

Tigesiklin ve Vankomisin Etkinliklerinin Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* ile Oluşturulan İn Vitro Biyofilm Modelinde Karşılaştırılması*

Comparison of Tigecycline and Vancomycin Activities in an In Vitro Biofilm Model Generated with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Halil ASLAN¹, Nur YAPAR²

¹ Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Kütahya

¹ Evliya Çelebi Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kütahya, Turkey.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

* Bu çalışma ilk yazarın uzmanlık tez çalışmasıdır.

Geliş Tarihi (Received): 30.04.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 11.09.2015

ÖZ

Günümüzde yüksek mortalite, uzun süreli hastanede yatış ve artan maliyete yol açan kan dolaşımı enfeksiyonlarının en sık sebebi damar içi kateterlerdir. Kateter ile ilişkili enfeksiyon etkenleri arasında stafilocoklar ilk sırayı almakta ve biyofilm oluşturma özellikleri nedeniyle hastaların tedavisi ve yönetiminde ciddi sorunlara yol açmaktadırlar. Vankomisin, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonlarının tedavisinde seçilecek ilaç olmasına karşın, bakteriyel biyofilm tabakasına etkisinin az olduğu bilinmektedir. Ülkemizde yeni kullanıma giren tigesiklin ise, geniş spektrumlu, iyi tolere edilebilen bir glisilsiklin antibiyotiktir. Bu çalışmada, bir in vitro MRSA biyofilm modelinde, tigesiklin ve vankomisin etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, hastanemizde kateter enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 10 MRSA suşu kullanılmıştır. Suşların metisin direnci oksasilin diski (1 µg) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile; biyofilm yapma özellikleri ise Kongo kırmızılı agar yöntemiyle araştırılmıştır. Silikon diskler üzerinde oluşturulan biyofilm tabakası 24 saat ve antibiyotik kilit tedavisi modelinde beş gün boyunca günlük dört saat, tigesiklin (2 mg/ml) ve vankomisine (2 mg/ml) maruz bırakılmıştır. Çalışmamızda, silikon disklerin antibiyotik ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu; koloni sayısı, tigesiklin grubunda 10⁵ cfu/ml'den ortalama 510 cfu/ml'ye ve vankomisin grubunda ortalama 3.800 cfu/ml'ye düşmüş, kontrol grubunda ise aynı (10⁵ cfu/ml) kalmıştır (p< 0.001). Antibiyotik kilit tedavi modelinde, günlük dört saat antibiyotikle inkübasyon sonrası; birinci günde tigesiklin grubunun ortalaması 1.800 cfu/ml, vankomisin grubunun ortalaması ise 8.700 cfu/ml olarak bulunmuş; iki grup arasında anlamlı fark

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Halil Aslan, Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Kütahya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 505 525 2779, **E-posta (E-mail):** halilaslan_79@hotmail.com

saptanmıştır ($p < 0.001$). Tigesiklin grubunda ikinci günden itibaren hiç üreme saptanmamış (0 cfu/ml); buna karşın vankomisin grubunda koloni sayısı ikinci, üçüncü ve dördüncü günler sırasıyla 2000, 260, 80 cfu/ml olarak izlenmiş, ancak beşinci günde üremenin olmadığı görülmüştür. Buna göre ilk günden itibaren dördüncü güne kadar tigesiklinin vankomisinden istatistiksel olarak daha etkili olduğu saptanmıştır (günlere göre sırasıyla; $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.013$). Sonuç olarak, silikon disklerde oluşturduğumuz biyofilm tabakasına tigesiklinin daha yüksek etki gösterdiği bulunmuş ve bu bulgular, kateter enfeksiyonlarının tedavisinde tigesiklinin iyi bir alternatif olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar sözcükler: Tigesiklin; vankomisin; *Staphylococcus aureus*; biyofilm; MRSA; in vitro.

