

Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına *in vitro* etkileri

In vitro activities of various antibiotic combinations on multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains

Hörü Gazi¹, Özlem Tünger², Şehriban Vural², Beril Özbakkaloğlu¹, Süheyla Sürücüoğlu¹

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ²İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa

İletişim / Correspondence: Höri Gazi Adres / Address: Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD Uncubozköy Mevkii, MANİSA Tel: 0236 233 19 20 Fax: 0236 233 14 66 E-mail: horugazi@hotmail.com

ÖZET

*Sefepim-netilmisin (FEP-NET), sefepim-ampisilin/sulbaktam (FEP-SAM), sefepim-siprofloksasin (FEP-CIP), imipenem-netilmisin (IMP-NET), imipenem-siprofloksasin (IMP-CIP), ampisilin/sulbaktam-netilmisin (SAM-NET), ampisilin/sulbaktam-siprofloksasin (SAM-CIP) kombinasyonlarının in vitro sinerjistik etkinliği E test yöntemi ile araştırılmıştır. Kullanılan yedi kombinasyon için hesaplanan 140 FİK indeks değerine göre 68 (%48.6) etkisiz, 52 (%37.1) aditif, 12 (%8.6) antagonist ve sekiz (%5.7) sinerji sonucu saptanmıştır. IMP-NET kombinasyonu ile 20 suşun beşinde (%25), FEP-NET kombinasyonu ile ikisinde (%10) ve FEP-CIP kombinasyonu ile de bir suşta (%5) sinerjik etki gösterilmiştir. Sonuç olarak, hastanemizde çoğul dirençli *A. baumannii* suşları ile oluşan infeksiyonların sağaltımında in-vitro sinerji testlerinin uygulamasının hastalara en uygun tedaviye verme açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.*

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik kombinasyonları, E test yöntemi

SUMMARY

*This study was performed to investigate the in vitro effect of various antibiotic combinations on 20 multiresistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains. The in vitro activity of cefepim-netilmicin (FEP-NET), cefepim-ampicillin/sulbactam (FEP-SAM), cefepim-ciprofloxacin (FEP-CIP), imipenem-netilmicin (IMP-NET), imipenem-ciprofloxacin (IMP-CIP), ampicillin/sulbactam-netilmicin (SAM-NET), ampicillin/sulbactam-ciprofloxacin (SAM-CIP) combination were studied by the E test method. For the tested seven antibiotic combinations 140 FIC index were calculated. Indifference, additive, antagonist, and synergistic effects were found as 68 (%48.6), 52 (%37.1), 12 (%8.6) and eight (%5.7), respectively. IMP-NET, FEP-NET and FEP-CIP combinations were found synergistic against five (25 %), two (10%) and one (%5) of the 20 tested strains, respectively. It was concluded that the use of in-vitro antibiotic combination tests would be a guide to choose the most appropriate treatment of nosocomial infections caused by multiresistant *A. baumannii* strains in our hospital.*

Key words: *Acinetobacter baumannii*, antibiotic combinations, E test method

GİRİŞ

Günümüzde, *Acinetobacter baumannii* suşlarına bağlı oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (1-3). Ciddi hastane infeksiyonu salgınlarına neden olmaları ve tedavi sırasında birçok antibiyotiğe karşı kısa sürede direnç geliştirmeleri nedeniyle bu etkenlerle oluşan infeksiyonların sağaltımında farklı

antibiyotik kombinasyonlarının kullanımını gündeme getirmiştir (4, 5).

Kombine antibiyotik kullanımı özellikle hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonların tedavisinde, dirençli suşlara karşı sinerjistik etki sağlanmasında, ilaçların doza bağlı toksisitesinin azaltılmasında ve polimikrobiyal infeksiyonların tedavisinde prognozu etkileyen olumlu bir faktör olarak değerlendirilmektedir (6).

