

VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ ETKENİ ÇOK İLACA DİRENÇLİ ACINETOBACTER BAUMANNII SUŞLARINDA SEFOPERAZON-SULBAKTAM İLE NETİLMİSİN KOMBİNASYONUNUN İN-VİTRO SİNERJİSTİK ETKİSİ*

Murat DİZBAY, Öznur ÇAĞLAR, Dilek ARMAN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, ANKARA

ÖZET

Çoklu ilaç dirençli (ÇİD) *Acinetobacter baumannii* suşları son yıllarda yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ), özellikle ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) etkeni olarak giderek artan oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Ülkemizde bir çok merkezde olduğu gibi hastanemizde de ÇİD-A.baumannii izolatlarına en etkili antibiyotikler arasında sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin bulunmaktadır ve sıklıkla kombine tedavi olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda Ocak-Haziran 2006 tarihleri arasında 5 farklı YBÜ'den VİP etkeni olarak izole edilmiş 25 ÇİD-A.baumannii izolatının sefoperazon-sulbaktam ve netilmisine in-vitro duyarlılıkları ve sinerjistik aktiviteleri E-test yöntemiyle incelenmiştir. Fraksiyone inhibitör konsantrasyon indeksi ise $FIC = \frac{MIC_{AB}}{MIC_A + MIC_{BA}} / MIC_B$ formülü ile hesaplanmıştır. MIC_{50} ve MIC_{90} değerleri sefoperazon-sulbaktam için sırasıyla 24 µg/ml ve 256 µg/ml, netilmisin için ise 2 µg/ml ve 16 µg/ml olarak bulunmuştur. Suşların % 44'ü sefoperazon-sulbaktama, % 8'i netilmisine dirençli olarak saptanmıştır. FIC indeksine göre çalışılan suşların hiçbirinde sinerjistik veya antagonistik etki gözlenmemiştir. Sekiz suшта (% 32) additif, 17 suшта (% 68) ise indifferent etki saptanmıştır. Sonuç olarak ÇİD-A.baumannii enfeksiyonlarında sefoperazon-sulbaktam ile netilmisin kombinasyonu önemli bir avantaj sağlamamakta gibi görünmektedir. Ancak dezavantaj da oluşturmadığından orta duyarlılık gösteren suşlarda kombinasyon düşünülebilir. Kombinasyonda sağlanacak sinerjistik etki suşa özel olduğundan ideal yaklaşım, kombinasyon uygulanacak her hastada etkinin in-vitro değerlendirilmesidir.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, kombinasyon, netilmisin, sefoperazon-sulbaktam

SUMMARY

In Vitro Synergistic Effect of Cefoperazone-sulbactam and Netilmicin Combination in Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Ventilator Associated Pneumonia

Multidrug resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii*, recently, leads to an increasing morbidity and mortality in intensive care units (ICU), especially related to ventilator associated pneumonia (VAP). Cefoperazone-sulbactam and netilmicin are most effective antimicrobials against MDR-A.baumannii isolates in our hospital as well as in many centers in Turkey, and they are frequently used as combined therapy. Twenty five MDR-A.baumannii strains isolated from VAP cases in 5 different ICUs between January and June 2006 were enrolled in the study. In vitro susceptibilities and synergistic activities of the isolates for cefoperazone-sulbactam and netilmicin were tested by E-test method. Fractional inhibitory concentration index was calculated with the formula: $FIC = \frac{MIC_{AB}}{MIC_A + MIC_{BA}} / MIC_B$. MIC_{50} and MIC_{90} values were determined as 24 µg/ml and 256 µg/ml for cefoperazone-sulbactam, and 2 µg/ml and 16 µg/ml for netilmicin, respectively. Of the strains, 44 % were resistant to cefoperazone-sulbactam, and 8 % to netilmicin. None of the isolates revealed synergistic or antagonistic activity according to the FIC index. Additive activity was seen in 8 (32 %), and indifferent activity in 17 (68 %) isolates. In conclusion, the combination of cefoperazone-sulbactam and netilmicin does not seem to have advantage in the treatment of MDR-A.baumannii infections. Nevertheless, since it does not also have any disadvantage, it can be considered in the treatment of *Acinetobacter* infections which developed with intermediate susceptible strains. Since the synergistic activity is specific to the strain, ideal approach is in vitro evaluation of the activity for each patient.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, cefoperazone-sulbactam, combination, netilmicin

Yazışma adresi: Murat Dizbay, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, 06500 ANKARA
Tel.: (0312) 202 54 32 GSM: (0532) 775 87 43
e-posta: muratdizbay@gazi.edu.tr

Alındığı tarih: 08.01.2008, revizyon kabulü: 20.02.2008
* EKMUD Kongresi 2007'de sunulmuştur. Poster No.150 (24-28 Ekim 2007, Ankara).

