

## ACINETOBACTER BAUMANNII SUŞLARINDA TİGESİKLİN İÇİN DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN ZON ÇAPLARININ İKİ FARKLI KRİTERE GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

Barış GÜLHAN\*, Şebnem NERGİZ\*, Sevim MEŞE\*\*, Tuncer ÖZEKİNCİ\*, Selahattin ATMACA\*

\* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

\*\* Batman Bölge Devlet Hastanesi, BATMAN

### ÖZET

Çalışmada disk difüzyon yöntemiyle 71 *Acinetobacter baumannii* suşunda alınan tigesiklin zon çapları iki farklı kriterlere göre değerlendirilmiş, bunun yanı sıra MİK değerlerine göre karbapenem dirençleri de araştırılmıştır. Tigesiklin için FDA'in Enterobacteriaceae için belirlediği disk difüzyon kriterleri ( $\geq 19$  mm ve  $\leq 14$  mm) kullanıldığında 2 suş (% 3) dirençli, 35 suş (% 49) orta duyarlı, 34 suş (% 48) duyarlı olarak bulunmuş; Jones ve ark.'nın kriterleri olan  $\geq 16$  mm ve  $\leq 12$  mm kabul edildiğinde ise 1 suş (% 1) dirençli, 1 suş (% 1) orta duyarlı, 69 suş (% 97) ise duyarlı olarak bulunmuştur. Bölgemize ait *Acinetobacter baumannii* suşlarının % 56'sında imipenem, % 39'unda ise meropenem direnci saptanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*, disk difüzyon yöntemi, karbapenem, tigesiklin

### SUMMARY

#### Evaluation of Disk Diffusion Zone Diameters by Two Different Breakpoints for Tigecycline in *Acinetobacter baumannii* Strains

In this study, the tigecycline disk diffusion zone diameters were evaluated by two breakpoints in 71 *Acinetobacter baumannii* strains and carbapenem resistance was assessed according to MIC values as well. It was found that 2 strains (3 %) were resistant, 35 strains (49 %) moderately susceptible, and 34 strains (48 %) susceptible to tigecycline when the disk diffusion breakpoints proposed by FDA ( $\geq 19$  mm and  $\leq 14$  mm) for Enterobacteriaceae were used and 1 strain (1 %) was resistant, 1 strain (1 %) moderately susceptible, and 69 strains (97 %) susceptible when the breakpoints were considered as  $\geq 16$  mm and  $\leq 12$  mm according to Jones et al. The carbapenem resistance was observed as high when imipenem and meropenem resistance was detected in 56 % and 39 %, respectively.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, carbapenem, disk diffusion method, tigecycline

### GİRİŞ

*Acinetobacter* spp. doğada ve hastane ortamında *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra ikinci sıklıkla izole edilen nonfermentatif bir bakteridir ve hem nemli hem kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilir, besin maddeleri ve sağlıklı insan derisinde bulunabilir. Ayrıca sindirim sisteminde kolonize olabildiği gösterilmiş olan *Acinetobacter* spp. genellikle sağlıklı kişilerde non-patojen olmakla birlikte immün sistemi zayıflamış kişilerde infeksiyon etkeni

olabilmektedir<sup>(9)</sup>. *Acinetobacter baumannii* insanlardan en sık izole edilen tür olup, bunu *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter haemolyticus* ve *Acinetobacter johnsonii* izlemektedir. *A. baumannii*'nin etken olduğu infeksiyonlarda karbapenem direncini de içeren çoklu direnç, infeksiyonu daha tehlikeli kılmaktadır. Bu durum tedavi için yeni alternatiflerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Alternatiflerden biri olan tigesiklin, minosiklinin derivesi olan yeni semisentetik bir glisilsiklidir. Klinik olarak önemli bir çok bakteriye karşı potent bir

