

ÖZGÜN ÇALIŞMA
ÇOKLU DİRENÇLİ ACINETOBACTER BAUMANNII VE
KARBAPENEM DİRENÇLİ KLEBSIELLA PNEUMONIAE
İZOLATLARINDA TİGESİKLINİN İN VİTRO ETKİNLİK DURUMU

ORIGINAL ARTICLE

IN VITRO ACTIVITY OF TIGECYCLINE AGAINST MULTIPLE RESISTANT
ACINETOBACTER BAUMANNII AND CARBAPENEM RESISTANT
KLEBSIELLA PNEUMONIAE ISOLATES

Özay ARIKAN AKAN¹, Sevil UYSAL¹

ÖZET: Tigesiklinin hastanemizdeki dirençli gram-negatif çomaklar üzerindeki etkinliğini incelemek amacıyla, Ocak 2005-Ağustos 2007 tarihleri arasında klinik örneklerden izole edilen çoklu ve/veya tam dirençli 100 adet *Acinetobacter baumannii* ve 17si tam dirençli olan 38 adet karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşunun tigesiklin duyarlılığı E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile araştırılmıştır. Laboratuvarımız rutin çalışmaları sırasında Vitek-2 Compact sistemi (Bio-Merieux, France) kullanılarak karbapenem direnci %59 olarak tespit edilmiş olan *A.baumannii* izolatlarının %93'ünde tigesiklin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri ≤ 2 mcg/ml, %7'sinde ise 3 mcg/ml olarak saptanmıştır. MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 1.5 ve 2 mcg/ml'dir. *K.pneumoniae* izolatlarında en düşük direnç amikasinine karşıdır (%52.6). *K.pneumoniae* suşları için tigesiklin MİK değerleri 0.13-2 mcg/ml arasında bulunmuş olup, tamamının tigesikline duyarlı olduğu izlenmiştir. Bu suşların MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 1 mcg/ml ve 1.5 mcg/ml'dir. Sonuç olarak hastanemizde izole edilen dirençli *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* suşlarında tigesiklinin in vitro etkinlik durumu, tedavide kullanım açısından ümit verici bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Çoklu direnç, tam direnç, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, tigesiklin

ABSTRACT: In order to detect the in vitro activity of tigecycline against multiple resistant gram-negative bacilli isolated in our hospital, tigecycline susceptibilities of clinical isolates of multiple and/or panresistant 100 *Acinetobacter baumannii* isolates, and 38 carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* (17 of which were panresistant), obtained between January 2005 and August 2007, were evaluated by using E-test (AB Biodisc, Sweden). Carbapenem resistance rate was found to be 59% for *A.baumannii*, using Vitek2 Compact System (Bio-Merieux, France) which is present in our laboratory for routine use. Minimal inhibitory concentration (MIC) levels for tigecycline were ≤ 2 mcg/ml in 93% of the isolates while the MIC level was 3 mcg/ml for 7% of the isolates. Tigecycline

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Ankara. (ozay. akan@medicine.ankara.edu.tr)

MIC50 and MIC 90 values were 1.5 and 2 mcg/ml, respectively. Among *K.pneumoniae* the least resistance was detected against amikacin (52.6% resistant) while tigecycline MIC levels were between 0.13 mcg/ml and 2 mcg/ml. All of the *K.pneumoniae* strains were susceptible to tigecycline, and the MIC50 ve MIC90 values of these isolates were 1 mcg/ml and 1.5 mcg/ml, respectively. The in vitro susceptibility rates of tigecycline against multiple and/or panresistant *A.baumannii* and *K.pneumoniae* isolates are found to be promising for use in therapy.

Key words: Multiple resistant, panresistant, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, tigecycline.

