştirildi. Plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi ve zon çapları değerlendirildi. Tigesiklin sonuçları Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Tigesiklin zon çapı 19≥ mm duyarlı olarak değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışmamıza 67 metisilin dirençli stafilokok suşu dahil edilmiştir. Altmış yedi suşun 37'si (%55,2) *Staphylococcus aureus* ve 30'u (%44,8) ise koagülaz negatif stafilokok idi. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok suşlarında tigesikline direnç saptanmadı.

## Tartışma

YBÜ'ler hastane enfeksiyonları yönünden yüksek riskli alanlardır ve bütün hastane yataklarının %5-10'unu oluştururlar. YBÜ'lerdeki enfeksiyonlar diğer

**Tablo. İzole edilen metisilin dirençli stafilokokların dağılımı**

Örnek	MRSA	MRKNS
Kan	20	20
Yara	10	10
ETA	3	-
İdrar	2	-
Kateter ucu	1	-
Balgam	1	-
Toplam	37	30

ETA: Endotrakeal aspirasyon, MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, MRKNS: Metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokok

birimlere göre beş ile yedi kat daha fazladır. YBÜ'lerde el hijyenine önem verilmelidir. Alkol bazlı sabun kullanımının bakteriyel enfeksiyon riskini azalttığı bildirilmektedir. Dirençli mikroorganizmaların sağlık personeli ile taşınması önlenmeli, dirençli enfeksiyonlarda mutlaka eldiven kullanılmalı ve standart prosedürlere uyulmalıdır. Metisilin direnci bütün dünyada YBÜ'lerde ortaya çıkan bir problemdir. Hastanelerde özellikle de YBÜ'lerde MRSA enfeksiyonlarının yayılımını önlemek için gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve uygulanması çok önemlidir (1-3,15). Dirençli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç vardır. Tigesiklin çoğul dirençli enfeksiyonların tedavisinde alternatif bir antimikrobiyal ajandır (8-12).

İspanya'da Sorlozano ve ark. (16) yaptığı çalışmada metisilin duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında e-test ile tigesikline direnç saptamamışlardır. Hindistan'da Tellis ve ark. (17) e-test ile metisilin dirençli stafilokok suşlarının tamamını tigesikline duyarlı bulmuşlardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde Sader ve ark. (18) kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarından elde edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklarda tigesiklin duyarlılığını mikrodilüsyon metodu ile çalışmışlar, *Staphylococcus aureus*'ta tigesikline %99,4 oranında, koagülaz negatif stafilokoklarda ise %97,5 oranında duyarlılık saptamışlardır. Pakistan'da Kaleem ve ark. (3) MRSA suşlarını disk difüzyon metodu ile çalışmışlar ve bütün suşları tigesikline duyarlı bulmuşlardır. İran'da Khalili ve ark. (1) yaptığı çalışmada MRSA ve metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) suşları disk difüzyon ve e-test metodu ile çalışmışlar ve tigesikline direnç saptamamışlardır. Latin Amerika'da Garza-Gonzales ve Dowzicky'nin (2) yaptığı çalışmada ise 2004-2010 yılları arasında 3126 *Staphylococcus aureus* izolatu toplandı, bunların 1467'si (%46,9) MRSA olarak saptanmıştır. MDSA ve MRSA'larda tigesiklin duyarlılığı mikrodilüsyon metoduyla çalışılmış, stafilokok suşları tigesikline %99,9 duyarlı bulunmuştur ve üç MRSA'da tigesikline direnç saptanmıştır (Honduras'da bir suş ve El Salvador'da iki suş).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise, Öksüz ve Gürler (19) e-test metodu ile tigesiklin duyarlılığı çalışmış, 49 MRSA suşunda %2,59 MRKNS suşunda ise %3 oranında direnç saptamışlardır. Suşların izole edildiği hastaların tedavisinde tigesiklin kullanılmadığından, antibiyotik kullanımına bağlı olmayan bir mekanizma ile örneğin MATE atım pompası yoluyla direnç gelişmiş olabileceğini düşünmüşlerdir (19). Opuş ve ark.'nın (20) çalışmasında da MRSA suşlarında e-test metodu ile tigesiklin duyarlılığı araştırılmış ve bütün suşlar tigesikline duyarlı bulunmuştur. Köse ve ark. (21) çalışmalarında tigesiklin e-test metodu ile çalışılmış, MSSA ve MRSA suşlarının tamamı tigesikline duyarlı bulunmuştur. Zarakolu ve ark.'nın (22) çalışmasında MRSA suşlarının

e-test metodu ile tigesiklin duyarlılığı araştırılmış ve bütün suşlar tigesikline duyarlı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da YBÜ'lerimizden izole ettiğimiz metisilin dirençli stafilokoklarda tigesikline direnç saptanmamıştır ve yurt dışı ve yurt içinde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

## Sonuç

Çalışmamızda, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok suşlarında tigesikline direnç saptanmadı. Hastanemizde MRSA enfeksiyonlarının tedavisi için tigesiklin alternatif bir ilaç olabilir.

