

# ÇOĞUL DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARINDA KOLİSTİN, POLİMİKSİN B VE TİGESİKLİN DİRENCİNİN SAPTANMASINDA DİSK DİFÜZYON, E-TEST VE BUYYON MİKRODİLÜSYON YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

## COMPARISON OF DISC DIFFUSION, E-TEST, AND BROTH MICRODILUTION METHODS FOR THE DETERMINATION OF RESISTANCE TO COLISTIN, POLYMYXIN B, AND TIGECYCLINE IN MULTI-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* ISOLATES

F. Ebru ÖZGÜR AKIN<sup>1</sup>, Ayşen BAYRAM<sup>1</sup>, İclal BALCI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep. (aysenbayram@hotmail.com)

### ÖZET

*Acinetobacter baumannii*'nin antimikrobiyal direnç oranlarının artması, bu etken ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde polimiksinler gibi eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesini ve tigesiklin gibi yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu çalışmada, Eylül 2006-Nisan 2008 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi, Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen ve çoğul antibiyotik direnci gösteren *A.baumannii* suşlarının kolistin, polimiksin B ve tigesikline karşı duyarlılıklarının üç farklı yöntemle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden (trakeal aspirat, kan, balgam, cerrahi yara, kateter, plevral sıvı, idrar, diğer) izole edilen 200 adet *A.baumannii* suşu alınmış; bakterilerin tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve tam otomatik tanımlama sistemi (Vitek 2, bioMerieux, Fransa) ile yapılmıştır. İzolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve saptanan çok ilaca dirençli 95 *A.baumannii* suşunun kolistin, polimiksin B ve tigesikline karşı duyarlılıkları disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleriyle test edilmiştir. Bu suşların tamamı (%100) her üç yöntemle de kolistine duyarlı bulunurken, 92 (%96.8)'si disk difüzyon ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleriyle, 90 (%94.7)'i ise E-test yöntemi ile polimiksin B'ye duyarlı bulunmuştur. *A.baumannii* suşlarının tigesiklin duyarlılığı ise disk difüzyon yöntemi ile %87.4 (n= 83), E-test yöntemi ile %82.1 (n= 78) ve buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile %94.7 (n= 90) olarak belirlenmiştir. Suşların polimiksin B'ye karşı her üç yöntem ile elde edilen direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış (p> 0.05); tigesikline karşı duyarlılığın tespitinde ise, disk difüzyon ile buyyon mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki fark anlamlı bulunmazken (p> 0.05), buyyon

mikrodilüsyon ile E-test yöntemleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p=0.000$ ). Buna göre, izolatların polimiksin grubu antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlarının her üç yöntemle de birbirleriyle uyumlu olduğu, tigesiklinin duyarlılığının ise E-test ile diğer yöntemlere göre daha düşük oranda tespit edildiği düşünülmüştür. Sonuç olarak kolistin, polimiksin B ve tigesiklinin, hastanemiz-de izole edilen klinik *A.baumannii* suşlarına karşı antimikrobiyal etkinliklerinin yüksek olduğu ve çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının tigesikline duyarlılığının araştırılmasında, disk difüzyon veya buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin kullanılmasının daha uygun olacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik duyarlılık, kolistin, polimiksin B, tigesiklin.