**Yazışma adresi:** Barış Gülhan. (yeni adresi) Tatvan Devlet Hastanesi, 2. Ek Hizmet Binası (Doğumevi), Tatvan, BİTLİS

Tel.: (0434) 826 12 31/112, GSM: (0505) 689 60 90

e-posta: barisgulhan@gmail.com

Alındığı tarih: 11.06.2009, revizyon kabulü: 19.08.2009

in-vitro antibakteriyel aktivitesi vardır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Şubat 2007 - Kasım 2007 arasında laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden izole edilen ve etken olduğuna karar verilen 71 *A.baumannii* suşunun tigesikline duyarlılıkları CLSI önerileri<sup>(1)</sup> doğrultusunda 15 µg'lık diskler (Becton Dickinson, USA) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Tigesiklin ile alınan inhibisyon zon çapları biri US Food and Drug Administration'ın<sup>(5)</sup>, diğeri Jones ve ark.<sup>(4)</sup>'nın önerdikleri iki kritere göre değerlendirilmiştir. Suşların identifikasyonları ve MİK değerlerine göre karbapenemlere direnç oranları Phoenix UnMIC/ID panelleri (Becton Dickinson, USA) kullanılarak belirlenmiştir<sup>(5)</sup>.

Kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

## BULGULAR

Yetmişbir *A.baumannii* suşunun 39'u yara, 14'ü kan, 7'si idrar, 4'ü solunum yolu salgısı, 3'ü beyin omurilik sıvısı, 3'ü dren, 1'i kateter örneğinden izole edilmiştir.

Disk difüzyon yöntemi ile alınan tigesiklin zon çaplarının iki farklı kritere göre değerlendirme sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Zon çaplarının bu iki kritere göre değerlendirilmesinde başlıca farkın FDA kriterleri<sup>(5)</sup> ile orta duyarlı bulunan çok sayıda suşun Jones ve ark.<sup>(4)</sup>'nın kriterleri ile duyarlı bulunması olduğu görülmüştür. Ayrıca elde edilen zon çapları Tablo 2'de daha ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Tablo 1.** Tigesiklin diski ile 71 *A.baumannii* suşunda alınan zon çaplarının iki kritere göre değerlendirilmesi [n (%)].

Kriter	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
FDA <sup>(5)</sup> : >19 ve <14 mm	34 (48)	35 (49)	2 (3)
Jones ve ark. <sup>(4)</sup> : >16 ve <12 mm	69 (97)	1 (1)	1 (1)

**Tablo 2.** Tigesiklin diski ile 71 *A.baumannii* suşunda alınan zon çaplarının ayrıntılı olarak değerlendirilmesi.

İnhibisyon zon çapları (mm)	≥19	18	17	16	15	14	13	≤12
Suş sayısı	34	18	6	11	0	1	0	1

MİK değerlerine göre suşların 40'ünün (% 56) imipeneme, 28'inin (% 39) meropeneme dirençli olduğu belirlenmiştir.

## TARTIŞMA

*Acinetobacter* türlerinin antimikrobiyallere çoklu direnç edinme yeteneği ve çevresel yüzeylerde yaşayabilme konusunda yetenekli olması, hastaneden kazanılmış infeksiyonlarda artan bir endişeye neden olmaktadır. Hastane infeksiyonları sıklıkla solunum sistemi, üriner sistem ve yara infeksiyonlarıyla birlikte septisemiye içermektedir<sup>(8,9)</sup>. *A.baumannii*'nin neden olduğu infeksiyonlarda karbapenem direncini de içeren çoklu ilaç direnci nedeniyle infeksiyon daha tehlikeli olmakta ve tedavisi zorlaşmaktadır. Geldiğimiz noktada karbapenemlere karşı da artan bir direnç söz konus olduğundan bu durum dirençli *A.baumannii*'nin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yeni alternatiflerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Bu alternatiflerden biri olan tigesiklin minosiklinin derivesi olan yeni semisentetik bir glisilsiklidir<sup>(7,8)</sup>. Bu antibiyotiğin, vankomisine dirençli enterokok, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Acinetobacter* spp.'yi de içeren klinik olarak önemli ve çoklu dirençli Gram pozitif ve Gram negatif aerob bakterilere ve anaeroblara etkili bir antimikrobiyal ajan olduğu bildirilmiştir<sup>(7,8)</sup>. Tigesiklinin in-vitro antibiyotik duyarlılığı için bir çok çalışmada kantitatif MİK metodu (sıvı mikrodilüsyon veya E test) kullanılmakla birlikte disk difüzyon metodunun denendiği çalışmalar da sürdürülmektedir.