## Etik

Hasta Onayı: Çalışmamız *in vitro* olup laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmiştir. Konu ile ilgili hastaların tedavilerine müdahale edilmemiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafınca değerlendirilmiştir.

## Yazarlık Katkıları

Konsept: Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin. Dizayn: Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin. Veri Toplama veya İşleme: Emine Küçükateş. Analiz veya Yorumlama: Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin. Literatür Arama: Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin. Yazan: Emine Küçükateş, Nazmi Gültekin.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## Kaynaklar

1. Khalili H, Dashti-Khavidaki S, Khaleghi S, Maleki Z, Rasoolinejad M. Evaluation of tigecycline activity against methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* isolated from biological samples. *Iran J Pharm Res* 2010;9:61-5.
2. Garza-Gonzales E, Dowzicky MJ. Changes in *Staphylococcus aureus* susceptibility across Latin America between 2004 and 2010. *Braz J Infect Dis* 2013;17:13-9.
3. Kaleem F, Usman J, Hassan A, Omair M, Khalid A, Uddin R. Sensitivity pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients admitted in a tertiary care hospital of Pakistan. *Iran J Microbiol* 2010;2:141-3.
4. Vincent JL. Nosocomial infections in adult intensive-care units. *Lancet* 2003;361:2068-77.
5. Warren DK, Kollef MH. Prevention of hospital infection. *Microbes Infect* 2005;7:268-74.
6. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995;274:639-44.
7. Cartolano GL, Cheron M, Benabid D, Leneveu M, Boisvion A; Association of Hospital Bacteriologists, Virologists and Hygiene Professionals. Methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus (MRSA) with reduced susceptibility to glycopeptides (GISA) in 63 French general hospitals. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:448-51.
8. Petersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, Sum PE, Testa RT. In vitro and in vivo antibacterial activities of a novel glycycline, the 9-t-butylglycylamido derivate of minocycline (GAR-936). *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:738-44.
  9. Garrison MW, Neumiller JJ, Seter SM. Tigecycline: an investigational glycycline antimicrobial with activity against resistant gram-positive organisms. *Clin Ther* 2005;27:12-22.
  10. Noksın GA. Tigecycline: a new glycycline for treatment of serious infections. *Clin Infect Dis* 2005;41:303-14.
  11. Projan SJ. Preclinical pharmacology of GAR-936 , a novel glycycline antibacterial agent. *Pharmacotherapy* 2000;20:219-23.
  12. Zinner SH. Overview of antibiotic use and resistance: setting the stage for tigecycline. *Clin Infect Dis* 2005;41:289-92.
  13. Lee SY, Kuti JL, Nicolau DP. Polymyxins: older antibiotics for a new threat. *Conn Med* 2006;70:25-8.
  14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 19 th informational supplements, 2009; M100-S19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
  15. Barsanti MC, Woeltje KF. Infection prevention in the intensive care unit. *Inf Dis Clin N Am* 2009;23:703-25.
  16. Sorlozano A, Gutierrez J, Salmeron A, et al. Activity of tigecycline against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Granada, Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:532-6.
  17. Tellis R, Rao S, Lobo A. An in-vitro study of tigecycline susceptibility among multidrug resistant bacteria in a tertiary care hospital. *IJBR* 2012;3:192-5.
  18. Sader HS, Jones RN, Stilwell MG, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Tigecycline activity tested against 26,474 bloodstream infection isolates: a collection from 6 continents. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:181-6.
  19. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilokok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in vitro duyarlılık sonuçları. *Ankem Derg* 2009;23:71-7.
  20. Opuş A, Keşli R, Kurtoğlu MG, Güzelant A, Uysal EB. Metisiline dirençli stafilokok suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2012;69:121-6.
  21. Köse S, Ece G, Türken M, Gözaydın A, Tatar B. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi infeksiyon hastalıkları ve mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen bakterilerin tigesiklin ve diğer antibiyotiklere duyarlılığının incelenmesi. *Fırat Tıp Derg* 2012;17:10-3.
  22. Zarakolu P, Metan G, Altun B, Haşçelik G, Ünal S. Antimicrobial susceptibility, inducible macrolide-lincosamide-streptogramin B, and clonal diversity patterns of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Hacettepe University adult hospital. *Türk J Med Sci* 2009;39:783-9.