

POLİMİKSİN B'NİN İMİPENEME DİRENÇLİ ACINETOBACTER BAUMANNII SUŞLARINA KARŞI İN-VİTRO AKTİVİTESİ*

Emel SESLİ ÇETİN¹, Tülay TETİK², Selçuk KAYA¹, Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

²Sivas Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SİVAS

ÖZET

Acinetobacter baumannii'ye en etkili antibiyotikler içerisinde yer alan karbapenemlere karşı direncin son yıllarda giderek arttığı görülmüştür. İmipeneme dirençli suşlar genellikle sadece polimiksinlere duyarlı kalıp çoklu ilaç direnci gösterirler. Tedavi seçeneklerinin sınırlı olması nedeniyle antibiyotik duyarlılık testlerinde *A. baumannii*'nin en duyarlı bulunduğu grup olarak karşımıza çıkan polimiksinlerin [polimiksin B ve polimiksin E (kolistin)] kullanımı gündeme gelmiştir. Bu çalışmada Ocak-Aralık 2007 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden soyutlanan imipeneme dirençli 78 *A.baumannii* izolatına karşı polimiksin B'nin etkinliğinin E-test yöntemi ile in-vitro olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Değerlendirilen 78 *A.baumannii* izolatının polimiksin B için MİK değeri aralığı 0.064-128 µg/ml (MİK₅₀: 0.25 µg/ml, MİK₉₀: 0.75 µg/ml) olarak tespit edilmiş, CLSI standartlarına göre 78 suşun 76'sı (% 97) duyarlı, 2'si (% 3) dirençli MİK değerleri göstermiştir. Sonuç olarak çalışmamızda polimiksin B için tespit etmiş olduğumuz % 3'lük direnç oranı dünya literatüründeki verilerle uyumlu bulunmuş, hastanemizde izole edilen çoklu ilaç direnci gösteren *A.baumannii*'lerde polimiksin B için direnç problemimiz olmadığı görülmüştür. Yüksek duyarlılık oranları bu antibiyotiği önemli bir seçenek haline getirirse de çoklu dirençli *A.baumannii* infeksiyonlarında halen etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmış herhangi bir antibiyotik bulunmamaktadır. Bu nedenle bu antibiyotiğin klinik kullanımdaki yerini, kombinasyon tedavilerindeki etkinliğini ve yan etkilerini netleştirmeye yönelik klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik duyarlılık, hastane infeksiyonu, imipenem direnci, polimiksin B

SUMMARY

In vitro Activity of Polymyxin B against Imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* Strains

Continuously evolving resistance to carbapenems which are considered as the most effective antimicrobials against *Acinetobacter baumannii*, is being detected recently. These imipenem resistant strains usually exhibit multi-drug resistance remaining consistently susceptible only to polymyxins. Because of limited therapeutic options, clinicians have returned to the use of polymyxins [polymyxin B (PB) or polymyxin E (colistin)] which are being detected as the most active agents based on the results of in vitro susceptibility testing of the *A. baumannii* isolates. The aim of this study was to determine the in vitro activity of polymyxin B by E-test method, against 78 imipenem resistant *A.baumannii* strains isolated from clinical specimens between January and December 2007.

MIC values of tested strains for polymyxin B were between 0.064-128 µg/ml (MIC₅₀: 0.25 µg/ml, MIC₉₀: 0.75 µg/ml). Resistance to polymyxin B was detected in only 2 (3 %) strains, whereas the remaining 76 (97 %) were fully susceptible to polymyxin B according to CLSI criteria. In conclusion, the resistance rate of 3 % is in accordance with the published reports in the literature and this data suggests that resistance to polymyxin B is currently relatively rare among multi drug resistant *A.baumannii* isolates in our hospital. Although high sensitivity rates put forward this antibiotic as an important choice, there is no therapy that has been proven to be effective and reliable for patients with multidrug resistant *A.baumannii* infections on clinical grounds since there is limited clinical data. Thus, the need for a systematic clinical evaluation is evident to clarify the clinical utility, effectiveness in combination therapies and possible side effects of this antibiotic.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, antibiotic susceptibility, imipenem resistance, nosocomial infection, polymyxin B