ABSTRACT

Today, the most common cause of bloodstream infections, which led to high mortality, prolonged hospitalization and increased costs are the intravenous catheters. Among the microorganisms associated with catheter infections, staphylococci took the first place and because of their biofilm-forming properties they cause serious problems in treatment and management of the patients. Although the drug of choice in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection is vancomycin, its effect on the bacterial biofilm is known to be low. Tigecycline, newly used in our country is a well tolerated glycylcycline antibiotic. In this study, we aimed to compare the efficacy of tigecycline and vancomycin in an in vitro MRSA biofilm model. The study consisted of 10 MRSA strains, which were detected as causative agents of catheter-related infections in our hospital. The methicillin resistance of the strains were performed by disk diffusion test with oxacillin (1 µg) disks and the biofilm forming capacity of the strains was evaluated using the Congo red agar method. The silicone disks with created biofilm layer were exposed to tigecycline (2 mg/ml) and vancomycin (2 mg/ml) for 24 hours and for 5 days 4-hours per day in a model of antibiotic lock therapy. The present study showed that, after incubating the silicon discs in antibiotic solution for 24 hours, colony forming unit counts of MRSA decreased from 10^5 cfu/ml to 510 cfu/ml in the tigecycline group and from 10^5 cfu/ml to 3.800 cfu/ml in the vancomycin group and remained the same in the control (10^5 cfu/ml) group ($p < 0.001$). In the antibiotic lock therapy model, incubation with antibiotics for 4 hours per day, yielded that the average growth was 1.800 cfu/ml in the tigecycline group and 8.700 cfu/ml in the vancomycin group, which was statistically significant ($p < 0.001$). No growth was detected in the tigecycline group (0 cfu/ml) while in vancomycin group number of colonies in second, third and fourth days were 2.000, 260, 80 cfu/ml, respectively, no growth was seen in the fifth day. From the first day until the fourth day tigecycline was statistically more effective than vancomycin ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.013$, according to days respectively). As a result, it was determined that tigecycline showed a higher effect on MRSA biofilm layer created on silicon discs and the results suggested that tigecycline might be a good alternative in the treatment of catheter infections.

Keywords: Tigecycline; vancomycin; *Staphylococcus aureus*; biofilm; MRSA; in vitro.

GİRİŞ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), 1980'li yıllardan sonra tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. Vankomisine dirençli koagülaz-negatif stafilokokların ve hemen ardından vankomisine dirençli enterokokların ortaya çıkmasından sonra, *S.aureus* suşlarında korkulan ve beklenen vankomisin direnci ile ilgili ilk bulgular Japonya'dan 1997 yılında gelmiş ve bunu Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde izole edilen suşlar takip etmiştir¹.

Biyofilm tabakası, bakteriyi fagositoz ve degranülasyondan korur, kemotaksis ve opsonositofagositozu önler, nötrofil etkisini inhibe eder ve lenfosit aktivitesini azaltır. Biyofilm tabakasını ortadan kaldırmak son derece güç olup, biyofilm oluşturan bakteriler oldukça inatçı ve tedavisi güç enfeksiyonlara neden olurlar. Uygulanan antimikrobiyal ajanların bakteriye etki etmesi için biyofilm tabakasına difüze olması gerekir.

Tigesiklin, geniş etki alanı, önemli yan etkilerinin olmayışı ve direnç sorunu nedeniyle tedavisinde sıkıntılar yaşanan ve hastanede yatırılarak tedavisi gereken komplike deri, yumuşak doku ve intraabdominal enfeksiyonlarda kullanılmak üzere, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından Haziran 2005'te onaylanmıştır². Bununla birlikte bu antibiyotiğin, yapılacak çalışmalara göre başka endikasyonlarda da kullanılabileceği düşünülmektedir. Tigesiklin, ülkemizde yeni kullanıma girmiş olduğundan direnç oranlarının çok düşük olması beklenmektedir. Bu çalışmada, in vitro MRSA biyofilm modelinde, tigesiklin ile vankomisin etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşların Hazırlanması

Çalışma suşu olarak, hastanemizde kateter enfeksiyonu etkeni olarak saptamış 10 MRSA izolatu kullanıldı. Suşların tanımlanması ve doğrulanması konvansiyonel yöntemlerle (mikroskopi, katalaz, koagülaz testleri) yapıldı. Metisilin (oksasilin) direnci CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Suşlardan 0.5 McFarland bulanıklık standardına uygun (10^8 bakteri/ml) olarak steril serum fizyolojik (SF) içinde süspansiyonlar hazırlanıp %4 NaCl içeren Mueller-Hinton agar (Oxoid) besiyerine ekildi. 1 µg oksasilin (Oxoid) diski konularak 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 11 mm'nin altında zon çapı oluşturanlar dirençli kabul edildi. Kontrol suşu olarak oksasilin için inhibisyon zon çapları bilinen *S.aureus* ATCC 25923 standart suşu kullanıldı. On adet suşun hepsinin oksasiline dirençli olduğu gösterildi³.

