

METİSİLİNE DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ LİNEZOLİD VE TİGESİKLİNE İN-VİTRO DUYARLILIĞI

Uğur ARSLAN, Şerife YÜKSEKKAYA, Ferhat IŞIK, İnci TUNCER

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

ÖZET

Tüm dünyada çoğul direnç gösteren Gram pozitif mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda önemli bir artış görülmektedir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bu tür infeksiyonlara neden olan en önemli mikroorganizmalardan biridir. Bu infeksiyonların tedavisinde glikopeptitler seçilen ilk ilaç olmalarına rağmen, son zamanlarda bu ilaçlara karşı da dirençli suşlar bildirilmektedir. Bu dirençli suşların artmasından dolayı yeni antimikrobiyal ilaçlara gereksinim duyulmuştur. Bu çalışmada bu ilaçlardan linezolid ve tigesiklinin MRSA suşlarına etkinliği E-test yöntemiyle araştırılmış ve MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri linezolid için 0.5 ve 1 µg/ml, tigesiklin için 0.094 ve 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. FDA (Food and Drug Administration) önerilerine göre suşların tümü linezolide ve tigesikline duyarlı bulunmuş ve bu iki ilacın MRSA infeksiyonlarında alternatif ilaçlar olarak düşünülebileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: linezolid, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, tigesiklin

SUMMARY

In Vitro Susceptibility of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains to Linezolid and Tigecycline

The incidence of infectious diseases caused by multidrug resistant Gram positive microorganisms has been increasing worldwide. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most important microorganisms that cause such infections. Although glycopeptides are the first line agents for the management of these infections, recently some glycopeptide resistant strains have been reported. This study was undertaken to investigate the in vitro susceptibility of MRSA strains to linezolid and tigecycline. MIC values for linezolid and tigecycline were determined by E test method. MIC₅₀ ve MIC₉₀ values for linezolid were determined as 0.5 and 1 µg/ml, for tigecycline were determined as 0.094 and 0.25 µg/ml, respectively. All isolates were found susceptible to these drugs according to the FDA (Food and Drug Administration) criteria. These drugs may be considered as alternative drugs for MRSA infections.

Keywords: linezolid, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, tigecycline

GİRİŞ

Staphylococcus aureus suşlarında metisiline direnç ilk kez 1961 yılında Barber tarafından bildirilmiştir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) o tarihten bu yana özellikle hastane kaynaklı lokal ve sistemik infeksiyonların önemli bir nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır⁽¹⁰⁾. MRSA suşlarının beta-laktam grubu birçok antimikrobiyale dirençli olması, bu bakteri grubunun oluşturduğu infeksiyonların tedavisi için etkin yeni antimikrobiyal ilaçlara gereksinimi gündeme getirmiştir⁽¹⁾. MRSA, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) ve vankomisine dirençli enterokok (VRE) infeksiyonlarının tedavisi için arayışlar sırasında iki antimikrobiyal geliştirilmiştir. Bunlardan biri oksazolidinon grubundan, Gram pozitif bakterilere etkili linezolidir. Sentetik bir ilaç olan ve protein sentezini inhibe ederek etki gösteren linezolidde karşı Gram pozitif bakterilerde intrinsek direnç geni bulunmamaktadır. Linezolid ribozomlarda 50S alt birimine bağlanarak, protein sentezinde başlangıç kompleksinin oluşmasını önler^(4,13). Yeni geliştirilen bir diğer antimikrobiyal ise Gram pozitif ve negatif aerobik bakterilere, birçok hücre içi patojene, ayrıca bazı anaerobik organizmalara karşı etkinliğe sahip tigesiklidir. Tigesiklin (GAR-936), klasik tetrasiklinlerin semi-sentetik analogu olan glisilsiklin grubunun ilk üyesidir. Bu yeni molekül tetrasiklinlerin temel çekirdeğindeki 9 pozisyonunda yapılan N-alkil-glisilamidin bir modifikasyonudur⁽¹⁴⁾. Tigesiklin, 30S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve amino-acyl transfer RNA'nın hedefine girişini engelleyerek etkisini gösterir. Böylece protein sentezi engellenir ve bakteriyel üreme durur^(2,12,14).

Bu çalışmada Türkiye'de yeni kullanıma giren linezolid ve yakın zamanda kullanıma girmesi planlanan tigesiklinin, çeşitli klinik örneklerden soyutlanan MRSA suşlarına karşı in-vitro aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları:

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2006 yılında çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 100 MRSA suşu tigesiklin için, bu suşların 80'i linezolid için çalışmaya alınmıştır. Klinik örneklerden üreyen stafilokokların identifikasyonu için beta-hemolizli kolonilere Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleri yapılmış ve *S.aureus* olarak belirlenen suşlar çalışmaya dahil edilmiştir. Soyutlanan *S.aureus* suşlarında metisilin direnci Müller-Hinton agarda oksasilin diski (1 µg) ile belirlenmiş, inhibisyon zon çapı 11 mm'den küçük olanlar MRSA olarak tanımlanmadan önce bir kez de sefoksitin (30 µg) diski ve MRSA identifikasyon besiyeri (bioMerieux-Fransa) ile test edilmiştir.

Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesi:

Linezolid ve tigesiklin aktivitesini değerlendirmek için E test yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan suşlar % 5 kanlı agara pasajlanmış, üreyen bakteriler buyyon içinde süspanse edilerek McFarland 0.5 bulanıklılık standardına ayarlanmıştır. Bakteri süspanسیونundan Müller-Hinton besiyerine sürüntü ekim yapılarak E test stripleri (AB Biodisk, Solna, İsveç) yerleştirilmiş, 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda inhibisyon zonunun E test şerit kenarını kestiği noktadaki antimikrobiyal yoğunluğu MİK olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar FDA (Food and Drug Administration) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (Bu kuruluş linezolid için <2 µg/ml MİK değerlerini duyarlı⁽¹³⁾, tigesiklin için ≤2 µg/ml değerlerini duyarlı, ≥8 µg/ml değerlerini dirençli⁽⁶⁾ olarak kabul etmektedir). Çalışmada standart suş olarak *S.aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

BULGULAR

Linezolidin 80 MRSA suşu için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml, MİK aralığı 0.25-1.5 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Tigesiklinin 100 MRSA suşu için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0.094 µg/ml ve 0.25 µg/ml, MİK aralığı 0.047-2 µg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo).

Tablo: Metisiline dirençli *S.aureus* suşları için linezolid ve tigesiklinin MİK değerleri.

Antibiyotikler	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK aralığı
Linezolid (n: 80)	0.5 µg/ml	1 µg/ml	0.25-1.5 µg/ml
Tigesiklin (n: 100)	0.094 µg/ml	0.25 µg/ml	0.047-2 µg/ml

Çalışmada MİK₉₀ değerleri temel alındığında, bu iki antibiyotiğin MRSA suşlarına oldukça etkili oldukları görülmüş ve FDA önerilerine göre, çalışmaya alınan MRSA suşlarının hepsi linezolid ve tigesikline duyarlı bulunmuştur.

TARTIŞMA

Son 20 yıl içerisinde tüm dünyada çoklu direnç gösteren mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlar artmıştır. Gram pozitif bakterilerde bu tür infeksiyonların tedavisinde glikopeptidler ilk ve bazen tek seçenек ilaç olmuştur. Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve ülkemizde glikopeptid grubu antibiyotikler VRE, PRSP ve MRSA gibi Gram pozitif mikroorganizmalar ile meydana gelen infeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır⁽¹¹⁾. Son araştırmalarda MRSA'lara

bağlı birkaç enfeksiyon olgusunda düşük düzeyde glikopeptid direnci bildirilmiştir^(5,7). Bu nedenle başta MRSA'lar olmak üzere çoğul direnç gösteren Gram pozitif mikroorganizmalar için yeni antimikrobiallere ihtiyaç duyulmuştur. Linezolid ve tigesiklin çoğul ilaç direnci gösteren mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli yeni antimikrobiyal ilaçlardır.

ABD'de FDA tarafından vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* enfeksiyonlarında, bakteremi olguları dahil olmak üzere linezolid kullanımı kabul edilmiştir. Bu ilaç faz III çalışma sonuçlarına göre: *S.pneumoniae*'ye bağlı toplum kökenli pnömonilerde (penisiline duyarlı suşlarda), *S.aureus*'a bağlı toplum kökenli ve hastane kökenli pnömonilerde (metisiline duyarlı ve metisiline dirençli suşlar dahil); *S.aureus*'a bağlı komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında (metisiline duyarlı ve metisiline dirençli suşlar dahil) ve *S. aureus*'a (sadece metisiline duyarlı suşlarda) ve *S.pyogenes*'e bağlı komplike olmayan deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanım onayı almıştır^(15, 17).

Tigesiklinin iki tane faz II, bir tane faz III çalışması gerçekleştirilmiştir. Biri komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, diğeri komplike intraabdominal enfeksiyonlarda olmak üzere iki faz II çalışması bulunmaktadır. Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları çalışmasında 25 ve 50 mg'lık iki farklı tigesiklin dozunun klinik ve mikrobiyolojik etkinlikleri, farmakokinetik özellikleri ve tolerabilitesi araştırılmıştır. 50 mg doz uygulanan hastalarda klinik kür % 85 ve mikrobiyolojik eradikasyon % 74 olarak bulunmuştur. Komplike intraabdominal enfeksiyonlarla ilgili çalışmada ise 50 mg doz uygulanan hastalarda, tedavi sonu gerek kür, gerekse mikrobiyolojik eradikasyon oranları % 75.8 olarak bildirilmiştir. Tigesiklinin, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında vankomisin ve aztroenam kombinasyonu ile karşılaştırıldığı faz III çalışmasında klinik etkinlik yönünden eşdeğer olarak bulunmuştur. İlaç Haziran 2005 tarihinde FDA onayı almıştır⁽¹⁶⁾.