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii son yıllarda, başta pnömoniler olmak üzere hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri haline gelmiştir⁽⁶⁾. Taşıdıkları çoklu ilaç direnci (ÇİD) nedeniyle ventilatör ilişkili pnömonilerde (VİP) yüksek mortaliteye neden olmaktadır⁽⁷⁾. Tedavide karbapenemler, aminoglikozidler ve sulbaktam içeren kombinasyonlar kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlara direncin giderek artması çeşitli ilaç kombinasyonlarını gündeme getirmiştir. Beta-laktam grubu ilaçlarla aminoglikozidlerin veya florokinolonların kombinasyonunun değerlendirildiği bir çok çalışmada sinerjistik veya kısmi sinerjistik etki gözlenmiştir⁽⁶⁾. Ülkemizde bir çok merkezde olduğu gibi hastanemizde de ÇİD-*A.baumannii* izolatlarına en etkili antibiyotikler arasında sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin bulunmaktadır ve çoğu zaman sefoperazon-sulbaktama saptanan orta duyarlılık nedeni ile bu ilaçlar kombine olarak kullanılmaktadırlar. Çalışmamızda VİP etkeni *A.baumannii* izolatlarında sefoperazon-sulbaktam ve netilmisinin in-vitro sinerjistik etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 2006 Ocak-Haziran ayları arasında 5 farklı Yoğun Bakım Ünitesinden (YBÜ) VİP etkeni olarak izole edilmiş 25 ÇİD-*A.baumannii* izolatı yer almıştır. Bir suş karbapenem, aminoglikozid, kinolon, sefepim ve piperasilin-tazobaktamdan üç veya daha fazlasına dirençli ise ÇİD-*A.baumannii* olarak kabul edilmiştir. İzolatlar klasik yöntemlerin yanı sıra BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID Kit (Becton Dickinson, USA) kullanılarak tanımlanmıştır. Suşlar çalışma yapılana kadar -80°C'de Microbank (Pro-Lab, Canada) sisteminde saklanmıştır.

Sefoperazon-sulbaktam ve netilmisinin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri E-test (AB Biodisk, Sweden) yöntemi ile saptanmıştır. İki antibiyotik in-vitro sinerjistik aktivitesi yine üreticinin önerileri doğrultusunda E-test yöntemi ile araştırılmıştır. Bunun için 0.5 McFarland ayarında bakteri süspansiyonundan iki adet Müller-Hinton agarı ekim yapılmış ve her birine iki antibiyotik E-test stripleri konmuştur. Bir saat sonra plaklardan birindeki stripler kaldırılmış ve aynı hiza üzerine gelecek şekilde diğer antibiyotik yeni stripleri yerleştirilmiştir. Plaklar 35°C'de 24 saat bekletildikten sonra her bir ilaç ve kombinasyon için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri okunmuştur. Fraksiyone inhibitör konsantrasyon (FIC) indeksi ise:

$$FIC = \frac{MİK_{AB}}{MİK_A} + \frac{MİK_{BA}}{MİK_B}$$
 formülü ile hesaplanmıştır. Sonuçlar şu şekilde yorumlanmıştır: ≤ 0.5 sinerjistik, $>0.5 - \leq 1$ additif, $>1 - \leq 4$ indifferent ve >4 antagonistik. CLSI'de *Acinetobacter* spp. için sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin için belirlenmiş MİK breakpoint değerleri mevcut değildir. Bu nedenle *Enterobacteriaceae* için belirlenmiş MİK değerleri kullanılmıştır. Sefoperazon-sulbaktamın MİK değerlerini yorumlamak için sefoperazon değerleri alınmıştır⁽⁵⁾.

Kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* 27853 kullanılmıştır.