Stafilokok suşlarının biyofilm yapma özellikleri Kongo kırmızılı agar yöntemi kullanılarak araştırıldı. Kongo kırmızılı besiyeri, litrede 10 g agar, 50 g süktroz, 37 g beyin-kalp infüzyon buyyonu ve 0.8 g Kongo kırmızısı içerecek şekilde hazırlandı. Bu besiyerlerine tek koloni düşecek şekilde yapılan ekimler 37°C'de bir gece inkübe edildi, koyu kırmızı-siyah koloni oluşturan suşlar biyofilm pozitif, pembe koloni oluşturanlar ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi. Suşların hepsinde koyu kırmızı-siyah koloniler gösterilerek biyofilm oluşturduğu belirlendi⁴. Ayrıca biyofilm oluşumu Dokuz Eylül Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümünde elektron mikroskobu kullanılarak da gösterildi.

Silikon Disklerin Hazırlanması

Çalışma için 90 adet steril silikon disk, üç gruba ayrılarak insan plazması içeren üç adet steril tüpte çalkalanarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra plazmadan çıkarılarak Mueller-Hinton buyyon (MHB) içinde hazırlanmış 1 ml bakteriyel inokulum ile değiştirildi ve 24 saat inkübe edildi. Bakteriyel inokulum, 10 adet MRSA suşunun 5.5×10^5 hücre/ml karışımı ile hazırlandı. İnokulum uzaklaştırıldı ve diskler %0.9 SF ile yıkandı³.

Silikon disklerden bir grup MHB içine, bir grup 2 mg/ml tigesiklin (Tygacil®, Wyeth) içeren tüplere ve bir grup 2 mg/ml vankomisin (Vankomisin HCl®, Abbott) içeren tüplere konularak inkübe edildi. 24 saat sonra diskler 5 ml %0.9'luk SF içine konularak 15 dk sonikasyon uygulandı. Son olarak tüpler 30 sn vortekslenildi ve tüplerden alınan 100 µl solüsyon, %5 koyun kanlı triptikaz soy agara ekildi. Plaklar bir gece 37°C'de inkübe edildi³. Daha sonra, dilüsyon faktörü göz önüne alınarak koloniler sayıldı [koloni oluşturan ünite (cfu)] ve hesaplamalar yapıldı.

Antibiyotik Kilit Tedavisi Modeli

Antibiyotik kilit tedavisi, komplike olmayan kateter enfeksiyonlarında, yüksek konsantrasyonda antibiyotik solüsyonu ile kateter lümeninin doldurulması ile kateteri sterilize etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu modelin oluşturulması amacıyla, 75 adet steril silikon disk üç gruba ayrıldı ve insan plazması içeren üç adet steril tüpte çalkalanarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra plazmadan çıkarılarak MHB içinde hazırlanmış 1 ml bakteriyel inokulum ile değiştirildi ve 24 saat inkübe edildi. Bakteriyel inokulum 10 adet MRSA suşunun 5.5×10^5 hücre/ml karışımı ile hazırlandı. İnokulum uzaklaştırıldı ve diskler %0.9 SF ile yıkandı³.

