



Çoğul Direnç veya Ekstrem İlaç Direnci Olan 30 *Acinetobacter* Suşunda in Vitro Tigesiklin Duyarlılığının Disk Difüzyon, E-test ve Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi[†]

Ahmet Mansur*, Çiğdem Kuzucu*, Yasemin Ersoy**, Funda Yetkin**

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

Acinetobacter türleri sıklıkla nosokomial enfeksiyonlara neden olurlar ve çoğu antimikrobiyal ajana dirençlidirler. Bu çalışmada çoğul dirençli (MDR) veya extreme-rezistans (XDR) olarak tanımlanmış *Acinetobacter* izolatlarında tigesiklin duyarlılığı üç ayrı yöntem ile değerlendirilmiştir. Üçten fazla ilaca (imipenem, meropenem, seftazidime, sefepime, aztreonam, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, tetrasiklin, ampisilin-sulbaktam, trimetoprim-sülfametoksazol, amikasin, gentamisin ve tobramisin) dirençli olanlar MDR ve tigesiklin ile kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli olanlar XDR olarak alınmıştır.

Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 yılında yatan hastalara ait 8 parasetez sıvısı, 8 kan, 7 trakeal aspirat, 5 yara, 2 idrar, 2 katater ve 1 balgamdan izole edilen 30 (beşi MDR ve 25'i XDR) *Acinetobacter* suşu çalışmaya alınmıştır. *Acinetobacter* izolatları konvansiyonel yöntemler ile tanımlanmış, antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre yapılmıştır. İzolatların tümü karbapenem dirençli olarak değerlendirilmiştir. Tigesiklin duyarlılığı için disk difüzyon, E test (AB BIODISK, Solna, Sweden) ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. *Acinetobacter* suşlarında tigesiklin için onaylanmış MİK sınır değerleri bulunmadığından, buyyon mikrodilüsyon ve E test sonuçları *Enterobacteriaceae* ailesi için United States Food and Drug Administration'ın (U.S. FDA) onayladığı tigesiklin MİK sınır değerine ($\leq 2 \mu\text{g/ml}$ duyarlı) göre yorumlanmıştır. MDR ve XDR izolatlarının tümü buyyon mikrodilüsyon testi ile tigesikline duyarlı bulunmuştur. Buyyon mikrodilüsyon çalışılan 30 suşun MİK değerleri 0.03-0.5 $\mu\text{g/ml}$ değerleri arasında olup, MİK₅₀ değeri 0.12 $\mu\text{g/ml}$, MİK₉₀ değeri 0.25 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Tigesiklin disk difüzyon testinde $\geq 16\text{mm}$ duyarlı ve $\leq 12\text{mm}$ dirençli inhibisyon zon çapları kullanılarak 25 suş (% 83) duyarlı bulunmuştur. E test çalışılan 30 suşun MİK değerleri 1-8 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptanmıştır. E test ile elde edilen MİK değerleri gerçek MİK değerlerinden 8-64 kat fazla olup, çalışılan *Acinetobacter* suşlarının %30 (9/30)'u hatalı olarak dirençli bulunmuştur (2 $\mu\text{g/ml}$ MİK kırılma noktasına göre). Sonuç olarak disk difüzyon yöntemi ve E test ile tigesikline dirençli bulunan *Acinetobacter* suşları için direnci doğrulamada buyyon mikrodilüsyon yöntemi çalışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter* spp; Çoğul İlaç Direnci; Tigesiklin; E Test; Buyyon Mikrodilüsyon.

Evaluation of Tigecycline Susceptibility by Disk Diffusion, E-test and Broth Microdilution Methods in 30 Multidrug Resistant or Extreme Drug Resistant *Acinetobacter* Isolates

Acinetobacter spp. are primarily associated with nosocomial infections and these isolates resistant to most antimicrobial agents. The present study was conducted to evaluate the in vitro susceptibility of tigecycline in multi-drug-resistant (MDR) and extreme-drug resistance (XDR) *Acinetobacter* strains by three different methods. MDR *Acinetobacter* isolates described in the study were resistant to at least three of the following antibiotics: imipenem, meropenem, ceftazidime, cefepime, aztreonam, piperacillin tazobactam, ciprofloxacin, tetracycline, ampicillin-sulbactam, trimethoprim-sulfamethoxazole, amikacin, gentamicin and tobramycin. XDR was defined as resistance to all above antibiotics excluding colistin and tigecycline. Identification of *Acinetobacter* spp. were made conventional methods. Antibiotic susceptibility tests were performed according to the criteria of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). All of the isolates were found resistant to carbapenem.