## ABSTRACT

The increased rate of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* made it necessary to reconsider old antibiotics such as polymyxins and develop new drugs such as tigecycline. The aim of this study was to investigate the susceptibility rates of multi-drug resistant *A.baumannii* clinical isolates to colistin, polymyxin B, and tigecycline by three different methods in microbiology laboratory of Gaziantep University Research Hospital, between September 2006 and April 2008. A total of 200 *A.baumannii* strains isolated from various clinical samples (tracheal aspirate, blood, sputum, surgical wound, catheter, pleural fluid, urine, and others) were included to the study. Identification of bacteria was performed by conventional microbiological methods and by an automatized identification system (Vitek 2, bioMerieux, France). Antimicrobial susceptibility pattern of *A.baumannii* isolates was determined by disc diffusion method and 95 multiple resistant *A.baumannii* isolates were identified. Susceptibilities of these multiple resistant bacteria to colistin, polymyxin B, and tigecycline were tested with disc diffusion, E-test, and broth microdilution methods. All of the isolates (100%) were sensitive to colistin with all three methods. Ninety-two (96.8%) of them were sensitive to polymyxin B with both disc diffusion and broth microdilution methods, and 90 (94.7%) of them were sensitive to polymyxin B with E-test. Eighty-three (87.4%) of them were sensitive to tigecycline by disc diffusion method, 78 (82.1%) by E-test, and 90 (94.7%) by broth microdilution method. No statistically significant difference was detected for the three methods in terms of susceptibility testing for polymyxin B ( $p>0.05$ ). However, while no significant difference was detected for tigecycline susceptibility testing by disc diffusion and broth microdilution ( $p>0.05$ ), statistically significant difference was determined for broth microdilution and E-test methods ( $p=0.000$ ). In conclusion, comparison of disc diffusion, E-test, and broth microdilution methods yielded that all three methods were concordant to each other in terms of susceptibility testing of polymyxins. Susceptibility rate to tigecycline was found lower by E-test method than that obtained by other methods. These results emphasized that antimicrobial activities of colistin, polymyxin B and tigecycline against *A.baumannii* isolates obtained in our hospital were high, however, for tigecycline susceptibility testing against *A.baumannii*, disk diffusion or broth microdilution methods would rather be preferred.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, antibiotic susceptibility, colistin, polymyxin B, tigecycline.

## GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri, enfeksiyon etkeni olarak klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında üretilen gram-negatif nonfermentatif mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. *Acinetobacter* cinsi bakteriler antibiyotiklere karşı çoğul direnç geliştirmiş olmaları nedeniyle önemli hastane enfeksiyonu etkenlerindedir. Çeşitli direnç mekanizmaları ile aminoglikozidler, sefalosporinler, kinolonlar ve imipenem karşı direnç kazandıklarından, tedavide güçlüklerle karşılaşmaktadır. *Acinetobacter baumannii*'nin gittikçe daha sık enfeksiyon etkeni olması ve antimikrobiyal direnç oranlarının artması, tedavide yeni seçenek ilaçların araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

Son yıllarda, çoklu dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu, yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonların artışı nedeniyle tıp literatüründe alternatif bir ajan olan kolistin (polimiksin E) yeniden gündeme gelmiştir. Kolistin, *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter*'in çoğu suşlarına karşı bakterisidal etkili bir polimiksindir<sup>1</sup>. 1970'li yıllarda daha sıklıkla kullanılıyor-ken, potansiyel yan etkileri nedeniyle günümüzde kullanımı azalmış olan kolistin etkinliği hakkında çeşitli ülkelerde çalışmalar yapılmaktadır<sup>2</sup>. Ancak ülkemizde, çoğul dirençli gram-negatif basillere karşı kolistin etkinliğini bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tigesiklin, *A.baumannii*'nin de içinde bulunduğu dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ümit veren yeni, yarı sentetik bir tetrasiklidir. *Enterobacteriaceae* ve *Acinetobacter* türlerinde tetrasiklin direncinden sorumlu tet (A-E) ve stafilokoklardaki dirençten sorumlu olan tet (K) efluks pompalarından etkilenmediği için tetrasiklinlerden daha geniş etki spektrumuna sahiptir. Tigesiklin, geri dönüşlü olarak 30S ribozomal alt birimine bağlanır ve protein sentezini inhibe eder. Genel olarak bakteriyostatiktir, ancak bazı mikroorganizmalara karşı bakterisidal aktivitesi olduğu bildirilmiştir<sup>3</sup>.

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde yatmakta olan hastalardan izole edilen çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarına karşı polimiksin grubu antibiyotiklerden kolistin ve polimiksin B ile ülkemizde yeni kullanıma giren tigesiklinin in vitro etkinliklerinin disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleriyle araştırılıp, yöntemlerin birbiriyle uyumunun karşılaştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Eylül 2006-Nisan 2008 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 *A.baumannii* suşu ile yapıldı. Örnekler %5 koyun kanlı agar ve EMB (Eosin Methylene Blue) besiyerlerine ekildi. *A.baumannii* suşlarının tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve otomatize bakteri tanımlama sistemi (Vitek 2, bioMerieux, Fransa) kullanılarak yapıldı.