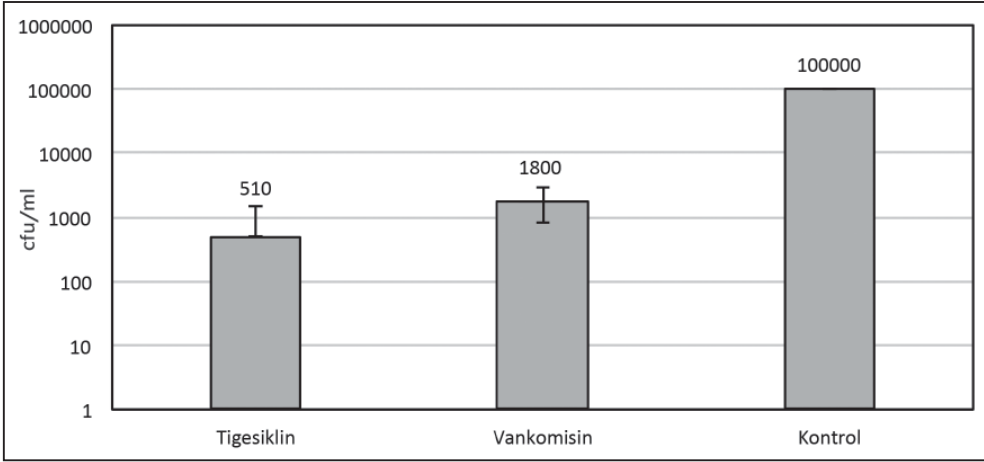
Silikon disklerden bir grup MHB içine, bir grup 2 mg/ml tigesiklin (Tygacil®, Wyeth) içeren tüplere ve bir grup 2 mg/ml vankomisin (Vankomisin HCl®, Abbott) içeren tüplere konularak, günlük 4 saat antibiyotikli solüsyon içinde bekletildi. Daha sonra diskler tekrar 20 saat MHB içinde inkübe edildi. Ardışık 5 gün boyunca, her gün antibiyotikli solüsyondan sonra beşer disk çıkarılarak yukarıda belirtilen şekilde ekim yapıldı³. Daha sonra, dilüsyon faktörü göz önüne alınarak koloniler sayıldı [koloni oluşturan ünite (cfu)] ve hesaplamalar yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Antibiyotiklerin biyofilm tabakası üzerine inhibitör etkilerini göstermek için sonuçlar Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. $p < 0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bu testte anlamlı fark bulunduğunda, Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon W testi ile ileri testler yapılarak farkın nereden kaynaklandığı gösterildi. Bütün hesaplamalar için SPSS 15.0 for Windows (Chicago, IL) kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada, silikon disklerin 24 saatlik antibiyotik ile inkübasyonu sonucu, koloni sayıları, tigesiklin grubunda 100.000 cfu/ml'den ortalama 510 cfu/ml'ye, vankomisin grubunda ise ortalama 3800 cfu/ml'ye düşmüştür. Kontrol grubunda ise 100.000 cfu/ml olarak kalmıştır (Şekil 1). Bu sonuçlara göre, tigesiklin ve vankomisin gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0.001$). Vankomisin ve tigesiklin grupları arasında da, tigesiklin vankomisine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha etkili bulunmuştur ($p < 0.001$). Bu veriler, biyofilm tabakasına 24 saatlik inkübasyon sonrasında, tigesiklinin vankomisinden daha etkili olduğunu göstermiştir (Şekil 1).

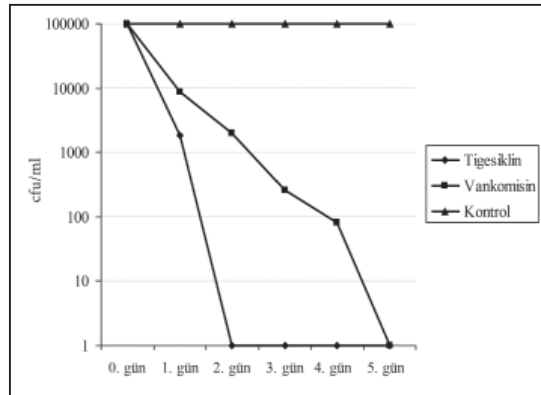


Şekil 1. Tigesiklin, vankomisin ve kontrol gruplarında 24 saatlik inkübasyon sonunda saptanan üremeler.