Bu doğrultuda Jones ve ark.<sup>(4)</sup> FDA'in (US Food and Drug Administration)<sup>(5)</sup> *Enterobacteriaceae* için belirlediği disk difüzyon kriterlerini (≥19 mm ve ≤14 mm) *Acinetobacter* spp. için kullandıklarında MİK ve disk difüzyon sonuçları oranında % 23.3 gibi kabul edilemez bir farklılık olduğunu, breakpoint değerlerini ≥16 mm ve ≤12 mm olarak değiştirdiklerinde iki metod arasındaki hata oranının kabul edilebilir seviye

olan % 9.7'ye gerilediğini belirlemişlerdir. Bu araştırma grubu kriterleri  $\geq 19$  mm ve  $\leq 14$  mm olarak kabul ettiklerinde 103 *Acinetobacter* suşundan 3'ünün (% 2.9) dirençli, 31'inin (% 30.1) orta duyarlı, 69'unun (% 67) duyarlı olduğunu tespit etmişler, kriterleri  $\geq 16$  mm and  $\leq 12$  mm olarak kabul ettiklerinde ise 1 suşun (% 0.9 ) dirençli, 3 suşun (% 2.9) orta duyarlı, 99 suşun (% 96.1) duyarlı olduğunu, özetle FDA kriterleri ile orta duyarlı bulunan suşların büyük çoğunluğunun duyarlı olarak değerlendirildiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda da Jones ve ark.<sup>(4)</sup>'nin kriterleri kullanıldığında FDA kriterleri ile dirençli bulunan 2 suştan biri orta duyarlı, orta duyarlı bulunan 35 suşun ise tümü duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

Thamlikitkul ve ark.<sup>(10)</sup> benzer şekilde yaptıkları çalışmada FDA'in *Enterobacteriaceae* için tavsiye ettiği  $\geq 19$  mm olan zon çapının *Acinetobacter* spp.'de tigesiklin için kabul edilemez olduğunu savunurlarken, bu kriterle suşların ancak % 44.6'sını tigesikline duyarlı olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar sıvı mikrodilüsyon yöntemini kullandıklarında tigesiklin duyarlılığı için breakpoint değerinin  $\leq 2$  mg/L olduğunu belirtmişlerdir. Bu breakpoint değerine göre duyarlı olan suşlarda disk difüzyon testini de kullanmışlardır. Bunun sonucunda *Acinetobacter* türlerinin tigesiklin duyarlılığını değerlendirmede zon çapının  $\geq 13$  mm olarak alınmasıyla % 99 duyarlılık ve % 100 özgüllük oranı bulmuşlardır. Bu kritere göre suşlarının % 96.6'sını tigesikline duyarlı olarak bildirmişlerdir. Sonuçlarımız Thamlikitkul ve ark.<sup>(10)</sup>'nin bulduğu  $\geq 13$  mm kriterine göre değerlendirildiğinde ise FDA kriterleri ile dirençli bulunan 1 suşun ve orta duyarlı olarak bulunan 35 suşun tümü duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde Navon-Venezia ve ark.<sup>(6)</sup> zon çapını  $\geq 19$  mm olarak kabul ettiklerinde *A.baumannii* suşlarında % 66 gibi yüksek bir direnç oranı bulmuşlardır. Curcio ve ark.<sup>(2)</sup> aynı zon çapını kullandıklarında *Acinetobacter* spp.'de % 26'lık bir direnç bildirmişler, buna karşılık Jones ve ark.<sup>(4)</sup>'nin belirlediği kriterleri kullandıklarında ( $\geq 16$  mm) ise bu direnç oranının % 3'e düştüğünü belirlemişlerdir.