*A.baumannii* suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerilerine göre Mueller-Hinton (MH) agarda (Oxoid, İngiltere) yapıldı<sup>4</sup>. Elde edilen inhibisyon zon çapları CLSI kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlandı. Buna göre; kolistin için  $\geq 13$  mm duyarlı, 11-12 mm orta duyarlı,  $\leq 11$  mm dirençli; polimiksin B için  $\geq 14$  mm duyarlı,  $\leq 10$  mm dirençli; tigesiklin için  $\geq 19$  mm duyarlı, 15-18 mm orta duyarlı,  $\leq 14$  mm dirençli olarak kabul edildi.

En az üç antibiyotik sınıfının tipik antibiyotiklerine dirençli olan *A.baumannii* izolatları çoğul dirençli olarak tanımlandı. Bu amaçla kullanılan antibiyotik sınıfları; aminoglikozidler (gentamisin, amikasin, tobramisin), antipsödomonal penisilinler (piperasilin, tikarsilin), karbapenemler (imipenem, meropenem), sefalosporinler (sefepim, seftazidim, seftriakson, sefotaksim) ve kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin) idi<sup>5</sup>. Çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının kolistin, polimiksin B ve tigesikline karşı duyarlılıkları disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile araştırıldı.

E-test yöntemi için; çoğul dirençli olarak saptanan *A.baumannii* suşları ile 0.5 McFarland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı ve MH besiyeri içeren plak yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kuruduktan sonra kolistin, polimiksin B ve tigesiklin şeritleri (AB Biodisk, İsveç) yerleştirildi. Plaklar  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de, 20-24 saat inkübe edildi. Kolistin ve polimiksin B için elde edilen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri CLSI'nın önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Buna göre E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalarındaki MİK değeri  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$  olduğunda dirençli,  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  olduğunda duyarlı olarak kabul edildi. Tigesiklin için E-test MİK değeri "Food and Drug Administration (FDA)" kriterlerine göre;  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  ise dirençli, 4-6  $\mu\text{g/ml}$  ise orta derecede duyarlı,  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  ise duyarlı olarak değerlendirildi.

Buyyon mikrodilüsyon yöntemi için; kolistin sülfat, polimiksin B sülfat (Sigma Aldrich, ABD) ve tigesiklin (Wyeth Research, ABD) aktif maddeleri üreticinin önerileri doğrultusunda süspansiyon edilerek stok solüsyonları hazırlandı. Stoktan her üç antibiyotik için seri dilüsyonları ( $32-0.062 \mu\text{g/ml}$ ) yapıldı. Katyon ayarlı MH buyyonu (CAMHB, Oxoid, İngiltere) CLSI önerileri doğrultusunda 20-25 mg/L  $\text{Ca}^{++}$  ve 10-12.5 mg/L  $\text{Mg}^{++}$  eklenerek hazırlandı<sup>4</sup>. *A.baumannii* suşları 0.5 McFarland bulanıklıkta süspansiyon yapılarak 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plaklarına eklendi. Mikroplaklar  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 20-24 saat inkübe edildi. Üremenin olmadığı en düşük antimikrobiyal ilaç konsantrasyonu MİK olarak tespit edildi. CLSI kriterlerine göre; kolistin ve polimiksin B için MİK  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$  dirençli; tigesiklin için MİK  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$  duyarlı, 4-6  $\mu\text{g/ml}$  orta duyarlı,  $\leq 8 \mu\text{g/ml}$  dirençli olarak kabul edildi.

Çalışmada elde edilen verilerin analizinde Mc Nemar testi kullanıldı;  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 200 *A.baumannii* izolatınının 85 (%42.5)'i trakeal aspirat, 32 (%16)'si kan, 20 (%10)'si balgam, 20 (%10)'si cerrahi yara, 16 (%8)'si kateter, 13 (%6.5)'ü plevral sıvı, 13 (%6.5)'ü idrar ve 14 (%7)'ü diğer klinik örneklerden izole edilmiştir. İzolatların 95 (%47.5)'i çoğul dirençli *A.baumannii* olarak tanımlanmış ve en yüksek direnç sefotaksim ( $n= 180$ ; %90) ve sefepime ( $n= 178$ ; %89) karşı saptanmıştır. *A.baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo I'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda, çoğul dirençli 95 izolatın tümü (%100) her üç yöntemle de (disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon) kolistine duyarlı bulunmuş; polimiksin B ve tigesikline karşı saptanan direnç oranları ise Tablo II'de verilmiştir.