İletişim adresi: Emel Sesli Çetin, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

Tel: (0246) 211 29 21, GSM: (0535) 977 71 90

e-posta:seslicetin@med.sdu.edu.tr

Alındığı tarih: 06.05.2011, yayına kabul: 06.06.2011

*XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No. 078 (7-11 Kasım 2010, KKTC)

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii, hastanede yatmakta olan hastalarda ventilatör ilişkili pnömoni, sepsis, yumuşak doku ve idrar yolu infeksiyonlarına neden olabilen en önemli etkenler arasında yer almaktadır. *A.baumannii*'nin hastane kaynaklı infeksiyonlar içerisindeki kritik önemi özellikle giderek artan antibiyotik direnci oranları nedeniyle tedavi güçlüğüne neden olmasından kaynaklanmaktadır⁽²⁾. Karbapenemler, son yıllara kadar *A.baumannii*'nin etken olduğu infeksiyonlarda sıklıkla ilk tercih olarak kullanılmıştır. Ancak son yıllarda yapılan sürveyans çalışmalarında aminoglikozidler, sefalosporinler, kinolonlar yanında bu bakterilere karşı halen birinci seçenek olmayı sürdüren karbapenemlere karşı da direncin artmakta olduğu görülmüş, nozokomiyal Gram negatif patojenler içerisinde kontrol ve tedavisi en güç olanlardan biri haline gelmiştir^(10,12).

İmipeneme dirençli suşların sıklıkla çoklu antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle sınırlı tedavi seçenekleri arasında antibiyotik duyarlılık testlerinde *A.baumannii*'nin tek duyarlı bulunduğu grup olarak karşımıza çıkan polimiksinlerin (polimiksin B ve polimiksin E) kullanımı gündeme gelmiştir^(7,10). Polimiksinler polipeptid katyonik antibiyotiklerdir. Bu sınıfta kolistin (polimiksin E) ve polimiksin B tanımlanmıştır. 1947'den beri bilinen polimiksinler nefrotoksisite, nörotoksisite ve nöromüsküler blokaj gibi önemli toksik potansiyelleri ve yerlerine kullanılabilir daha az toksik ve daha etkili yeni antibiyotiklerin bulunması ile 1970'li yıllardan sonra kullanımları terk edilmiştir. Ancak son yıllarda çoklu ilaç direnci gösteren Gram negatif suşların ortaya çıkması ve bu suşların imipenem dahil bir çok antibiyotiğe dirençli iken kolistin ve polimiksin B'ye direnç oranlarının % 2-3 gibi çok düşük düzeylerde bulunması nedeniyle polimiksinler tedavi seçeneği olarak yeniden gündeme gelmiştir⁽¹⁰⁾. Ayrıca son yıllarda elde edilen klinik deneyimler polimiksinlerin önceden sanıldığı kadar toksik olmadığını da göstermiş, bu antibiyotiklerin çoklu ilaç direnci gösteren Gram negatif bakterilerin sebep olduğu SSS infeksiyonlarında intratekal ya da intraventriküler olarak kullanımının yararı gösteril-

miş, nebulize polimiksinin pnömonili hastalarda i.v. tedaviye ek olarak ya da tek başına kullanılabilirliği bildirilmiştir⁽⁵⁾.

Antimikrobiyallere duyarlılık coğrafi bölgeler, hastaneler, hatta hastanelerin bölümleri arasında farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle özellikle çoklu antibiyotik direnci gösterebilen etkenlerle meydana gelen infeksiyon hastalıklarının tedavisi için uygun antibiyotiğin seçiminde lokal sürveyans verilerinin göz önüne alınması önemlidir. Hastanemizde izole edilen *A.baumannii* suşlarının polimiksin B'ye duyarlılıkları bugüne kadar araştırılmamıştır. Bu çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan ve disk difüzyon yöntemi ile imipeneme dirençli olduğu belirlenen 78 *A.baumannii* izolatının polimiksin B duyarlılık düzeylerinin E-test yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak-Aralık 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yatmakta olan hastalardan Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 78 *A.baumannii* suşu ile yapılmıştır. Örnekler % 5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue agar besiyerlerine ekilmiştir. *A.baumannii* suşlarının tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve yarı otomatize bakteri tanımlama sistemi (BBL Crystal Identification Systems, BD, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