Antibiyotik kilit tedavi modelinde, günlük 4 saat antibiyotikle inkübasyon sonrası tigesiklin grubunun ortalaması birinci günde 1800 cfu/ml olurken, vankomisin grubunun ortalaması 8700 cfu/ml olarak izlenmiş ve iki grup arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0.001$). İkinci günde tigesiklin grubunda hiç üreme olmamış (0 cfu/ml gerileme), vankomisin grubu ise ortalama olarak 2000 cfu/ml'ye gerilemiştir. Yine ikinci günde, tigesiklinin vankomisinden daha etkili olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Vankomisin grubu üçüncü gün ortalama 260 cfu/ml olurken, tigesiklin grubunda üreme olmamıştır. Üçüncü günün sonunda, iki grup arasındaki anlamlı fark devam etmiştir ($p < 0.001$). Vankomisin grubu dördüncü günde ortalama olarak 80 cfu/ml'ye gerilemiş, tigesiklin grubunda yine üreme olmamıştır. Aradaki fark azalmakla birlikte anlamlılığını korumuştur ($p = 0.013$). Vankomisin grubunda ancak beşinci günde hiç üreme olmamış ve böylece üreme olmayan tigesiklin grubu ile beşinci günde fark saptanmamıştır ($p = 1.000$). Çalışma gruplarında günlere göre üreme miktarları Şekil 2'de görülmektedir.

TARTIŞMA

IDSA (Infectious Diseases Society of America) guideline, kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonlarında santral kateterleri kurtarma tedavisi olarak antibiyotik kilit tedavisini önermektedir⁵. Ancak hangi antibiyotığın daha etkili olduğu ve ne kadar süreyle kullanılacağı belirtilmemiştir. Antibiyotik tercihleri genellikle laboratuvarı bakteriyel süspansiyonları ile yapılan duyarlılık testlerine göre seçilmektedir. Halbuki duyarlı olan bir bakteri biyofilm tabakası içinde dirençli hale



Şekil 2. Antibiyotik kilit tedavisi modelinde; tigesiklin, vankomisin ve kontrol gruplarında günlere göre üremeler.

gelebilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda minosiklin ve daptomisin, vankomisin ve linezolid tedavilerine göre daha başarılı bulunmuştur³.

Vankomisin metisiline dirençli *S.aureus* ve *S.epidermidis* enfeksiyonlarında standart tedavi olmasına rağmen bakteriyel biyofilm tabakasına etkisi minimaldir. Bu etki ancak yüksek konsantrasyonlarda arttırılabilir. Ancak yüksek dozlarda kullanımı nefrotoksik ve ototoksik yan etkilere neden olmaktadır ve bu nedenle klinikte kullanımı kısıtlanmaktadır.

Biyofilm tabakasında bulunan MRSA'ya vankomisin sınırlı aktiviteye sahip olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir⁶⁻⁸. Bazı çalışmalarda stafilokokkal kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonlarında vankomisin ile beraber heparinin antibiyotik kilit tedavisinde kullanıldığı ancak kateterlerin az bir kısmının kurtarılabildiği belirtilmiştir⁹⁻¹¹. Diğer yandan uzamış vankomisin tedavisinin vankomisine dirençli *S.aureus* suşlarının ortaya çıktığını gösteren çalışmalar mevcuttur¹². Bu nedenle vankomisin kateter kurtarma tedavisinde en iyi seçenek olamamıştır.

Vankomisin tedavisinin başarısız olması üzerine vankomisinle birlikte çeşitli antibiyotiklerin kombinasyonları denenmiştir. Vankomisin ile rifampisin, vankomisin ile birlikte tigesiklin kombinasyonları, bakteriyelerin biyofilm tabakasına bağlanmasını azaltarak tek başına vankomisin tedavisine göre MRSA'ya bağlı biyofilm tabakasına daha etkili bulunmuştur^{13,14}. Ayrıca klaritromisin ile vankomisin kombinasyonunun da MRSA biyofilm tabakasına sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir¹⁵.