Disk diffusion, E-test and broth microdilution methods were used to evaluate the in vitro susceptibility of tigecycline. No tigecycline interpretative criteria universally accepted for *Acinetobacter* spp, therefore the Food and Drug Administration approved breakpoints for members of the family *Enterobacteriaceae* have been used.

A total of 30 (five strains were MDR and 25 strains were XDR) *Acinetobacter* strains were isolated from various clinical specimens (8 paracentesis fluid, 8 blood, 7 tracheal aspirates, 5 wound, 2 urine, 2 catheter, 1 sputum) of hospitalized patients in Turgut Ozal Medical Center in 2008 year. All of the MDR and XDR strains were susceptible to tigecycline by broth microdilution method. Against *Acinetobacter* spp, an MIC range between 0.03 and 0.5 $\mu\text{g/ml}$ was observed by broth microdilution and MIC₅₀ and MIC₉₀ values were determined as 0.12 $\mu\text{g/ml}$ and 0.25 $\mu\text{g/ml}$,

Başvuru Tarihi: 15.08.2011, Kabul Tarihi:11.10.2011

respectively. Twenty five strains (83%) were found susceptible to tigecycline when the disk diffusion breakpoints

were considered as ≥ 16 mm susceptible and ≤ 12 mm resistant. Against *Acinetobacter* spp, an MIC range between 1 and 8 $\mu\text{g/ml}$ was observed by E test. MICs of tigecycline determined by E test were 8 to 64 times higher and 30% (9/30) of the isolates were resistant to tigecycline by E test (MIC breakpoint 2 $\mu\text{g/ml}$). Broth microdilution method must to use in the resistant *Acinetobacter* spp, by E test and disk diffusion method.

Key Words: *Acinetobacter* spp; Multi-Drug-Resistance; Tigecycline; E Test; Broth Microdilution.

+Bu çalışma Gülhane Mikrobiyoloji Günleri Antimikrobik Kemoterapi Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler Kongresinde (20-22 Nisan 2010, İstanbul) poster olarak sunulmuştur.

Giriş

Acinetobacter türleri çeşitli direnç mekanizmaları ile farklı gruptan antibiyotiklere kolayca direnç geliştirebilen; ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilen fırsatçı patojenlerdir.^{1,2} Çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonları son yıllarda nozokomiyal patojen olarak tüm dünyada artmıştır.^{3,4} Literatürde antimikrobiyal dirençle ilgili olarak MDR, XDR ve pan-rezistans (PDR) gibi farklı tanımlamalar kullanılmıştır.⁵⁻⁷ Bir minosiklin derivativesi olan tigesiklin, son yıllarda çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında yüksek etkinliği nedeniyle klinisyenlerin yeni tedavi alternatiflerinden biri olmuştur.^{2,8,9} Bu çalışmada MDR ve XDR olarak tanımlanmış *Acinetobacter* izolatlarında tigesiklin duyarlılığı üç ayrı yöntem ile değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 yılı içerisinde yatarak tedavi gören hastalardan izole edilen *Acinetobacter* suşları alınmıştır. Suşların her biri farklı hastalara ait klinik örneklerden izole edilmiş olup, aynı hastaya ait tekrarlayan örnekler çalışma kapsamı dışında tutulmuştur. Üçten fazla ilaca (imipenem, meropenem, seftazidime, sefepime, aztreonam, piperasilin- tazobaktam, siprofloksasin, tetrasiklin, ampisilin-sulbaktam, trimetoprim-sülfametoksazol, amikasin, gentamisin ve tobramisin) dirençli olanlar MDR ve tigesiklin ile kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli olanlar XDR olarak alınmıştır.⁵⁻⁷ Çalışma kapsamında beş MDR ve 25 XDR *Acinetobacter* suşunun tigesikline duyarlılıkları değerlendirilmiştir.