A.baumannii suşlarının imipeneme duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre Mueller-Hinton agarda test edilip değerlendirilmiştir⁽¹⁾. E-test yöntemi için; *A.baumannii* suşları ile 0.5 McFarland bulanıklıkta süspansiyon hazırlanmış ve Mueller-Hinton besiyeri içeren plak yüzeyine yaygın ekim yapılmıştır. Plaklar kuruduktan sonra polimiksin B şeritleri (AB Biodisk, İsveç) yerleştirilmiş, plaklar 35±2°C'de, 20-24 saat inkübe edilmiştir. Polimiksin B için elde edilen minimum

inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri CLSI'nın önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Buna göre E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değeri ≥ 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olduğunda dirençli, ≤ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olduğunda duyarlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Değerlendirilen 78 *A.baumannii* izolatının klinik örneklerle ve servislere göre dağılımı tabloda gösterilmiştir. Suşların çoğunluğu yoğun bakım hastalarının kan kültürü örneklerinden izole edilmiş, bunu trakeal aspirat ve yara örnekleri izlemiştir. *A.baumannii* izolatlarının polimiksin B için MİK değer aralığı 0.064-128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (MİK₅₀ 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MİK₉₀ 0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$) olarak tespit edilmiş, CLSI standartlarına göre 78 suşun 76'sı (% 97) duyarlı, 2'si (% 3) dirençli MİK değerleri göstermiştir.

TARTIŞMA

A.baumannii infeksiyonlarının tedavisi, bu mikroorganizmanın birçok antibiyotiğe dirençli olabilmesinden dolayı oldukça güçtür. Son yıllarda bu bakterilerde giderek artan antibiyotik direnci nedeniyle sadece tek bir grup antibiyotiğe (sıklıkla polimiksinler) duyarlı, hatta test edilen tüm antibiyotiklere dirençli (pandrug-resistant, PDR) *A.baumannii* izolatlarının neden olduğu infeksiyon tabloları ile daha sık karşılaşılır olmuştur. Bununla birlikte literatürde *A.baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili çalışmaların çoğunda test edilebilecek

tüm antibiyotik gruplarının kullanılmadığı ve çalışmalarda test edilen antibiyotik gruplarının çok çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. PDR *A.baumannii*'ye bağlı infeksiyon bildirilmiş olan çalışmaların bir kısmında ise izolatların polimiksinlere karşı test edilmediği görülmektedir^(4,15). Polimiksinlerin dahil edildiği bugüne kadarki çalışmalarda çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı etkinliğini en yüksek düzeyde sürdüren grubun polimiksinler olduğu görünmektedir. Bu durumda bir hastane infeksiyonu izolatında polimiksinlere direnç meydana geldiğinde genellikle klinisyenin elinde kullanılabileceği bir antibiyotik seçeneği kalmayacağı sonucu doğmaktadır. Diğer taraftan, Landman ve ark.⁽⁹⁾, *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında artmış polimiksin direnci bulunmasına rağmen polimiksin B'ye dirençli bulunan suşların çoğunun diğer antipsödomonal antibiyotiklere duyarlı olduğunu göstermiş, bu bulguyu son 5 yılda hastanelerinde tespit edilen sadece polimiksin B'ye duyarlı *A.baumannii* infeksiyonlarında tedavide polimiksin B'nin sıklıkla kullanılmasına bağlamış, PDR olmayan polimiksin dirençli izolatlarda direncin PDR olan polimiksin dirençli izolatlardan transfer edildiğini ileri sürmüşlerdir. Gales ve ark.⁽⁶⁾ da SENTRY surveyans çalışmasında benzer şekilde polimiksin B'ye dirençli bulunan izolatların çok az bir kısmının PDR olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle çoklu ilaç direnci gösterebilen etkenlerin neden olduğu hastane infeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak antibiyotikler belirlenirken izolatların mümkün olduğunca fazla sayıda antibiyotiğe duyarlılık durumunun test edilmesinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu sayede polimiksinler gibi son çare olarak kabul edilen

Tablo. *A. baumannii* suşlarının izole edildiği örneklerle ve servislere göre dağılımı.