BULGULAR

MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sefoperazon-sulbaktam için sırasıyla 24 µg/ml ve 256 µg/ml, netilmisin için ise 2 µg/ml ve 16 µg/ml olarak bulunmuştur. Suşların % 44'ü sefoperazon-sulbaktama, % 8'i netilmisine dirençli olarak saptanmıştır (Tablo).

FIC indeksine göre çalışılan suşların hiçbirinde sinerjistik veya antagonistik etki gözlen-

Tablo 1: 25 *A.baumannii* suşunun sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin için MİK değerleri (µg/ml) ve direnç durumları (%).

| Antibiyotik | MİK aralığı | MİK ₅₀ | MİK ₉₀ | Duyarlı | Orta duyarlı | Dirençli |
|-----------------------|-------------|-------------------|-------------------|---------|--------------|----------|
| Sefoperazon-sulbaktam | 1-256 | 24 | 256 | 44 | 12 | 44 |
| Netilmisin | 0.25-256 | 2 | 16 | 88 | 4 | 8 |

memiştir. 8 sušta (% 32) additif, 17 sušta (% 68) ise indifferent etki saptanmıştır. Additif etki gözlenen 8 suşun ikisi her iki antibiyotiğe de duyarlı iken diğer altı suş çalışılan antibiyotiklerden birine veya ikisine karşı dirençli olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

A.baumannii son iki dekatta dünyanın bir çok yerinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir hastane infeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır ve taşıdıkları çoklu ilaç direnci nedeniyle YBÜ'lerde sorun oluşturmaktadır(3,4,6,14).

Karbapenemler, aminoglikozidler ve sulbaktamli kombinasyonlar (ülkemizde tek başına sulbaktam preparatı bulunmaması nedeni ile) tedavide en sık kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak bu ilaçlara da direnç oranları giderek yükselmektedir. 1997-2000 yıllarında yapılan MYSTIC çalışmasında izole edilen *A.baumannii* izolatlarının meropenem direnci bir çok ülkede % 0-7 arasında değişirken, İtalya ve İngiltere'de % 30'larda, Türkiye'de ise yaklaşık % 35'lerde bulunmuştur(13). 2000-2003 yıllarında yapılan MYSTIC çalışmasının Türkiye sonuçlarında ise bu direnç oranlarının yükseldiği gözlenmiştir. Bu çalışmada meropenem direnci % 42, imipenem direnci ise % 48 olarak bildirilmiştir. Karbapenem direncinin ülkemizde yüksek oluşunun olası nedenlerinden biri olarak infeksiyon kontrol önlemlerinin yeterince uygulanmaması sonucu dirençli suşların yayılımının olabileceği belirtilmiştir(9). Arda ve ark.(2) nozokomiyal kan dolaşımı infeksiyonu etkeni *A.baumannii* izolatlarında 2002 ve 2003 yıllarında meropenem direncini sırasıyla % 62.5 ve % 49.2, imipenem direncini % 60.9 ve % 51.2, sefoperazon-sulbaktam direncini % 39 ve % 52.2, netilmisin direncini ise % 57.6 ve % 39.4 olarak bulmuşlardır. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada nozokomiyal *Acinetobacter* izolatları arasında imipenem direnci % 53.6 olarak bulunurken, en düşük direnç oranları netilmisin (% 31.2) ve sefoperazon-sulbaktam (% 44.6) için saptanmış, özellikle reanimasyon yoğun bakım ünitesin-

den izole edilen suşlarda netilmisin ve sefoperazon-sulbaktam dışındaki antibiyotiklere yüksek oranda direnç gözlenmiştir(1). Aynı direnç patterni hastanemizdeki yoğun bakım ünitelerinde de gözlenmektedir. Sadece netilmisin ve sefoperazon-sulbaktama duyarlı suşların yaygın olması tedavide bu iki antibiyotiğin kombine kullanımını gündeme getirmektedir.

