

## KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA TİGESİKLİNİN İN-VİTRO AKTİVİTESİ

Uğur ARSLAN, Ferhat IŞIK, İnci TUNCER

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya

### ÖZET

*Yeni bir glisilsiklin antibiyotik olan tigesiklin (GAR-936), çoğul ilaç dirençli türlerin de bulunduğu bir çok yaygın patojene karşı in-vitro etkili görünmektedir. Bu çalışmada, klinik örneklerden soyutlanan 50'si genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitif, 50'si negatif olan 100 Klebsiella pneumoniae suşuna karşı tigesiklinin in-vitro aktivitesi araştırılmıştır. Tigesiklin için MİK değerleri E-test metodu ile belirlenmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitif ve negatif K.pneumoniae suşları için tigesiklinin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırası ile 0.38-1 µg/ml ve 0.25-0.5 µg/ml olarak saptanmıştır. Suşların tümü tigesikline duyarlı bulunmuştur.*

**Anahtar sözcükler:** *Klebsiella pneumoniae, tigesiklin*

### SUMMARY

#### In-vitro Activities of Tigecycline in *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Specimens

*Tigecycline (GAR-936), a new glycycline antibiotic, has shown promising in-vitro activity against many common pathogens including multidrug resistant strains. In this study, the in-vitro activities of tigecycline against 100 Klebsiella pneumoniae (50 extended-spectrum beta-lactamase positive and 50 negative) strains isolated from clinical specimens were examined. MIC values of tigecycline were determined by E-test method. MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> results of tigecycline against extended spectrum beta-lactamase positive and negative K.pneumoniae isolates were 0.38-1 µg/ml and 0.25 -0.5 µg/ml, respectively. All isolates were found susceptible to tigecycline.*

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae, tigecycline*

### GİRİŞ

Tetrasiklinler geniş spektrumlu aktiviteleri sayesinde geçen kırk yıllık süre içinde, Gram pozitif ve negatif aerob bakterilere, birçok hücre içi patojene, ayrıca anaerob organizmalara karşı kullanılmıştır<sup>(8)</sup>. Bakterilerde enerjiye bağımlı bir pompa sistemi ile ilacın hücre içinde birikiminin engellenmesi ve ribozomal hedef bölgesindeki değişiklik (*tetM* gen ürünleri) gibi iki direnç mekanizmasının yaygınlaşması, zamanla bu ilacın tedavide kullanım alanını kısıtlamıştır<sup>(8,12,16)</sup>. Tetrasiklinlerin yeni jenerasyonu olan glisilsiklinler tetrasiklin direncinin üstesinden gelmek için geliştirilmiş semisentetik

analoglardır<sup>(13,15)</sup>. Tigesiklin (GAR-936), glisilsiklinlerin kullanıma sunulan ilk üyesidir. Bu yeni molekül, tetrasiklinlerin çekirdeğinde 9 pozisyonunda N-alkil-glisilamid modifikasyonu yapılarak oluşturulmuştur. Tigesiklin diğer glisilsiklinlere göre tetrasikline dirençli türlere çok daha etkili ve daha iyi tolere edilebilir görülmektedir<sup>(1,13,14)</sup>.

Son 20 yıldır genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) Gram negatif bakterilerde sefalosporinlere dirençte öne çıkan mekanizma olmuş ve klinikte önemli bir sorun haline gelmiştir. GSBL'ler ilk olarak 1980'li yıllarda, beta-laktamazlara dayanıklı geniş spektrumlu sefalosporinlerin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra hastane infeksiyonu

**Yazışma adresi:** İnci Tuncer, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

Tel.: (0332) 223 67 80, (0532) 683 00 28

e-posta: incituncer@yahoo.com

Alındığı tarih: 08.09.2006, revizyon kabulü: 13.11.2006

etkeni *Klebsiella pneumoniae* suşlarında saptanmıştır<sup>(10)</sup>.

Bu çalışmada, yatan hastalardan soyutlanan *K.pneumoniae* suşlarına tigesiklinin in-vitro aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı bakteri stoklarından seçilen, yatan hastaların klinik örneklerinden soyutlanmış, 50'si GSBL pozitif ve 50'si GSBL negatif olmak üzere toplam 100 *K.pneumoniae* suşu kullanılmıştır.

2004-2006 yılları arasında yatan hastalardan alınan bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen kültür örnekleri kanlı ve EMB agara ekilmiştir. Konvansiyonel yöntemler ile *Klebsiella* olarak belirlenen suşlar, API ID 32E (bioMerieux-Fransa) panelleri ile tür düzeyinde tanımlanmış ve -65°C'de dondurularak saklanmıştır. Bir hastanın birden fazla klinik örneğinden izolasyon yapıldığında suşların yalnız biri çalışmaya dahil edilmiştir.