	Kan	T.A. ¹	Yara	İdrar	Balgam	P. sıvısı ²	Toplam
Yoğun Bakım	16	11	1	2	-	1	31
Beyin Cerrahisi	4	7	-	1	-	-	12
Ortopedi	-	-	8	1	-	-	9
Göğüs Hastalıkları	-	1	1	-	5	1	8
Nöroloji Yoğun Bakım	3	1	-	1	-	-	5
Dahili Klinikler	5	-	2	3	-	-	10
Diğer Cerrahiler	-	-	3	-	-	-	3
Toplam	28	20	15	8	5	2	78

¹ Trakeal aspirat, ² Plevra sıvısı

ilaçlar mümkün olduğunca korunmuş olacak, yeni etkili ajanların üretilmesine kadar zaman kazanılması sağlanacaktır.

Dizbay ve ark.⁽³⁾ ve Timurkaynak ve ark.⁽¹⁴⁾ PDR *A.baumannii* izolatları arasında kolistine dirençli suşa rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Diğer taraftan Ocak 2006-Şubat 2007 tarihleri arasında hastanemizde yatmakta olan hastalardan izole ettiğimiz 66 *A.baumannii* izolatı ile yapmış olduğumuz önceki çalışmamızda izolatlarımızın sadece birinde tigesiklin ve minosikline direnç tespit edilirken kolistine direnç 8 (% 12) izolatta tespit edilmiş, bu antibiyotiklerin karbapenem ve aminoglikozidlere direnç varlığı durumunda *A.baumannii* infeksiyonlarında seçeneğe olabilecekleri görülmüştü⁽¹³⁾. Ancak Köseoğlu Eser ve ark.⁽⁸⁾, 2009 yılında PDR *Acinetobacter* suşları ile yaptıkları çalışmalarında bu suşlarda kolistine % 27.5 direnç tespit ettiklerini bildirmiş, *Acinetobacter* izolatlarında yüksek karbapenem direnci ve artmakta olan kolistin direnci oranları nedeniyle bu suşların direnç durumunun sıkı takip edilmesi gerektiğini ve yeni ve etkili tedavi seçeneklerine ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır. Polimiksin B, CLSI tarafından *Acinetobacter* spp. için önerilen antibiyotik duyarlılık testlerinde C grubunda yer alan bir antibiyotiktir ve duyarlılık durumunun MİK değerleri dikkate alınarak değerlendirilmesi önerilmektedir⁽¹⁾. Bu nedenle rutin uygulamada disk difüzyon testi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlenirken bu antibiyotiklere duyarlılık durumu değerlendirilememektedir. Nitekim hastanemizde ve ülkemizin diğer hastanelerinde izole edilen *A.baumannii* suşlarının bu antibiyotiğe duyarlılık durumu ile ilgili elimizde yeterli veri bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada daha önce hastanemizde izole edilen suşlarda araştırılmamış olan polimiksin B'nin *A.baumannii*'ye etkinliği araştırılmıştır. Çalışmamızda polimiksin B için tespit edilen % 3'lük direnç oranı dünya literatüründeki verilerle ve ülkemize ait polimiksin B ile ilgili ulaşabildiğimiz tek veri olan Özgür Akın ve ark.⁽¹¹⁾'nin tespit ettiği % 5'lik direnç oranı ile yakın bulunmuş, hastanemizde izole edilen çoklu ilaç direnci gösteren *A.baumannii* suşlarında polimiksin B direnç problemimiz olmadığı görülmüştür.