Bakterilerin identifikasyonu için konvansiyonel yöntemler kullanılmış, antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır.¹⁰ Karbapenem direncini doğrulamak için imipenem E test (AB BIODISK, Solna, İsveç) kullanılmıştır. Tigesiklin duyarlılığı için disk difüzyon, buyyon mikrodilüsyon ve E test (AB BIODISK, Solna, İsveç) yöntemleri çalışılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Buyyon mikrodilüsyon yöntemi için Mueller-Hinton broth (HIMEDIA, Mumbai, Hindistan) besiyeri, E test

ve disk difüzyon yöntemleri için Mueller-Hinton agar (MHA) (MERCK, Darmstadt, Almanya) besiyeri taze olarak (< 12 saat) hazırlanarak kullanılmıştır. Buyyon mikrodilüsyon yöntemi CLSI kriterlerine göre, E test yöntemi üretici firmanın önerilerine göre çalışılarak MİK sonuçları değerlendirilmiştir.¹¹ Tigesiklin için CLSI tarafından onaylanmış MİK sınır değerleri bulunmadığından, buyyon mikrodilüsyon ve E test sonuçları *Enterobacteriaceae* ailesi için United States Food and Drug Administration (U.S. FDA)'ın onayladığı tigesiklin MİK sınır değerine ($\leq 2 \mu\text{g/ml}$ duyarlı) göre yorumlanmıştır (Tygacil package insert [June 2005], Wyeth Pharmaceuticals Inc. Philadelphia, PA). Tigesiklin disk difüzyon testi için 15 μg tigesiklin içeren diskler (OXOID, Hampshire, İngiltere) kullanılmış olup ≥ 16 mm inhibisyon zon çapı değeri duyarlı ≤ 12 mm dirençli olarak kabul edilmiştir.¹² Çalışmada *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu kalite kontrolü amacıyla kullanılmıştır. Yöntemlerin karşılaştırılması için elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (SPSS Incorporated, Chicago) programında Ki-kare testleri kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

MDR ve XDR *Acinetobacter* suşlarının izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir. Suşların %53'ü (16/30) kan ve parasentez sıvısı örneklerinden, %20'si (6/30) solunum yolu örneklerinden (trakeal aspirat ve balgam) izole edilmiştir. Yine suşların %77'si (23/30) Anestezi Reanimasyon Yoğun Bakım, Dahiliye Yoğun Bakım, Genel Cerrahi ve Organ Nakli servislerindeki hasta örneklerinden izole edilmiştir.

Tablo 1. *Acinetobacter* suşlarının izole edildikleri klinik örnekler dağılımı.

Örnek	Sayı	%
Parasentez sıvısı	8	26.7
Kan	8	26.7
Trakeal aspirat	5	16.7
Yara	5	16.7
İdrar	1	3.3
Katater	2	6.7
Balgam	1	3.3
Toplam	30	100

Çoğul Direnç veya Ekstrem İlaç Direnci Olan 30 *Acinetobacter* Suşunda in Vitro Tigesiklin Duyarlılığının Disk Difüzyon, E-test ve Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

İzole edilen beş MDR *Acinetobacter* suşundan ikisi sefepime, biri aminoglikozidlere, biri ampisilin/sulbaktama ve bir tanesi de tetrasikline duyarlıydı. Otuz izolattan 20'sinin imipenem MİK değeri $\geq 32 \mu\text{g/ml}$, altısının $16 \mu\text{g/ml}$ ve dördünün $8 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. İmipeneme orta derecede dirençli olan suşlarda dirençli kategorisinde ele alınmıştır.

MDR ve XDR izolatların tümünde buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile tigesiklin in vitro olarak etkili saptanmıştır. Buyyon mikrodilüsyon çalışılan 30 suşun MİK değerleri $0.03-0.5 \mu\text{g/ml}$ değerleri arasında olup, MİK₅₀ değeri $0.12 \mu\text{g/ml}$, MİK₉₀ değeri $0.25 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Disk difüzyon testinde suşların %17'sinde (5/30) inhibisyon zon çapı değerleri duyarlılık sınırının altında (<16 mm) bulunmuştur.