GSBL aktivitesi CLSI standartlarına uygun olarak fenotipik doğrulama yöntemi ile saptanmıştır. Bunun için; 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan 4 mm kalınlığındaki Mueller-Hinton agar yüzeyine sürüntü ekim yapılarak seftazidim (30 µg), seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg), sefotaksim (30 µg) ve sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg) diskleri yerleştirilmiştir. Antibiyotiklerin klavulanik asitli diskle > 5 mm daha geniş inhibisyon zonu vermesi GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir<sup>(4)</sup>.

GSBL pozitif ve negatif *K.pneumoniae* suşlarında tigesiklin aktivitesini değerlendirmek için E-test yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan suşlar EMB agara pasaj yapılmış, üreyen bakteriler buyyon içinde süspanse edilerek McFarland 0.5 bulanıklık standardına göre ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonundan Mueller-Hinton besiyerine sürüntü ekim yapılarak, E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) stripleri yerleştirilmiştir. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda inhibisyon zonunun E-test şerit kenarını kestiği noktadaki antimikrobiyal yoğunluğu Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) olarak kaydedilmiştir. Çalışmada standart suş olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Tigesiklinin MİK değerleri FDA (Food and Drug Administration) önerilerine uyularak  $\leq 2$  µg/ml duyarlı,  $\geq 8$  µg/ml dirençli olarak kabul edilmiştir<sup>(7)</sup>.

## BULGULAR

Tigesiklinin, 50 GSBL pozitif ve 50 GSBL negatif

*K.pneumoniae* suşu için MİK değerleri tabloda gösterilmiştir. Çalışmada GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşlarında MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.38 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur. GSBL negatif *K.pneumoniae* suşlarında ise bu değerler sırası ile 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml olmuştur. GSBL pozitif suşlar için MİK aralığı 0.125-1.5 µg/ml, GSBL negatif suşlar için 0.094-0.75 µg/ml olarak saptanmıştır.

**Tablo:** Tigesiklinin, GSBL pozitif ve GSBL negatif *K.pneumoniae* suşları için MİK değerleri (µg/ml).

K.pneumoniae	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>	MİK aralığı
GSBL pozitif (n: 50)	0.38	1	0.125-1.5
GSBL negatif (n: 50)	0.25	0.5	0.094-0.75

## TARTIŞMA

*Klebsiella* türleri sağlıklı kişilerin % 5 kadarında nazofarinks ve barsakta kolonize olabilirler. Antibakteriyel ilaç kullanımı ve hastanede yatış süresi *Klebsiella* kolonizasyonunu arttırmaktadır<sup>(5)</sup>. *Klebsiella* infeksiyonlarına genellikle konakta kolonize olmuş suşlar kaynak oluşturmaktadır ve bu infeksiyonların çoğu hastane kaynaklıdır. Nozokomiyal *Klebsiella* infeksiyonlarına en sık neden olan tür ise *K.pneumoniae*'dir. *Klebsiella* türleri 1970'li yıllarda gentamisin direnci ile gündemdeyken, 1982'den beri GSBL yapan suşların giderek artan oranda soyutlanması ile sorun oluşturan bakteri olma özelliğini sürdürmektedir<sup>(17)</sup>. *Klebsiella* türlerinde, GSBL üretimi penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı en önemli direnç mekanizmalarından biri olup, klinikte tedaviye yanıtta başarısızlığın önde gelen nedenlerinden biridir<sup>(10)</sup>. Bu infeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotikler karbapenemlerdir<sup>(6)</sup>. Ancak GSBL pozitif *Klebsiella* suşlarında karbapenemlerin sıklıkla kullanılması sonucu, karbapenemlere karşı direnç gelişimi ile ilgili yayımlar dikkati çekmektedir<sup>(9)</sup>. Dolayısıyla GSBL pozitif *Klebsiella* suşlarına bağlı infeksiyonların tedavisinde ilaç seçimi dikkatlice yapılmalıdır. Bu infeksiyonların tedavisinde, bakterilerde ribozomun 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe eden tigesiklin iyi bir alternatif gibi görünmektedir<sup>(16)</sup>.