Başka bir çalışmada daptomisinin, metisiline dirençli *S.aureus* ve *S.epidermidis*'e bağlı biyofilm tabakasına çok etkili olduğu ve alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. Ancak bu ajanın klinik kullanıma kısa süre önce girmesi nedeniyle bu konuda klinik deneyimin az olduğu ve toksisite yönünden izlem gerektiği belirtilmektedir. Yine aynı çalışmada daptomisin düşük dozlarda biyofilm tabakasına etkili olmadığı, çok yüksek dozlarda (30 mg/kg) etkili olabildiği, klinik kullanımda önerilen dozun 6 mg/kg olduğu ve maksimum 8 mg/kg dozunda kullanılabileceği belirtilmiştir¹⁶.

Daptomisin ile yapılan başka bir çalışmada biyofilm tabakasına etkili olduğu bildirilmiştir. Daptomisinin vankomisin ve linezolidten daha hızlı bakterisidal etki gösterdiği belirtilmiştir¹⁷. Ancak bu etki için yüksek kalsiyum konsantrasyonuna ihtiyaç duyduğu ve EDTA gibi kalsiyum şelatörleri ile etkinliğin azalacağı vurgulanmıştır. Alternatif olarak heparin ile kullanılabileceği fakat heparinin de MRSA suşlarında biyofilm oluşumunu arttırabileceği bildirilmiştir¹⁸.

Linezolid ile silikon disklerde MRSA biyofilm tabakasına karşı yapılan etkinlik çalışmaları başarısız olmuştur. Bazı çalışmalarda linezolid *S.epidermidis*'in oluşturduğu biyofilm tabakasına etkili bulunmuştur⁶. Ancak bu etki 72 saatten sonra ortaya çıkmakta ve her zaman klinik olarak bu kadar beklemek mümkün olmamaktadır. Ayrıca günlük antibiyotik kilit tedavisi ile MRSA suşlarında linezolidle karşı duyarlılığın azaldığı bildirilmiştir⁸. Linezolid tedavisine rifampisin eklenerek MRSA ile oluşan biyofilm tabakasına karşı sinerjistik etki sağlanabilir¹⁹.

Rifampisin ile yapılan çalışmalarda, rifampisinin günlük dört saat ve 24 saatlik uygulamalarının biyofilm tabakasına etkili olduğu gösterilmiştir²⁰. Ancak günlük tekrarlayan dozlarda tek başına kullanıldığında çok kısa sürede direnç geliştiği bildirilmiştir²¹. Kombinasyon tedavisinde diğer antibiyotiklerin antistafilokoksik etkisini arttırdığı gösterilmiştir. MRSA ile oluşan biyofilm tedavisinde kombinasyonu tamamlayıcı rolü kesinleşmiştir. Kombinasyon tedavisinin direnci azalttığı belirtilmiştir. Bunlardan dolayı rifampisin, MRSA ile oluşan biyofilm tabakasına karşı kombinasyon tedavisinde diğer antistafilokokkal antibiyotiklerle birlikte en çok tercih edilen antibiyotik olmuştur^{14,22}.

Minosiklin daha önceki çalışmalarda biyofilm tabakasına karşı oldukça etkili bulunmuştur. Ayrıca in vitro yapılan bir çalışmada *S.aureus* ve *S.epidermidis* ile kateter yüzeylerindeki biyofilm tabakasına vankomisin veya vankomisin + heparinden daha etkili bulunmuştur²³. Yine aynı çalışmada minosikline EDTA eklenerek etkinliği artırılmıştır. Bu sayede biyofilm tabakasının daha etkin biçimde ortadan kaldırmak mümkün olmuştur. Takip eden klinik çalışmalarda hemodiyaliz hastaları ve pediatrik kanserli hastalarda minosiklin + EDTA, heparine göre kateter kolonizasyonu ve kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonlarında anlamlı şekilde daha etkin bulunmuştur^{24,25}. Minosiklin, EDTA ve %25'lik etanol üçlü kombinasyonu ile MRSA ile oluşan biyofilm tabakasını 15 dakika gibi kısa sürede ortadan kaldıracıcağını gösteren çalışmalar da mevcuttur²⁶.

Bir minosiklin türevi olan tigesiklinin biyofilm tabakası içerisinde MRSA ve glikopeptid-intermediate *S.aureus* suşlarına etkili olduğu bildirilmiştir³. Farelerle yapılan deneylerde tigesiklin, vankomisin üstün ve daptomisin kadar etkili bulunmuştur⁷.