İstatistiksel analizlerde; *A.baumannii* suşlarının polimiksin B'ye karşı direncinin saptanmasında disk difüzyon ile buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ve buyyon mikrodilüsyon ile E-test yöntemleri karşılaştırıldığında, yöntemler arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir (sırasıyla;  $p= 0.500$  ve  $p= 0.500$ ). *A.baumannii*'nin tigesikline karşı duyarlılığının tespitinde ise, disk difüzyon ile buyyon mikrodilüsyon yöntemleri arasındaki fark anlamlı bulunmamış ( $p= 0.125$ ), buna karşın buyyon mikrodilüsyon ile E-test yöntemleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p= 0.000$ ) (Tablo II).

**Tablo I.** *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılık Sonuçları

Antibiyotik	Duyarlı (S)		Orta duyarlı (I)		Dirençli (R)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Tikarsilin	32	16	18	9	150	75
Piperasilin	21	11.5	4	4.5	175	87.5
Sulbaktam-ampisilin	45	2.5	7	3.5	148	74
Piperasilin-tazobaktam	18	9	6	3	176	88
Tikarsilin-klavulanik asit	23	11.5	17	8.5	160	80
Sefepim	17	8.5	5	2.5	178	89
Seftazidim	18	9	10	5	172	86
Sefotaksim	7	3.5	13	6.5	180	90
Seftriakson	10	5	15	7.5	175	87.5
İmipenem	89	44.5	4	2	107	53.5
Meropenem	99	49.5	10	5	91	45.5
Gentamisin	55	27.5	6	3	139	69.5
Amikasin	35	17.5	6	3	159	79.5
Tobramisin	94	47	12	6	94	46
Tetrasiklin	32	16	13	6.5	155	77.5
Doksisiklin	137	68.5	19	9.5	44	22
Siprofloksasin	32	16	4	2	164	82
Levofloksasin	41	21.5	20	10	139	69.5
Trimetoprim-sülfametoksazol	36	18	10	5	154	77
Rifampisin	27	13.5	87	43.5	86	43
Azitromisin	35	17.5	34	17	131	65.5

**Tablo II.** Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının (n= 95) Disk Difüzyon, E-Test ve Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Kolistin, Polimiksin B ve Tigesikline Karşı Saptanan Direnç Oranları

Antibiyotik	Disk difüzyon		E-Test		Mikrodilüsyon	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kolistin	0		0		0	
Polimiksin B	3	3.2	5	5.3	3	3.2
Tigesiklin	12	12.6	17	17.9	5	5.3

## TARTIŞMA

Son yıllarda, özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkenler arasında *Acinetobacter* cinsi bakteriler yer almaktadır. Bunlar içerisinde en sık izole edilen tür *A.baumannii*'dir. Bu patojenin tedavisinde en

önemli problem çoğul dirençli izolat sayısındaki artış ve bunun sonucunda tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinde azalmadır<sup>6,7</sup>.

Polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) klinik uygulamada en çok kullanılan polimiksin türevleridir. Bu antibiyotikler, *Acinetobacter* türleri, *P.aeruginosa*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri dahil olmak üzere birçok gram-negatif bakteriye karşı etkilidir. Yıllardır dünyada yaygın olarak kullanılmakla birlikte, ciddi ve sık nefrotoksik/nörotoksik etkileri nedeniyle parenteral kullanımları yaklaşık 20 yıl önce çoğu ülkede kistik fibrozlu hastaların tedavisi haricinde terk edilmiştir. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* ile oluşan pnömoni, bakteriyemi ve üriner sistem enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde intravenöz polimiksin verilmesine ilişkin yeni çalışmalar, bu antibiyotiklerin kabul edilebilir etkileri olduğu ve daha önce rapor edilenlere göre daha az toksik etki görüldüğü kanısına yol açmıştır<sup>8</sup>.

Çoğul dirençli *A.baumannii* enfeksiyonunun tedavisinde alternatif ilaç seçeneklerinden biri de minosiklin türevi ve glisilsiklin grubundan bir antibiyotik olan tigesiklidir. Tigesiklinin etkinliği, 1997 yılından beri yapılan çok sayıda çalışmada araştırılmış ve geniş spektrumlu bu antibiyotiğin, çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşları dahil olmak üzere birçok bakteriye etkili olduğu gözlenmiştir<sup>3,9</sup>.