Sadece polimiksinlere duyarlı görünen

A.baumannii izolatlarının etken olduğu çeşitli hasta gruplarında bu ilaçların tedavi amacıyla kullanıldığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Falagas ve Bliziotis⁽⁴⁾ literatürde yer alan polimiksin duyarlı veya dirençli veya PDR *A.baumannii* klinik izolatlarını içeren laboratuvar ve klinik araştırmaları değerlendirdikleri araştırmaları sonucunda literatürde yer alan tüm çalışmalarda çoklu antibiyotik direnci gösteren *A.baumannii*'lere en etkili görünen antibiyotik grubunun polimiksinler olduğunu, tespit edilen en yüksek polimiksin direnç oranı % 13.1 iken çalışmaların çoğunda tespit edilen direnç oranının % 5 ve altında bulunduğunu, kolistin ve polimiksin B için benzer direnç oranları bildirildiğini tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak çalışmamızdaki suşlar arasındaki % 3'lük direnç oranının ülkemize yeni giren bir antibiyotik için önemli olduğu ve PDR *A.baumannii* izolatları için başka tedavi seçeneğinin olmaması nedeniyle direncin takibinin gerekli olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Ondokuzuncu bilgi eki (Çeviri editörü: Deniz Gür), Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İstanbul (2009).
2. Coelho J, Woodford N, Turton J, Livermore DM. Multiresistant *Acinetobacter* in the UK: how big a threat? *J Hosp Infect* 2004;58(3):167-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2003.12.019> PMID:15501329
3. Dizbay M, Altuncelik A, Sezer BE, Ozdemir K, Arman D. Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia, *Int J Antimicrob Agents* 2008;32(1):29-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.02.016> PMID:18539006
4. Falagas ME, Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? *Int J Antimicrob Agents* 2007;29(6):630-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.12.012> PMID:17306965
5. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, Michalopoulos A. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in criti-

- cally ill patients: a review of the recent literature, *Clin Med Res* 2006;4(2):138-46.
<http://dx.doi.org/10.3121/cmr.4.2.138>
6. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme (2001-2004), *Clin Microbiol Infect* 2006;12(4):315-21.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01351.x>
PMid:16524407
 7. Giamarellou H, Poulakou G. Multidrug-resistant Gram-negative infections: what are the treatment options? *Drugs* 2009;69(14):1879-901.
<http://dx.doi.org/10.2165/11315690-000000000-00000>
PMid:19747006
 8. Köseoğlu Eser Ö, Ergin A, Haşçelik G. Erişkin hastalardan izole edilen Acinetobacter türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı, *Mikrobiyol Bült* 2009;43(3):383-90.
PMid:19795613
 9. Landman D, Bratu S, Alam M, Quale J. Citywide emergence of Pseudomonas aeruginosa strains with reduced susceptibility to polymyxin B, *J Antimicrob Chemother* 2005;55(6):954-7.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki153>
PMid:15883174
 10. Maragakis LL, Perl TM. Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options, *Clin Infect Dis* 2008;46(8):1254-63.
<http://dx.doi.org/10.1086/529198>
PMid:18444865
 11. Özgür Akın FE, Bayram A, Balcı İ. Çoğul dirençli Acinetobacter baumannii izolatlarında kolistin, polimiksin B ve tigesiklin direncinin saptanmasında disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bült* 2010;44(2):203-10.
PMid:20549954
 12. Saltoğlu N. Acinetobacter baumannii enfeksiyonları ve tedavisi, XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Klimik 2007), Kongre Kitabı s.204-7, Antalya (2007).
 13. Sesli Çetin E, Durmaz R, Tetik T, Otlu B, Kaya S, Çalışkan A. Epidemiologic characterization of nosocomial Acinetobacter baumannii infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis, *Am J Infect Control* 2008;37(1):56-64.
PMid:18834735
 14. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolated from intensive care units, *Int J Antimicrob Agents* 2006;27(3):224-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.10.012>
PMid:16464562
 15. Wang CY, Jerng JS, Cheng KY et al. Pandrug-resistant Pseudomonas aeruginosa among hospitalised patients: clinical features, risk-factors and outcomes, *Clin Microbiol Infect* 2006;12(1):63-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01305.x>
PMid:16460548