Dört prospektif randomize kontrollü klinik çalışmada kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonlarını önlemede minosiklin ve rifampisin ile kaplı santral venöz kateterlerin antibiyotik kaplı olmayan veya diğer antiseptik kaplı kateterlere üstün olduğu gösterilmiştir²⁷⁻³⁰.

Başka bir çalışmada tigesiklin ve minosiklinin, *S.epidermidis* biyofilm modelinde bakterilere planktonik bakterilere olduğu kadar etkili olabildiği gösterilmiş ve tigesiklinin biyofilm tabakası içine çok iyi geçebildiği belirtilmiştir³¹. Tigesiklinin günlük 100 mg'lık doz ile 2 mg/L serum konsantrasyonu sağlandığı ve 8-32 MIC gibi orta düzey konsantrasyonlarda biyofilm tabakasına etkili olduğu belirtilmiştir¹⁶.

Her ne kadar tigesiklinin biyofilm tabakasına iyi geçse de daha hızlı etki elde etmek için tigesiklin de çeşitli kombinasyon tedavilerinde denenmektedir. N-acetylcysteine ile yapılan kombinasyon tedavisinde MRSA'ya bağlı biyofilm tabakasına sinerjistik etki elde edilebileceği bildirilmiştir³².

Bizim çalışmamızda da tigesiklin vankomisine göre in vitro koşullarda MRSA ile oluşan biyofilm tabakasına belirgin olarak daha etkili bulunmuştur. Bu sonuca göre kateter enfeksiyonları tedavisinde tigesiklinin iyi bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 1997; 350(9092): 1670-3.

2. Sacchidanand S, Penn RL, Embil JM, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy compared with vancomycin plus aztreonam in patients with complicated skin and skin structure infections: Results from a phase 3, randomized, double-blind trial. *Int J Infect Dis* 2005; 9(5): 251-61.
3. Raad I, Hanna H, Jiang Y, et al. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus bacteremic* isolates embedded in biofilm. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2007; 51(5): 1656-60.
4. Arciola CR, Campoccia D, Borrelli AM, Donati ME, Montanaro L. Congo red agar plate method: improved accuracy and new extended application to *Staphylococcus aureus*. *The new microbiologica* 2001; 24(4): 355-63.
5. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; 32(9): 1249-72.
6. Curtin J, Cormican M, Fleming G, Keelehan J, Collieran E. Linezolid compared with eperezolid, vancomycin, and gentamicin in an in vitro model of antimicrobial lock therapy for *Staphylococcus epidermidis* central venous catheter-related biofilm infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003; 47(10): 3145-8.
7. Petersen PJ, Bradford PA, Weiss WJ, Murphy TM, Sum PE, Projan SJ. In vitro and in vivo activities of tigecycline (GAR-936), daptomycin, and comparative antimicrobial agents against glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* and other resistant gram-positive pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2002; 46(8): 2595-601.
8. Wiederhold NP, Coyle EA, Raad I, Prince RA, Lewis RE. Antibacterial activity of linezolid and vancomycin in an in vitro pharmacodynamic model of gram-positive catheter-related bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(5): 792-5.
9. Bailey E, Berry N, Cheesbrough JS. Antimicrobial lock therapy for catheter-related bacteraemia among patients on maintenance haemodialysis. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(4): 615-7.
10. Krishnasami Z, Carlton D, Bimbo L, et al. Management of hemodialysis catheter-related bacteremia with an adjunctive antibiotic lock solution. *Kidney Int* 2002; 61(3): 1136-42.
11. Longuet P, Douard MC, Arlet G, Molina JM, Benoit C, Leport C. Venous access port--related bacteremia in patients with acquired immunodeficiency syndrome or cancer: the reservoir as a diagnostic and therapeutic tool. *Clin Infect Dis* 2001; 32(12): 1776-83.
12. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med* 2003; 348(14): 1342-7.
13. Rose WE, Poppens PT. Impact of biofilm on the in vitro activity of vancomycin alone and in combination with tigecycline and rifampicin against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63(3): 485-8.
14. Saginur R, Stdenis M, Ferris W, et al. Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2006; 50(1): 55-61.
15. Fujimura S, Sato T, Kikuchi T, Zaini J, Gomi K, Watanabe A. Efficacy of clarithromycin plus vancomycin in mice with implant-related infection caused by biofilm-forming *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Sci* 2009; 14(5): 658-61.
16. Hajdu S, Lassnigg A, Graninger W, Hirschl AM, Prestler E. Effects of vancomycin, daptomycin, fosfomycin, tigecycline, and ceftriaxone on *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Orthop Res* 2009.
17. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. In vitro bactericidal activity of daptomycin against staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(3): 467-70.
18. Shanks RM, Donegan NP, Graber ML, et al. Heparin stimulates *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Infect Immun* 2005; 73(8): 4596-606.
19. Grohs P, Kitzis MD, Gutmann L. In vitro bactericidal activities of linezolid in combination with vancomycin, gentamicin, ciprofloxacin, fusidic acid, and rifampin against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003; 47(1): 418-20.
20. Jones SM, Morgan M, Humphrey TJ, Lappin-Scott H. Effect of vancomycin and rifampicin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Lancet* 2001; 357(9249): 40-1.