GİRİŞ

Özellikle hastane ortamlarından kaynak alan gram-negatif bakterilerle ortaya çıkan enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri çok kısıtlı olduğundan, değişik antibiyotiklerin ve antibiyotik kombinasyonlarının arayışı gündemdedir. Tigesiklin, dirençli gram-pozitif ve çoklu dirençli gram-negatif bakterilere etkinliği ile dikkati çeken ve ülkemizde henüz aktif kullanımda olmayan bir antibiyotiktir¹⁻⁴. Yapılan in vitro etkinlik çalışmaları, *Pseudomonas* ve *Proteus* türleri dışındaki çoklu dirençli gram-negatif bakterilerle ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde kullanılabileceği konusunda ümit vermiş, ancak bazı merkezlerde yapılan çalışmalarda minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri genelde saptanandan daha yüksek olarak belirlenmiştir⁵⁻⁸. Bu çalışma, hastanemizde, çoklu dirençli veya kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere tam dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında tigesiklinin in vitro etkinlik durumunu belirlemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'na Ocak 2005-Ağustos 2007 tarihleri arasında hastanede yatan erişkin hastalardan gönderilen örneklerden izole edilen ve klinik olarak anlamlı bulunan *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* suşları alındı. Laboratuvar stoklarından antibiyotik direnç durumu kontrol edilerek ayrılan *A.baumannii* suşlarından çoklu dirençli olan 100 adedi rastgele seçildi. *K.pneumoniae* suşları ise aynı dönemde izole edilen tüm karbapenem (imipenem ve/veya meropenem) dirençli suşlardı. Aynı hastadan tek bir izolat çalışmaya alındı; tekrarlayan üremeler ve birden fazla örnekten elde edilen üremeler çalışma dışı bırakıldı.

Bakteri tiplendirmeleri ve antibiyotik duyarlılık testleri için laboratuvarımızda mevcut olan Vitek 2 Compact (Bio-Merieux, France) sistemi kullanıldı. Bu sistemin panelinde yer almayan sulbaktam-sefoperazon gibi antibiyotiklere karşı duyarlılık, disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı⁹. Enterik bakterilerde karbapenem duyarlılıkları otomatize sisteme ek olarak E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) ile doğrulandı, imipenem ve meropenem için suşların MİK değerleri belirlendi.

Tigesiklin duyarlılık testi için E-test kullanıldı ve MİK değerleri kaydedildi. Duyarlılık sınırı *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* için ≤ 2 mcg/ml olarak kabul edildi^{7,10}. E-test uygulamasında tigesiklin için MİK değeri belirlenirken,

bakteriyostatik antibiyotiklerde uygulandığı üzere %80 inhibisyon esas alındı. Tigesiklin çalışması sırasında laboratuvarımızda hazırlanan Mueller Hinton Agar besiyerinin, antibiyotik duyarlılık sonuçlarını olumsuz yönde etkilememesi için taze olarak (5-6 saatlik) kullanılmasına dikkat edildi^{11,12}.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 100 adet *A.baumannii* ve 38 adet *K.pneumoniae* suşunun izole edildiği örnek tipleri ve örneklerin gönderildiği servisler Tablo I'de görülmektedir.

Tablo I. Bakterilerin İzole Edildikleri Örnek Tipleri ve Servisler

Örnek tipi	<i>A.baumannii</i> (n=100)	<i>K.pneumoniae</i> (n=38)
Kan	40	20
Abse	25	4
Alt solunum yolu*	20	5
İdrar	13	8
Kateter ucu	2	1
Gönderildiği servis		
Yoğun bakım üniteleri	61	23
Dahiliye servisleri	22	14
Cerrahi servisler	17	1

*Trakeal, bronkoalveolar lavaj ve balgam örneklerini içermektedir.

A.baumannii izolatlarının 12'si (%12) kolistin dışında çalışılan tüm antibiyotiklere dirençli bulunmuştur (Tablo II). *A.baumannii* izolatlarının 7'sinde (%7) tigesiklin MİK değeri 3 mcg/ml; 93'ünde (%93) ise ≤ 2 mcg/ml'dir. MİK50 ve MİK90

Tablo II. *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* İzolatlarının Çalışılan Antibiyotiklere Direnç Durumu

Antibiyotikler	<i>A.baumannii</i> direnç %*	<i>K.pneumoniae</i> direnç %*
Ampisilin	–	100
Ampisilin-sulbaktam	90	100
Piperasilin	99	–
Piperasilin-tazobaktam	98	100
Tikarsilin	97	–
Tikarsilin-klavulanik asit	93	100
Seftazidim	98	81.6
Sefepim	83	81.6
İmipenem	59	97.4
Meropenem	59	100
Amikasin	70	52.6
Gentamisin	82	76.3
Netilmisin	26	73.7
Tobramisin	47	97.4
Siprofloksasin	88	92.1
Kotrimoksazol	87	94.7
Sefoperazon-sulbaktam	89	–
Kolistin	0	0
Tigesiklin**	7	0

*Dirençli ve orta dirençli suşların toplamıdır.