E test çalışılan 30 suşun MİK değerleri $1-8 \mu\text{g/ml}$ saptanmış olup, suşların %77'si (23/30) $2-3 \mu\text{g/ml}$ aralığında idi. Yine E test sonuçlarına göre suşların %30'u (9/30) tigesikline dirençli (MİK $>2 \mu\text{g/ml}$) bulunmuştur (Tygacil package insert [June 2005], Wyeth Pharmaceuticals Inc., Philadelphia, PA). Tigesiklin duyarlılığı için disk difüzyon, E test ve buyyon mikrodilüsyon sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

Tartışma

Acinetobacter türleri fırsatçı patojenler olup, özellikle

yoğun bakım ünitelerinde kullanılan mekanik aletlerin yüzeylerinde ve bu ünitelerde çalışan personelin cilt florasında kolonize olabilmektedir. Yoğun bakım ünitelerindeki hastaların tedavileri sırasındaki invaziv girişimlerin sıklığı ve bu hastalarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı, mortalitesi yüksek çoğul ilaç direnci gösteren *Acinetobacter* enfeksiyonlarına neden olabilmektedir.^{1,13-15}

Acinetobacter türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda çoğul ilaç direnci nedeniyle tedavi seçenekleri azalmaktadır. Tigesiklin 30S ribozomal subünite tetrasiklin ve minosiklinden 5 kat daha güçlü bağlanarak protein sentezini inhibe eden geniş spektrumlu bir antimikrobiyaldir ve *Acinetobacter* suşlarındaki yüksek etkinliği nedeniyle klinisyenlerin yeni tedavi alternatiflerinden biridir.^{2,8,9,16-18}

Tigesiklin için CLSI tarafından onaylanmış MİK sınır değerleri bulunmamaktadır. U.S. FDA tarafından *Enterobacteriaceae* ailesi için tigesiklin duyarlı ve dirençli MİK sınır değerleri sırasıyla; ≤ 2 ve $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir (Tygacil package insert [June 2005], Wyeth Pharmaceuticals Inc., Philadelphia, PA). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ise yine *Enterobacteriaceae* ailesi için tigesiklin duyarlılık sınır değerini $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ olarak önermiştir.¹⁹ *Enterobacteriaceae* için önerilen MİK değerleri esas alınarak *Acinetobacter* türlerinde tigesiklin duyarlılığını saptamaya yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. *Acinetobacter* türlerinde buyyon

Tablo 2. *Acinetobacter* izolatlarında tigesiklin disk difüzyon ve buyyon mikrodilüsyon sonuçlarının karşılaştırılması.

Disk difüzyon (mm)	Buyyon MİK ($\mu\text{g/ml}$)					Toplam suş sayısı
	0.5	0.25	0.12	0.06	0.03	
13	1					1
14			1			1
15		2	1			3
16	1	5	2	1		9
17		3	3	2	2	10
18		2	2	1		5
19				1		1
Toplam suş sayısı	2	12	9	5	2	30

Tablo 3. *Acinetobacter* izolatlarında tigesiklin disk, buyyon mikrodilüsyon ve E test sonuçlarının karşılaştırılması.

Disk difüzyon (mm)	Broth MİK ($\mu\text{g/ml}$)	E Test ($\mu\text{g/ml}$)					Toplam Suş sayısı	
		8	4	3	2	1.5		1
13	0.5	1					1	
14	0.12	1					1	
15	0.12-0.25		1	2			3	
16	0.06-0.5			4	5		9	
17	0.03-0.25				7	1	2	10
18	0.06-0.25				5		5	
19	0.06					1	1	
Toplam suş sayısı		2	1	6	17	1	3	30

mikrodilüsyon yöntemi ile tigesiklin %56-100 oranında duyarlı olarak bulunmuş, MİK₅₀ değeri 0.5-1 µg/ml, MİK₉₀ değeri 1-4 µg/ml arasında gözlemlenmiştir.^{9,20-25} Bu çalışmada MİK seviyeleri 0.03-0.5 µg/ml, MİK₅₀ değeri 0.12 µg/ml, MİK₉₀ değeri 0.25 µg/ml arasında bulunmuştur. *Enterobacteriaceae* için hem U.S. FDA'nin onayladığı tigesiklin MİK sınır değerine göre (≤ 2 µg/ml duyarlı), hem de EUCAST'in önerdiği MİK sınır değerine göre (≤ 1 µg/ml duyarlı) tigesiklin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır.