Bölgemize ait *A.baumannii* suşlarının % 56'sında imipenem, % 39'unda ise meropenem

direnci saptanmış olup, karbapenemlere olan direncin yüksek olduğu görülmüştür. Laboratuvarımızdaki bir yıl önceki sonuçlarla karşılaştırıldığında ise (2006 yılında % 24 imipenem direnci, % 25 meropenem direnci) *A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinin dramatik bir şekilde artmış olduğu belirlenmiştir<sup>(3)</sup>. İnfeksiyonların tedavisinde ampirik olarak başlangıç tedavisinde ve devam eden tedavi sürecinde karbapenemlerin ilk tercih olarak fazlaca kullanılmasının bu direnç artışında etkili olduğu düşünülmüştür.

Ülkemizde halen bazı merkezler hariç bir çok laboratuvarında antibiyotik duyarlılık testleri için disk difüzyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu nedenle sonuçları karşılaştırırken hangi kriterlerin kullanıldığını dikkate almak gerekir. Ayrıca kendi bölgemizde artan karbapenem direnci konuyu daha önemli hale getirmektedir. Bu sebeple *Acinetobacter* spp.'de tigesiklin duyarlılığında disk difüzyon kriterlerinin belirlenmesi sonuçlarımızın değerlendirilmesi açısından faydalı olacaktır. Yapılan çalışmalar da dikkate alındığında FDA'in *Enterobacteriaceae* için belirlediği disk difüzyon kriterlerinin kullanılamayacağı açıktır. Ancak Jones ve ark.<sup>(4)</sup>'nin kullandığı kriterlerin de kesin olarak kabul edilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca Thamlikitkul ve ark.<sup>(10)</sup> duyarlılık için  $\geq 13$  mm'lik zon çapı değerini tavsiye etmişler ancak orta duyarlılık ve dirençlilik için ayrıca zon çapı değeri belirlememişlerdir. Bu doğrultuda çalışmalara katkı amacı ile bölgemize ait *A.baumannii* suşlarında disk difüzyon yöntemiyle tigesiklin için iki farklı kritere göre elde edilen sonuçların paylaşılması uygun bulunmuştur.

## KAYNAKLAR

1. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 17th Informational Supplement, Document M100-S17, CLSI, Wayne PA (2007).
2. Curcio D, Fernández F, Jones RN et al: Tigecycline disk diffusion breakpoints of *Acinetobacter* spp.: a clinical point of view, J Clin Microbiol 2007;45(6): 2095-6.
3. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H: 2004-2006 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter*

- baumannii suşlarında antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2007;21(1):32-6.
4. Jones RN, Ferraro MJ, Reler LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sader HS: Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp, J Clin Microbiol 2007;45(1):227-30.
  5. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Approved Standard M7-A6. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 6th ed., NCCLS, Wayne PA (2003).
  6. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, J Antimicrob Chemother 2007;59(4):772-4.
  7. Noskin GA: Tigecycline: A new glycylcycline for treatment of serious infections, Clin Infect Dis 2005;41(S5):303-14.
  8. Pachon-Ibanez ME, Jimenez-Mejias ME, Pichardo C, Llanos AC, Pachon J: Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem, Antimicrob Agents Chemother 2004;48(11):4479-81.
  9. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other non-fermentative gram-negative rods, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. baskı" kitabında s. 749-79, ASM Press, Washington DC (2003).
  10. Thamlikitkul V, Tiengrim S, Tribuddharat C: Comment on: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, J Antimicrob Chemother 2007;60(1):177-8.