Acinetobacter suşları üzerinde kombinasyon etkinliğinin araştırıldığı çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Sulbaktam içeren kombinasyonların aminoglikozidlerle veya florokinolonlarla birlikte kullanımının sinerjistik / kısmi sinerjistik olduğu bildirilmektedir(6,8,10). Diğer kombinasyon çalışmalarında olduğu gibi kombinasyonun etkisi suş özelinde farklılık göstermektedir. Eğer bir suş, beta-laktam veya aminoglikozid antibiyotiklerden birine dirençli ise sinerjistik etkinin kaybolduğu gösterilmiştir(8). Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda kolistin rifampisin, azitromisin, imipenem, meropenem veya sulbaktam-ampisilinle *A.baumannii* suşlarına karşı in-vitro sinerjik aktivite gösterdiği bildirilmiştir(11,12). Sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin klinik uygulamada sıklıkla kombine olarak kullanılmasına rağmen in-vitro etkileşimleri hakkında bir çalışma bulunmamaktadır. Bunu değerlendirmek amacıyla yaptığımız çalışmamızda ÇİD-*A.baumannii* izolatlarında sefoperazon-sulbaktam ve netilmisin arasında in-vitro sinerjistik veya antagonistik aktivite gözlenmemiştir. İzolatların % 32'sinde additif etki, % 68'inde ise indifferent etki gözlenmiştir. Additif etki gözlenen suşların % 75'inin bu iki ilaçtan en az birine dirençli olduğu göz önüne alındığında dirençli suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde kombine olarak kullanımları düşünülebilir.

Sonuç olarak ÇİD-*A.baumannii* infeksiyonlarında sefoperazon-sulbaktam ile netilmisin kombinasyonu önemli bir avantaj sağlamamakta gibi görünmektedir. Ancak dezavantaj da oluşturmadığı saptanmıştır ve zaten çok ilaca dirençli olmaları nedeni ile tedavi seçeneklerinin oldukça sınırlı olduğu bu mikroorganizmalardan orta duyarlılık gösteren suşlarda ve sefoperazon ve/veya netilmisine dirençli olduğu saptanan olgularda kombinasyon düşünülebilir.

Kombinasyonda sağlanacak etkinin suşa özel olması sebebi ile kombinasyon uygulanacak her hastada etkinin in-vitro araştırılarak değerlendirilmesi uygun bir yaklaşım olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Akan OA: *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnci: 2002 yılı İbni Sina Hastanesi verileri, *Mikrobiyol Bült* 2003;37(4):241-6.
2. Arda B, Sipahi OR, Yamazhan T et al: Short-term effect of antibiotic control policy on the usage patterns and cost of antimicrobials, mortality, nosocomial infection rates and antibacterial resistance, *J Infect* 2007; 55(1):41-8.
3. Chastre J: Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU, *Semin Respir Crit Care Med* 2003;24(1):69-78.
4. Clark NM, Patterson J, Lynch JP 3rd: Antimicrobial resistance among Gram-negative organisms in the intensive care unit, *Curr Opin Crit Care* 2003;9(5):413-23.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement, CLSI document M100-S17, CLSI, Wayne, Pennsylvania (2007).
6. Ferrara AM: Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia, *Int J Antimicrob Agents* 2006;27(3):183-95.
7. Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J: Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: A matched cohort study, *Crit Care Med* 2003;31(10):2478-82.
8. Joly-Guillou ML, Decré D, Herrman JL, Bourdier E, Bérignon-Bérézin E: Bactericidal in vitro activity of beta-lactams and beta-lactamase inhibitors, alone or associated, against strains of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides, *J Antimicrob Chemother* 1995;36(4):619-29.
9. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B and Turkish MYSTIC Study Group: Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(4):453-7.
10. Savov E, Chankova D, Vatcheva R, Dinev N: In vitro investigation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical specimens to ampicillin-sulbactam alone and in combination with amikacin, *Int J Antimicrob Agents* 2002;20(5):390-2.
11. Timurkaynak F, Can F, Kurt Azap O, Demirebilek M, Arslan H, Ozbalıkcı Karaman S: 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.
12. Tripodi MF, Durante-Mangoni E, Fortunato R, Utili R, Zarrilli R: Comparative activities of colistin, rifampicin, imipenem and sulbactam/ampicillin alone or in combination against epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing OXA-58 carbapenemases, *Int J Antimicrob Agents* 2007;30(6):537-40.
13. Turner PJ, Greenhalgh JM and MYSTIC Study Group (Europe): The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals, 1997-2000, *Clin Microbiol Infect* 2003;9(6):563-7.
14. Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S and Study Group: Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparison to previous three years, *J Chemother* 2000;12(4):294-8.