Lo Ten Foe ve arkadaşları<sup>10</sup> *A.baumannii* suşlarında kolistin etkinliğini disk difüzyon, E-test, buyyon mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişler, buyyon mikrodilüsyon yönteminin, agar dilüsyon ve E-test yöntemleriyle yüksek oranda uyum gösterdiğini, disk difüzyon yöntemiyle ise daha az oranda uyumunu tespit etmişlerdir. Hawley ve arkadaşları<sup>11</sup>, 95 adet *A.baumannii* suşunun buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin, polimiksin B ve tigesiklin duyarlılıklarını araştırmışlar, kolistin ve polimiksin için %99 oranında duyarlılık bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, tigesiklin için ise standart bir değer olmadığını, ancak  $MLK_{90}$  değerinin 8 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir<sup>11</sup>. Arroyo ve arkadaşları<sup>12</sup>, 115 adet *A.baumannii* suşu üzerinde buyyon mikrodilüsyon ve E-test yöntemleri ile kolistin etkinliğini karşılaştırmışlar, buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle suşların %81'ini (n= 93) duyarlı bulmuşlardır. Bu çalışmada, buyyon mikrodilüsyon ile kolistine dirençli olduğu saptanan 22 *A.baumannii* suşunun 20'si E-test ile dirençli bulunmuş ve sonuç olarak E-test yönteminin, kolistin için referans yöntem olan buyyon mikrodilüsyon yöntemine güvenilir bir alternatif olduğu belirtilmiştir<sup>12</sup>.

Mezzatesta ve arkadaşları<sup>13</sup>, yaptıkları çalışmada buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle *A.baumannii*'nin kolistine %99 ve tigesikline %93 oranında duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Lolans ve arkadaşları<sup>14</sup>, buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle tüm *A.baumannii* suşlarını kolistine duyarlı bulurken, tigesikline %4 oranında direnç bulmuşlardır. Song ve arkadaşları<sup>15</sup> ise kolistin ve tigesiklinin etkinliğini 43 *A.baumannii* suşu üzerinde buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle değerlendirmişler, suşların tümünü kolistine duyarlı, %56'sını ise tigesikline duyarlı olarak bildirmişlerdir. Pachon-Ibanez ve arkadaşları<sup>16</sup> tigesikline buyyon mikrodilüsyonla %92 oranında duyarlılık tespit etmişlerdir. Navon-Venezia ve arkadaşları<sup>17</sup>, 82 *A.baumannii* suşuna karşı tigesiklin aktivitesini disk difüzyon ve E-test ile araştırmışlar ve %66 oranında tigesiklin direnci bulmuşlardır. Yazarlar, *A.baumannii*'nin tigesikline duyarlılığının tespitinde E-test ile disk difüzyon yöntemleri arasında %100 ko-

relasyon olduğunu bildirmişlerdir. Akıncı ve arkadaşları<sup>18</sup>, *A.baumannii*'ye karşı tigesiklinin aktivitesini E-test ile ölçtükleri çalışmada %80 oranında duyarlılık tespit etmişlerdir. Tiengrim ve arkadaşları<sup>19</sup>, 148 çoğul dirençli *A.baumannii* suşuna karşı tigesiklin aktivitesini disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile karşılaştırmışlar ve suşların %97'sinin tigesikline duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, E-test yöntemi ile tigesiklinin MİK değerinin buyyon mikrodilüsyon yöntemine göre 4 kat yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir<sup>19</sup>.