E test ile yapılan çalışmalarda tigesiklin duyarlılığı farklılıklar göstermektedir. Bogaert ve arkadaşları²⁶ 17 karbapenem dirençli *Acinetobacter* izolatının hepsini E test ile duyarlı bulmuşlardır. Aynı şekilde Ratnam ve arkadaşları²⁷ çoğul dirençli 11 *Acinetobacter* izolatında MİK aralığını 0.125-2 µg/ml olarak bulmuşlardır. Buna karşılık Pillar ve arkadaşlarının²⁸ 2006-2007 yılları arasında yaptıkları çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 227 *Acinetobacter baumannii* izolatında tigesiklin duyarlılığı hem buyyon mikrodilüsyon hem de E test ile çalışılmış, E test ile saptanan MİK₉₀ değerleri buyyon mikrodilüsyon ile saptanandan 4 kat fazla bulunmuştur. Yine Thamlikitkul ve arkadaşlarının²⁹ çalışmasında E test ile saptanan MİK sonuçları, buyyon mikrodilüsyon sonuçlarına göre 4 kat fazla olup tigesiklin duyarlılığında E test ile suşların %25'i hatalı olarak dirençli bulunmuştur. Benzer şekilde Akın ve arkadaşları³⁰ 95 *Acinetobacter baumannii* izolatında E test ile %17.9, buyyon mikrodilüsyon ile %5.3 direnç saptamışlar, buyyon dilüsyon ve E test yöntemleri arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır.

Çalışmamızda tigesiklin E test ile elde ettiğimiz MİK değerleri 1-8 µg/ml arasında olup, bu değerler buyyon mikrodilüsyon ile saptamış olduğumuz MİK değerlerine göre 8-64 kat fazla idi. U.S. FDA'nin tigesiklin MİK duyarlılık sınır değerine (≤ 2 µg/ml duyarlı) göre E test çalışılan izolatların %70'i (21/30) tigesikline duyarlı olup, buyyon mikrodilüsyon sonuçları ile E test sonuçları arasındaki fark ileri derecede anlamlı idi (p: 0.002; Fisher'in Ki-kare testi ile).

Acinetobacter spp. için tigesiklin disk difüzyon çalışmalarında zon çaplarıyla ilgili sıkıntılar bulunmaktadır. Jones ve arkadaşları¹² *Acinetobacter* spp. tigesiklin disk difüzyon testi için *Enterobacteriaceae* U.S. FDA kriterlerini alarak yorumladıklarında buldukları %23 minör hatanın kabul edilemez olduğunu, zon çapları duyarlılık için 19mm yerine 16mm olduğunda hatanın kabul edilebilir düzeye indiğini vurgulamışlardır. Thamlikitkul ve arkadaşları²⁷ buyyon mikrodilüsyon ile elde ettikleri duyarlılık oranlarını referans olarak U.S. FDA'nin tigesiklin için duyarlı inhibisyon zon çapı olarak önerdiği ≥ 19 mm değerinin (Tygacil package insert [June 2005], Wyeth Pharmaceuticals Inc., Philadelphia, PA) kabul edilemez olduğunu, ≥ 13 mm duyarlı