Yurt dışında bu ilaçların Gram pozitif mikroorganizmalara etkinliğini belirleyen çok sayıda in-vitro duyarlılık testi yapılmıştır. İspanya'da Betriu ve ark.⁽²⁾ linezolid ve tigesikline dirençli MRSA suşu saptamamışlar ve MİK90 değerlerini sırasıyla 1 ve 0.5 µg/ml olarak bulmuşlardır. Hollanda'dan Milatoviç ve ark.⁽¹²⁾ ise bu değerleri sırasıyla 4 µg/ml ve 0.25 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Hsueh ve ark.⁽⁹⁾ Taiwan'da hastane kaynaklı MRSA suşları ile yaptıkları çalışmada ise linezolid ve tigesiklin için MİK90 değerlerini sırasıyla 2 ve 0.5 µg/ml olarak saptamışlardır. Fritsche ve ark.⁽⁶⁾ hastane ve toplumsal kaynaklı MRSA suşları ile yaptıkları çalışmada, linezolid ve tigesiklinin MİK90 değerlerini sırasıyla 2 ve 0.5 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Hoban ve ark.⁽⁸⁾ TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial) programı bünyesinde 11 ülkeden, 6.792 Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerinde değişik antibiyotiklerin in-vitro aktivitesini

incelemişler ve inceleme sonucunda 348 MRSA suşunda linezolid ve tigesiklinin MİK90 değerlerini sırasıyla 2 ve 0.25 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Bouchillon ve ark.⁽³⁾ ise bu oranları sırasıyla 4 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak bulmuşlardır. Araştırmamızın sonuçları yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre MRSA suşlarında linezolid için MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur. Tigesiklin için bu değerler sırasıyla 0.094 µg/ml ve 0.25 µg/ml'dir. Bu değerler FDA önerilerine göre irdelendiğinde çalışmaya alınan MRSA izolatlarımızın hepsi linezolid ve tigesikline duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak hem linezolid, hem tigesiklin MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde alternatif ilaçlar olarak görülmektedir. Linezolidin ve tigesiklinin MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasını önermekle birlikte, konuyla ilgili geniş çaplı klinik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısındayız. Ancak bu antibiyotiklerin son seçenek olarak kullanılmadığı takdirde mikroorganizmaların kendilerini savunmak adına geliştirdikleri ilaç direncinin ortaya çıkacağı da akılda tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Azap A, Özkan S, Aygün H ve ark: Moksifloksasin ve siprofloksasinin *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı in-vitro etkinliği, *İnfeksiyon Derg* 2005;19(1):97-100.
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;46(3):892-5.
3. 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.
4. Ford CW, Hamel JC, Stapert D et al: Oxazolidinones: A new class of antimicrobials, *Infect Med* 1999;16:435-45.
5. French G: Linezolid, *Int J Clin Pract* 2001;55(1):59-63.
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. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility, *J Antimicrob Chemother* 1997;40(1):135-6.
8. 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.
9. Hsueh PR, Chen WH, Teng LJ, Luh KT: Nosocomial infections due

- to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci at a university hospital in Taiwan from 1991 to 2003: resistance trends, antibiotic usage and in vitro activities of newer antimicrobial agents, *Intern J Antimicrob Agents* 2005;26(1):43-9.
10. Johnson AP, Pearson A, Duckworth G: Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):455-62.
 11. Kılıç A, Baysallar M, Küçükaraaslan A, Aydoğan H, Doğançlı L: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının kinupristin/dalfopristine in-vitro duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg* 2004;18(4):453-6.
 12. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC: Activities of the glycylicline tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent European clinical bacterial isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(1):400-4.
 13. Moellering Jr RC: Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial, *Ann Intern Med* 2003;138(2):135-42.
 14. Petersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, Sum PE, Testa RT: In vitro and in vivo antibacterial activities of novel glycylicline, the 9-t-butylglycylamido derivate of minocycline (GAR-936), *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(4):738-44.
 15. Rubinstein E, Isturiz R, Standiford HC et al: Worldwide assessment of linezolid's clinical safety and tolerability: Comparator-controlled phase III studies, *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(6):1824-31.
 16. Ulusoy S: Tigesiklin, *ANKEM Derg* 2006;20(Ek 2):117-9.
 17. Usluer G, Ünal S: Linezolid, *Flora* 2005;10(Ek 4):3-15.