Bizim çalışmamızda değerlendirmeye alınan 95 çoğul dirençli *A.baumannii* suşunun disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile yapılan kolistin duyarlılık testlerinde, her üç yöntem ile de %100 oranında duyarlılık saptanmıştır. Çoğul dirençli izolatların disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile polimiksin B'ye direnç oranları sırasıyla %3.2, %5.3 ve %3.2; tigesikline direnç oranları ise sırasıyla %12.6, %17.9 ve %5.3 olarak belirlenmiştir (Tablo II). Kolistin, çalışmaya alınan antibiyotikler içinde çoğul dirençli *A.baumannii*'lere karşı en etkili antibiyotik olduğu, polimiksin B'nin ise en duyarlı ikinci antibiyotik olduğu izlenmiştir. Yukarıda değinilen çalışmalarda da, kolistin ve polimiksin B'nin *A.baumannii*'ye karşı yüksek oranda etkili antibiyotikler olduğu görülmektedir<sup>11-13</sup>. Kolistin ve polimiksin B'nin antimikrobiyal aktivitelerinin tespitinde, çalışmamızda kullanılan yöntemler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kolistine duyarlılığın belirlenmesi amacıyla son yıllarda yapılan iki ayrı çalışmada, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri arasında yüksek oranda uyum tespit edilmiştir<sup>10,12</sup>. Çalışmamızda tigesiklin direnci, referans yöntem olan buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile %5.3, disk difüzyon ile %12.6 ve E-test yöntemi ile %17.9 olarak bulunmuştur. Disk difüzyon ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış ( $p= 0.125$ ); buna karşın, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, yöntemler arasındaki direnç farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p= 0.000$ ). Bu durum, Tiengrim ve arkadaşlarının<sup>19</sup> belirtmiş olduğu gibi, tigesikline duyarlılığın saptanmasında buyyon mikrodilüsyon ve E-test ile alınan sonuçların birbiriyle uyumsuz olduğunu vurgulamaktadır. Tigesiklin direnci, yakın zamanda yapılmış olan çeşitli çalışmalarda buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile %4-44<sup>13-16</sup>, E-test ile %3-66<sup>17-19</sup> olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar; henüz yeni kullanıma giren bir antimikrobiyal olmasına rağmen, tigesikline ülkeden ülkeye değişen ve zaman zaman yüksek oranlara ulaşan direnç geliştiğini ve kullanılan duyarlılık yöntemlerinin birbiriyle uyumlu olmamasının sonuçların yorumlanmasını etkilediğini göstermektedir.

Sonuç olarak, çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının kolistin, polimiksin B ve tigesikline karşı duyarlılıklarının araştırıldığı bu çalışmada, hastanemizin çeşitli servislerde yatan hastalardan izole edilen *A.baumannii* suşlarına karşı bu antibiyotiklerin yüksek oranda etkili olduğu bulunmuştur. Ancak hastanemizde, bu antibiyotiklerin kullanımlarının giderek yaygınlaşması sonucu, direnç oranlarının da zamanla artacağı öngörülmektedir. Diğer taraftan, antimikrobiyal duyarlılığın saptanmasında kullanılan disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri karşılaştırıldığında; polimiksin grubu antibiyotiklerin duyarlılık sonuçlarının her üç yöntemle de birbiriyle uyumlu olduğu; tigesiklin duyar-

İlişğinin ise E-test ile diğler yöntemlere göre daha düşük oranda saptandığı gözlenmiştir. Bu bulguya dayanarak, çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının tigesikline duyarlılığının araştırılmasında, disk difüzyon veya buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin kullanılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Akalin H. Kolistin. ANKEM 2007; 21: 26-8.
2. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2005; 25: 11-25.
3. Çalık N, Akova M. Tigesiklin. ANKEM 2007; 21: 29-33.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A9. 2007, 9<sup>th</sup> ed. CLSI, Wayne, PA.
5. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 2006; 55: 1619-29.
6. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-65.
7. Towner K. The genus *Acinetobacter*. Prokaryotes 2006; 6: 746-58.
8. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005; 40: 1333-41.
9. Ulusoy S. Tigesiklin. ANKEM 2006; 20: 117-9.
10. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederer BM, Kluytmans JA, Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, E test, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3726-30.
11. Hawley J, Murray CK, Griffith ME, et al. Susceptibility of *Acinetobacter* strains isolated from deployed U.S. military personnel. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 376-8.
12. Arroyo LA, Garcia-Curiel A, Pachon-Ibanez MA, et al. Reliability of the E-test method for detection of colistin resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 2005; 43: 903-5.
13. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2008; 7: 4-7.
14. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price SL, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 2941-5.
15. Song JG, Kee SY, Hwang IS, et al. In vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 317-22.
16. 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: 4479-81.
17. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 772-4.
18. Akıncı E, Mumcuoğlu İ, Öngörü P, et al. In vitro activity of tigecycline against *Acinetobacter baumannii* strains isolated from nosocomial infections. Turk J Med Sci 2008; 38: 583-6.
19. Tiengrim S, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. In vitro activity of tigecycline against clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Thailand. J Med Assoc Thai 2006; 89: 102-5.