inhibisyon zon çapı değerinin %99 duyarlı ve %100 özgül olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki tigesiklin disk difüzyon testi sonuçları Jones ve arkadaşlarının önerdikleri inhibisyon zon çapı değerine göre (≥ 16 mm duyarlı) değerlendirilmiş ve buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen MİK değerleri referans olarak alındığında, tigesiklin disk difüzyon testi ile duyarlı suşların %83 (25/30)'ü saptanabilmiştir. Buyyon mikrodilüsyon test sonuçları ile disk difüzyon testi sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0.052; Fisher'in Ki-kare testi ile). Tigesiklin disk difüzyon testi ile saptanan %17'lik direnç oranının çalışmada kullanılan yüksek manganez oranına sahip Mueller-Hinton agar kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Mueller-Hinton besiyerinin *Acinetobacter* spp. için tigesiklin duyarlılığını saptamada 12 saatten daha taze hazırlanmış olarak kullanılması önerilmektedir ki; daha eski besiyerleri kullanıldığında muhtemelen besiyeri içerisindeki çözünür oksijenin azalmasına bağlı olarak en az iki dilüsyon yüksek MİK değerleri saptanabilmektedir.^{31,32} Ayrıca *Acinetobacter* spp. için farklı marka Mueller-Hinton agar ile çalışılan tigesiklin duyarlılıklarının besiyerlerinin içeriklerinden kaynaklanan nedenlerle farklı sonuçlar verebildiklerini bildiren çalışmalar vardır.^{33,34} Mazarrasa ve arkadaşları³³ 2008 yılında İspanya'da ki çalışmalarında üç farklı üretici firmaya ait MHA besiyerlerini içerik olarak incelemişlerdir. Merck (Darmstadt, Almanya), Oxoid (Basingstoke, Hampshire, İngiltere) ve Difco [BD, Sparks, MD] MHA besiyerlerinden; Merck MHA'nın diğer iki markaya göre 272 kat daha yüksek manganez içerdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada yüksek manganez içeriğinin tigesiklin üzerindeki tam etki mekanizması bilinmese de, in vitro ortamda manganez ile tigesiklin arasında bir takım komplekslerin oluşabileceğine; bu nedenle *Acinetobacter* spp. için Merck MHA ile saptanan tigesiklin E test MİK değerlerinin Oxoid MHA ve Difco MHA ile saptanana göre 2-8 kat yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir. Buna benzer diğer bir çalışma da Oxoid ve Becton-Dickinson(BD) marka MHA besiyerleri içerisindeki manganez oranlarının incelendiği ve *Acinetobacter* spp. için tigesiklin disk difüzyon sonuçlarının karşılaştırıldığı Tayland'da yapılmış olan çalışmadır. Bu çalışmada Oxoid MHA içerisindeki manganez oranı BD MHA'dakinden 3 kat fazla bulunmuş ve *Acinetobacter* spp. için tigesiklin disk difüzyon testi ile saptanan inhibisyon zon çapları Oxoid MHA ile 1-6 mm (ortalama 3.5mm) daha küçük bulunmuştur.³⁴ Bizim çalışmamızda 12 saatten daha taze besiyerleri kullanmamıza rağmen E test ile yüksek MİK değerleri (8-64 kat) saptamış olmamız kullandığımız MHA (Merck, Darmstadt, Almanya) besiyeri içerisindeki yüksek manganez oranına bağlı olabilir. Bununla birlikte *Acinetobacter* izolatlarında tigesiklin duyarlılığının E test ve disk difüzyon yöntemi ile

Çoğul Direnç veya Ekstrem İlaç Direnci Olan 30 *Acinetobacter* Suşunda in Vitro Tigesiklin Duyarlılığının Disk Difüzyon, E-test ve Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

saptanmasında MHA besiyeri ile tigesiklin ve *Acinetobacter* türleri arasında başka uyumsuzluklar da olabilir ki; bu konuda değişkenleri inceleyecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak mikrobiyoloji laboratuvarlarında halen antibiyotik duyarlılık testleri için öncelikle disk difüzyon yöntemi kullanılmakta olup, direnci doğrulamada E test yöntemine sıklıkla başvurulmaktadır. Ancak tigesiklin için yapılan çalışmalar dikkate alındığında U.S. FDA'nın *Enterobacteriaceae* için belirlediği disk difüzyon kriterlerinin tigesiklin için kullanılmayacağı, Jones ve arkadaşlarının kullandığı kriterlerin de kesin olarak kabul edilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir. Yine MHA besiyeri ile tigesiklin ve *Acinetobacter* spp. arasındaki saptanabilmiş ve var olması muhtemel uyumsuzluklar göz önüne alındığında, disk difüzyon yöntemi ve E test ile tigesikline dirençli bulunan *Acinetobacter* suşları için direnci doğrulamada buyyon mikrodilüsyon yöntemi çalışılmalıdır.