**MİK düzeyleri ≤ 2 mcg/ml duyarlı olarak alınmıştır (7 *A.baumannii* izolatının MİK düzeyi 3 mcg/ml'dir).

değerleri sırasıyla 1.5 mcg/ml ve 2 mcg/ml olarak saptanmıştır. Tam dirençli 12 izolatın 3'ünde tigesiklin MİK değeri 1.5 mcg/ml iken, 9'unda 2 mcg/ml'dir. Karbapenem dirençli *K.pneumoniae* suşlarında -3 adet meropenem, 4 adet imipenem dışında- karbapenem MİK değerleri ≥ 32 mcg/ml olarak bulunmuştur. <32 mcg/ml olan MİK değerlerinin 8-16 mcg/ml arasında değiştiği görülmüştür. *K.pneumoniae* izolatlarında tigesiklin MİK değerleri 0.13 - 2 mcg/ml arasında bulunmuştur. MİK50 ve MİK90 değerleri ise sırasıyla 1 mcg/ml ve 1.5 mcg/ml'dir. *K.pneumoniae* suşlarının 17'si tüm antibiyotiklere dirençlidir. Tam dirençli suşların MİK düzeyleri de 0.25-2 mcg/ml arasındadır. Tigesiklin MİK değeri suşların 11'inde <1 mcg/ml'dir. *K.pneumoniae* izolatlarının çalışılan antibiyotiklere karşı direnç durumları Tablo II'de görülmektedir.

TARTIŞMA

Çoklu dirençli gram-negatif çomaklar geliştirdikleri direnç mekanizmaları ile bir tek antibiyotik grubuna değil, genel olarak tüm antimikrobiyallere karşı direnç kazanırlar. Üstelik sıklıkla sadece antibiyotiklere değil, ortam koşullarına karşı da dirençlidirler. Bu özellikleri ile hem hastaların tedavisinde, hem de hastane ortamlarında yayımları konusunda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkarlar. Dirençli fermentatif olmayan bakteriler, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. ve *E.coli* gibi mikroorganizmalarda saptanan değişik direnç mekanizmaları, tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerini çok kısıtlamıştır. Son yıllarda özellikle yoğun bakım hastalarında dikkati çeken çoklu dirençli *A.baumannii* ile çeşitli enzimler [genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL), yüksek düzey Amp C beta laktamaz, oksasilinaz, karbapenemaz] üreterek tam dirençli hale gelen *K.pneumoniae* izolatları için antibiyotik seçimi sorun haline gelmiştir¹³⁻¹⁶. Ülkemizde de dirençli *A.baumannii* suşları önemli bir problem oluşturmakta ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde hastalar arası yayılım ve salgınlar yapabilmek özelliği taşımaktadır^{17,18}. Kullanılabilecek tüm antibiyotiklere dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile bu bakterilerle gelişen enfeksiyonlar, kombinasyon antibiyotik tedavileriyle ya da yeni geliştirilen antibiyotiklerle tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalarda in vitro etkinliği oldukça yüksek bulunan tigesiklin, tedavi için bir seçenek olarak ümit vermektedir^{19,20}. Tigesiklin, minosiklin türevi olan bir glisilsiklin antibiyotiktir. Dirençli gram-pozitif ve anaerob bakterilere etkinliğinin yanı sıra, gram-negatif mikroorganizmalardaki direnç mekanizmalarının üstesinden gelerek dirençli gram-negatiflerin çoğuna da etkili olduğu gösterilmiştir²⁰. Bunun tek istisnası *Proteus* ve *Pseudomonas* türleridir. Bu antibiyotik, etki spektrumu göz önüne alınarak, komplike cilt enfeksiyonlarında ve intraabdominal enfeksiyonlarda kullanılmak üzere onay almıştır^{19,20}. Öte yandan dirençli gram-negatiflere in vitro olarak etkin olduğunun gösterilmesi ile bu bakterilerin neden olduğu diğer enfeksiyonlarda yeri olup olmayacağı sorgulanmaya başlanmıştır. Yapılan in vitro çalışmalarda, GSBL pozitif *K.pneumoniae* ya da karbapenem dirençli *Klebsiella* suşlarında tigesiklin MİK90 düzeyleri <2 mcg/ml olarak bildirilmiştir. Bu değerler bizim çalışmamızda tespit edilen değerlerle paraleldir. *A.baumannii* için genelde bildirilen tigesiklin MİK düzeyleri <2 mcg/ml'dir²¹⁻²⁴. İsrail'den yapılan bir çalışmada ise in vitro