21. Munson EL, Heard SO, Doern GV. In vitro exposure of bacteria to antimicrobial impregnated-central venous catheters does not directly lead to the emergence of antimicrobial resistance. *Chest* 2004; 126(5): 1628-35.
22. Raad I, Darouiche R, Hachem R, Sacilowski M, Bodey GP. Antibiotics and prevention of microbial colonization of catheters. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1995; 39(11): 2397-400.
23. Raad I, Chatzinikolaou I, Chaiban G, et al. In vitro and ex vivo activities of minocycline and EDTA against microorganisms embedded in biofilm on catheter surfaces. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003; 47(11): 3580-5.
24. Bleyer AJ, Mason L, Russell G, Raad, II, Sherertz RJ. A randomized, controlled trial of a new vascular catheter flush solution (minocycline-EDTA) in temporary hemodialysis access. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26(6): 520-4.
25. Chatzinikolaou I, Zipf TF, Hanna H, et al. Minocycline-ethylenediaminetetraacetate lock solution for the prevention of implantable port infections in children with cancer. *Clin Infect Dis* 2003; 36(1): 116-9.
26. Raad I, Hanna H, Dvorak T, Chaiban G, Hachem R. Optimal antimicrobial catheter lock solution, using different combinations of minocycline, EDTA, and 25-percent ethanol, rapidly eradicates organisms embedded in biofilm. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2007; 51(1): 78-83.
27. Chatzinikolaou I, Finkel K, Hanna H, et al. Antibiotic-coated hemodialysis catheters for the prevention of vascular catheter-related infections: a prospective, randomized study. *Am J Med* 2003; 115(5): 352-7.
28. Darouiche RO, Raad, II, Heard SO, et al. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. Catheter Study Group. *N Engl J Med* 1999; 340(1): 1-8.
29. Hanna H, Benjamin R, Chatzinikolaou I, et al. Long-term silicone central venous catheters impregnated with minocycline and rifampin decrease rates of catheter-related bloodstream infection in cancer patients: a prospective randomized clinical trial. *J Clin Oncol* 2004; 22(15): 3163-71.
30. Raad I, Darouiche R, Dupuis J, et al. Central venous catheters coated with minocycline and rifampin for the prevention of catheter-related colonization and bloodstream infections. A randomized, double-blind trial. The Texas Medical Center Catheter Study Group. *Ann Intern Med* 1997; 127(4): 267-74.
31. Labthavikul P, Petersen PJ, Bradford PA. In vitro activity of tigecycline against *Staphylococcus epidermidis* growing in an adherent-cell biofilm model. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003; 47(12): 3967-9.
32. Aslan S, Trautner BW, Ramanathan V, Darouiche RO. Combination of tigecycline and N-acetylcysteine reduces biofilm-embedded bacteria on vascular catheters. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2007; 51(4): 1556-8.