Kaynaklar

1. Karageorgopoulos DE, Kelesidis T, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) *Acinetobacter* infections: A review of the scientific evidence. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 45-55.
2. Akıncı E, Mumcuoğlu İ, Öngürü P, et al. In vitro activity of Tigecycline against *Acinetobacter baumannii* strains isolated from nosocomial infections. *Turk J Med Sci* 2008; 38(6): 583-6.
3. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3): 538-82.
4. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(10): 3471-84.
5. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(3): 813-21.
6. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G. Outcome of infections due to pandrug-resistance gram-negative bacteria. *BMC Infect Disease* 2005; 5: 24.
7. Falagas ME, Kolarski 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.
8. Livermore DM. Tigecycline what is it, and where should it be used? *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 611-4.
9. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, et al. In vitro activity of tigecycline against multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram-negative and gram-positive clinical isolates from Greek hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(9): 3166-9.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100-S18, 18th informational supplement. CLSI 2008; Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard M7-A6. 6th.ed. CLSI, 2006, Wayne, PA.
12. Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, et al. Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2007; 45(1): 227-30.
13. Berezin EB, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbial, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(2): 148-65.
14. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 692-9.
15. Garmendia G, Ortiz-Leyba JLC, Montero GJ, et al. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 939-46.
16. Greer ND. Tigecycline (Tygacil): the first in the glycycline class of antibiotics. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2006; 19: 155-61.
17. Noskin GA. Tigecycline: A new glycycline for treatment of serious infections. *Clin Infect Dis* 2005; 41(Suppl 5): 303-14.
18. Hawkey P, Finch R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 354-62.
19. Kahlmeter G, Brown DFJ, Canton R, et al. EUCAST technical note on tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 1147-9.
20. Scheetz MH, Qi C, Warren JR, et al. In vitro activities of various antimicrobials alone and in combination with tigecycline against carbapenem intermediate or resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(5): 1621-6.
21. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F, et al. 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.
22. Hoban DJ, Bouchillon SK, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of extended-spectrum β -lactamase producers and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* throughout the United States and comparative in vitro activity of tigecycline, a new glycycline antimicrobial. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 423-8.
23. Song JY, 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.
24. Mansur A, Kuzucu Ç, Ersoy, Yetkin F. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 yılında yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM* 2009; 23(4): 177-81.
25. Zer Y, Akın Özgür FE, Namıduru M. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21(4): 193-6.
26. Bogaerts P, Naas T, Wybo I, et al. Outbreak of infection by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58 in Belgium. *J Clin Microbiol* 2006; 44(11): 4189-92.
27. Ratnam I, Franklin C, Spelman W. In vitro activities of new and conventional antibiotics against multi-drug resistant gram negative bacteria from patients in the intensive care unit. *Pathology* 2007; 39(6): 586-8.
28. Pillar M, Draghi DC, Dowzicky MJ, Sahn DF. In vitro activity of tigecycline against gram-positive and gram-negative pathogens as evaluated by broth microdilution and E test. *J Clin Microbiol* 2008; 46(9): 2862-7.
29. Thamlikitkul V, Tiengrim S, Tribuddharat C. Comment on: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 177-8.
30. Akın Özgür 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 Bul* 2010; 44: 203-10.
31. Petersen PJ, Bradford PA. Effect of medium age and supplementation with the biocatalytic oxygen-reducing reagent oxyrase on in vitro activities of tigecycline against recent clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(9): 3910-8.
32. Hope R, Warner M, Mushtaq S, Ward ME, Parsons T, Livermore DM. Effect of medium type, age and aeration on the MICs of tigecycline and classical tetracyclines. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 1042-6.
33. Mazarrasa CF, Mazarrasa O, Calvo J, Arco A, Martínez LM. High concentrations of manganese in Mueller-Hinton agar increase MICs of tigecycline determined by E-test. *J Clin Microbiol* 2009; 47(3): 827-9.

Mansur ve ark.

34. Thamlikitkul V, Tiengrim S. Effect of different Mueller–Hinton agars on tigecycline disc diffusion susceptibility for *Acinetobacter spp.* J Antimicrob Chemother 2008; 62: 847-8.

İletişim Adresi: Dr. Çiğdem KUZUCU

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
MALATYA

İş Tel: 0-422-3410660/ 4808

Cep tel: 0532 5726042

e-mail: ckuzucu@inonu.edu.tr