dirençten söz edilmekte olup, değişik klonlara ait 82 klinik izolatta dirençli suş oranı %66, orta dirençli suş oranı %12 olarak saptanmış tır⁸. Bu araştırmacılar tigesiklin MİK50 ve MİK90 değerlerini sırasıyla 16 ve 32 mg/L; MİK aralığını ise 1-128 mg/L olarak bildirmişlerdir⁸. Tigesiklinin in vitro antibiyogram koşullarından etkilendiği ve oksidasyona duyarlı olduğu konusundaki bilgiler ve E-test ile sıvı dilüsyon testleri arasındaki farklılıklarla ilgili veriler göz önüne alındığında, bu farklılığın yöntemden kaynaklandığı düşünülebilir. Ancak araştırmacılar, MİK90 değerlerinin sıvı dilüsyon ve E-test arasında sadece iki birim oynadığını ifade etmişler ve farklılık göz önüne alınsa bile çalışmada saptanan 32 mg/L'lik yüksekliğin sonucu etkilemeyeceği yorumunu yapmışlardır⁸. Bu durumda in vitro direnç saptandığında kullanılan antibiyotik duyarlılık yöntemlerinin yanı sıra, olası bölgesel farklılıkların da irdelenmesi uygun olacaktır^{8,11,12,25}. Bizim çalışmamıza dahil edilen *A.baumannii* izolatlarının tamamı çoklu dirençli suşlar olup, 17'si kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençlidir. Bu durumda dahi elde edilen düşük MİK düzeyleri tigesiklinin tam dirençli *A.baumannii* enfeksiyonlarında kullanımı açısından oldukça ümit verici görünmektedir.

Tigesiklinin onay aldığı enfeksiyonlar dışında kullanımı yenidir. Bu endikasyonlar dışında kombinasyon tedavisinde kullanıldığında etkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur²⁶. Ancak klinik olarak yoğun kullanılan bölgelerde tigesikline karşı elde edilen MİK değerlerinde yükselmeler bildirilmiştir. Ayrıca tigesiklin tedavisi sırasında ortaya çıkan dirençli *A.baumannii* bakteriyemisi de rapor edilmiştir²⁷. *A.baumannii* suşlarındaki tigesiklin direnci pompa mekanizmaları ile açıklanabilir^{28,29}. Bir başka raporda, hastane kaynaklı bir *K.pneumoniae* pnömonisinde tigesiklin kullanımı ile hastanın iyileştiği, ancak takibinde tigesikline dirençli *K.pneumoniae*'nin etken olduğu ampiyem tablosunun geliştiği belirtilmiştir³⁰. Onay aldığı endikasyonlar dışında klinik kullanımı özellikle ciddi enfeksiyonlar için yeni olduğundan, dirençli gram-negatif bakterilerle ortaya çıkan enfeksiyonlarda, başka uygun seçenek yoksa tigesiklin tercih edilebilir. Ancak böyle bir durumda, in vitro/in vivo uyum yönünden ve tedavi sırasında direnç gelişimi yönünden hastaların yakın takibe alınması uygun olacaktır. Ayrıca tigesiklinin henüz kullanıma girmediği bölgelerde, *Proteus* dışı *Enterobacteriaceae* türlerinde ve *A.baumannii*'de in vitro direnç saptandığında, bölgesel dirençten söz etmeden önce, antibiyotik inaktivasyonunun söz konusu olabileceği göz önüne alınarak yöntemin ya da antibiyogram koşullarının yeniden düzenlenmesi, akılda tutulması gereken önemli bir noktadır.