Tigesiklinin başlıca etki alanı Gram pozitif ve negatif bakteriler, anaeroplular ve hücre içi mikroorganizmalarıdır. Ayrıca metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*, vankomisine dirençli enterokoklar, GSBL üreten *Escherichia coli* ve *K.pneumoniae* gibi çoğul dirençli bakteriler de tigesiklinin etki alanına girmektedir<sup>(16)</sup>. Hoban ve ark.<sup>(11)</sup> TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial) programı bünyesinde 11 ülkeden 6,792 Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerinde tigesiklinin in-vitro aktivitesini incelemişler ve inceleme

sonucunda bu yeni glisilsiklin ajanın patojen bakterilerin bir çok türüne etkili olduğunu bildirmişler, GSBL pozitif ve negatif *K.pneumoniae* suşlarında MİK<sub>90</sub> değerini 2 µg/ml olarak bulmuşlardır. Benzer bir çalışmada Bouchillon ve ark.<sup>(3)</sup> GSBL pozitif ve negatif *K.pneumoniae* suşlarında MİK<sub>50</sub>-MİK<sub>90</sub> değerlerini sırası ile 1-2 µg/ml ve 0.5-1 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Biedenbach ve ark.<sup>(2)</sup> GSBL pozitif ve negatif *K.pneumoniae* suşları için tigesiklin aktivitesinin aynı olduğunu ve iki grup için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerinin sırası ile 0.25 ve 1 µg/ml olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Fritsche ve ark.<sup>(7)</sup> yaklaşık üçte biri tetrasikline dirençli 11,327 *Enterobacteriaceae* izolatında tigesiklinin in-vitro aktivitesini araştırmışlar, tetrasikline dirençli ve duyarlı GSBL pozitif *Klebsiella* suşlarında MİK<sub>90</sub> değerlerini sırası ile 1 ve 4 µg/ml olarak, GSBL negatif *Klebsiella* suşlarında ise sırası ile 0.5 ve 2 µg/ml olarak bulmuşlardır. Milatovic ve ark.<sup>(13)</sup> ile Gales ve Jones<sup>(8)</sup> *K.pneumoniae* suşlarında tigesiklinin MİK<sub>50</sub>-MİK<sub>90</sub> değerlerini sırası ile 0.5-1 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Araştırmamızın sonuçları yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşlarında MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.38 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur. GSBL negatif *K.pneumoniae* suşlarında ise bu değerler 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml'dir. Bu değerler FDA önerilerine göre irdelendiğinde tüm izolatlarımız tigesikline duyarlıdır. Sonuç olarak tigesiklin hem GSBL pozitif, hem GSBL negatif *K.pneumoniae* suşlarına bağlı infeksiyonların tedavisinde alternatif bir ilaç olarak görülmektedir. Tigesiklinin *K.pneumoniae* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılması önerilebilir bulunmakla birlikte, konuyla ilgili geniş çaplı klinik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- 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;46(3):892-5.
- Biedenbach DJ, Beach ML, Jones RN: In vitro antimicrobial activity of GAR-936 tested against antibiotic-resistant gram-positive blood stream infection isolates and strains producing extended-spectrum beta-lactamases, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;40(4):173-7.
- Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson HB et al: In vitro evaluation of tigecycline and comparative agents in 3049 clinical isolates: 2001 to 2002, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;51(4):291-5.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Gür D: Çeviri editörü): Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onbeşinci Bilgi Eki. M100-S14, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
- Çetinkaya Z, Çiftçi İH, Aktepe OC, Şafak B, Altındiş M: Klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2005;19(1):1-4.
- Dolapçı İ: Genişlemiş spektrumlu bata laktamazlar: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı, tedavi ve enfeksiyon kontrolündeki rolleri, *Mikrobiyol Bült* 2005;39(2):229-40.
- 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.
- Gales AC, Jones RN: Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylicycline, GAR-936 tested against 1,203 recent clinical bacterial isolates, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;36(1):19-36.
- Gültekin M, Ögünç D, Günsen F, Çolak D, Kırbas İ, Mamikoğlu L: Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 1999;13(4):515-20.
- Gür D: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, "Ulusoy S (ed): Beta-laktamazlar ve Klinik Önemi" kitabında s. 70, Bilimsel Tıp Yayınevi, İzmir (2005).
- Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson BM, Johnson JL, Dowzicky MJ, Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program) Group: In vitro activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program, 2004), *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52(3):215-27.
- Meagher AK, Ambrose PG, Grasele TH, Ellis-Grosse JE: The pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of tigecycline, *Clin Infect Dis* 2005;41 (Suppl 5):S333-40.
- Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC: Activities of the glycylicycline tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent European clinical bacterial isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(1):400-4.
- Petersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, Sum PE, Testa RT: In vitro and in vivo antibacterial activities of novel glycylicycline, the 9-t-butylglycylamido derivate of minocycline (GAR-936), *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(4):738-44.
- Peterson LR: Antimicrobial activity and pharmacokinetics/ pharmacodynamics of the novel glycylicycline, tigecycline, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52(3):163-4.
- Ulusoy S: Tigesiklin, *ANKEM Derg* 2006;20(Ek 2):117-9.
- Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Güriz H: Hastane kökenli GSBL yapan 50 *Klebsiella pneumoniae* suşunun bazı antibiyotiklere direnç oranları ve GSBL belirlenmesinde disklerarası mesafenin önemi, *Flora* 2001;6(3): 196-200.