KAYNAKLAR

1. Hawkey P, Finch R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. Clin Microbiol Infect 2007; 13: 354-62.
2. Slover CM, Rodvold KA, Danziger LH. Tigecycline: a novel broad spectrum antimicrobial. Ann Pharmacother 2007; 41: 965-72.
3. Sader HS, Jones RN. Tigecycline: first of new class of antimicrobial agents. Pharmacotherapy 2006; 26: 1099-110.
4. Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52: 203-8.

5. Rice LB. Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis 2006; 43:100-5.
6. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Activities of glycylcycline tigecycline (GAR-936) against 1924 recent European clinical bacterial isolates. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 400-4.
7. Insa R, Cercenadi E, Goyanes MJ, Morente A, Bauza E. In vitro activity of tigecycline against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia*. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 583-5.
8. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tetracycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 772-4.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Seventeenth Informational Supplement. 2007, M100-S17. CLSI, Wayne, PA.
10. Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? J Antimicrob Chemother 2005; 56: 611-4.
11. Bradford PA, Petersen PJ, Young M, Jones CH, Tischler M, O'Connell J. Tigecycline MIC testing by broth dilution requires use of fresh medium or addition of the biocatalytic oxygen-reducing reagent oxyrase to standardize the test method. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3903-9.
12. Petersen PJ, Bradford PA. Effect of medium age and supplementation with the biocatalytic oxygen reducing oxyrase on in vitro activities of tigecycline against recent clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3910-8.
13. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. Semin Respir Crit Care Med 2003; 24: 69-78.
14. Wroblewska MM, Rudnicka J, Marchel H, Luczak M. Multidrug-resistant bacteria isolated from patients hospitalised in intensive care units. Int J Antimicrob Agents 2006; 27: 285-9.
15. Jones RN. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. Chest 2001; 119: 397S-404S.
16. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-65.
17. Akan ÖA: *Acinetobacter baumannii* izolatlarında antibiyotik direnci: 2002 yılı İbni Sina Hastanesi verileri. Mikrobiyol Bul 2003; 37: 241-6.
18. Alp E, Esel D, Yıldız O, Voss A, Melchers W, Doganay M. Genotypic analysis of *Acinetobacter* bloodstream infection isolates in a Turkish University hospital. Scand J Infect Dis 2006; 38: 335-40.
19. Livermore DM. Introduction: the challenge of multiresistance. Int J Antimicrob Agents 2007; 29: 1-7.
20. Townsend ML, Pound MW, Drew RH. Tigecycline: a new glycylcycline antimicrobial. Int J Clin Pract 2006; 60: 1662-72.
21. Bratu S, Tolane P, Karumudi U, et al. Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 128-32.
22. Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Antimicrobial activity of tigecycline tested against bacterial pathogens from patients hospitalized in intensive care units. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52: 203-8.
23. Gales AC, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylcycline, GAR-936 tested against 1,203 recent clinical bacterial isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2000; 36: 19-36.
24. Waites KB, Duffy LB, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among pathogens collected from hospitalized patients in the United States and in vitro activity for tigecycline, a new glycylcycline antimicrobial. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 3479-84.

25. Sahm DF, Dowzicky MJ, Draghi DC, et al. Surveillance of tigecycline activity; discordance between national profiles associated with testing protocols and methods. Abstracts of 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006 San Francisco, CA.. Abstract D-701.
26. Taccone FS, Rodriguez-Villalobos H, De Backer D, et al. Successful treatment of septic shock due to pan-resistant *Acinetobacter baumannii* using combined antimicrobial therapy including tetracycline. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 256: 257-60.
27. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, et al. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline. J Antimicrob Chemother 2006; 59: 128-31.
28. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *A.baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 2065-9.
29. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased MIC to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 1001-4.
30. Daly MW, Riddle DJ, Ledebouer NA, Dunne WM, Ritchie DJ. Tigecycline for treatment of pneumonia and empyema caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Pharmacotherapy 2007; 27: 1052-7.