Bu çalışmanın amacı, hastane infeksiyonu etkeni

olarak izole edilen çoğul dirençli 20 *A. baumannii* suşunda, hastanemiz ampirik tedavi rejimlerinde sıklıkla yer alan sefepim-netilmisin (FEP-NET), sefepim-ampisilin/sulbaktam (FEP-SAM), sefepim-siprofloksasin (FEP-CIP), imipenem-netilmisin (IMP-NET), imipenem-siprofloksasin (IMP-CIP), ampisilin/sulbaktam-netilmisin (SAM-NET), ampisilin/sulbaktam-siprofloksasin (SAM-CIP) kombinasyonlarının in-vitro etkilerini E test yöntemi ile araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarı stoklarından seçilen çoğul dirençli 20 nozokomiyal *A. baumannii* suşu kullanılmıştır. Suşların, antibiyotiklere direnç özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İncelenen 20 *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları

Antibiyotik	Netilmisin	Sefepim	İmipenem	Sulbaktam/Ampisilin	Siprofloksasin
MİK aralığı (µ g/ml)	0.016-256	0.002-32	0.002-32	0.016-256	0.002-32
MİK50/ MİK90	54/256	32/32	16/32	16/32	32/32
Dirençli suş sayısı	13	16	18	17	20
(%)	(65)	(80)	(90)	(85)	(100)

Sinerji varlığı FEP-NET, FEP-SAM, FEP-CIP, IMP-NET, IMP-CIP, SAM-NET, SAM-CIP kombinasyonları için üretici firma önerileri doğrultusunda Mueller-Hinton agar besiyerinde (Oxoid, UK) E test yöntemi (AB Biodisk) ile araştırılmıştır. E test ile fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksini belirlemek için önce kombinasyonda yer alan A ve B antibiyotiklerinin MİK değerleri kaydedilmiştir. Kombinasyon MİK değerini saptamak için besiyerine önce B sribi konmuş ve 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra konsantrasyon çizgileri tam çıkışacak şekilde B'nin yerine A sribi yerleştirilmiştir. Besiyerleri 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, inhibisyon zon çapının E test şerit kenarını kestiği noktada B'nin varlığında A'nın MİK değeri kaydedilmiştir. Aynı işlem önce A ve sonra B antibiyotiği olacak şekilde tekrarlanmıştır. Kombinasyonun etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{FİK A} = \frac{\text{B'nin varlığında A'nın MİK'i}}{\text{Tek başına A'nın MİK'i}}$$

Tek başına A'nın MİK'i

$$\text{FİK B} = \frac{\text{A'nın varlığında B'nin MİK'i}}{\text{Tek başına B'nin MİK'i}}$$

Tek başına B'nin MİK'i

$$\Sigma \text{ FİK indeksi} = \text{FİK A} + \text{FİK B}$$

$\Sigma \text{ FİK indeksi} \leq 0.5$ sinerji, $\Sigma \text{ FİK} > 0.5 - 1$ aditif, $\Sigma \text{ FİK} > 1 - < 2$ indiferan, $\Sigma \text{ FİK} \geq 2$ ise antagonist etki olarak değerlendirilmiştir.

Araştırmada, kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

BULGULAR

Yirmi *A. baumannii* suşunda denenen yedi antibiyotik kombinasyonu için 140 FİK değeri hesaplanmış ve 68 (%48.6) indiferan (etkisiz), 52 (%37.1) aditif, 12 (%8.6) antagonistik ve sekiz (%5.7) sinerjistik etkileşim saptanmıştır. (Tablo2).

Tablo 2. Antibiyotik kombinasyonlarının oluşturduğu etki

Antibiyotik Kombinasyonu	Sinerji Sayı (%)	Aditif Sayı (%)	Etkisiz Sayı (%)	Antagonist Sayı (%)
FEP-NET	2 (10)	9 (45)	7 (35)	2 (10)
FEP-SAM	0 (0)	6 (30)	12 (60)	2 (10)
FEP-CIP	1 (5)	7 (35)	11 (55)	1 (5)
IMP-NET	5 (25)	11 (55)	4 (20)	0 (0)
IMP-CIP	0 (0)	5 (25)	10 (50)	5 (25)
SAM-NET	0 (0)	6 (30)	12 (60)	2 (10)
SAM-CIP	0 (0)	8 (40)	12 (60)	0 (0)

Çalışmada kullanılan tüm kombinasyonlar için indiferan ve aditif etkileşim en çok elde edilen sonuç olmuştur. İndiferan etkileşim (%60) en fazla FEP-SAM, SAM-NET ve SAM-CIP kombinasyonları ile, aditif etki oranı ise en çok IMP-NET

(%55) kombinasyonu ile gösterilmiştir. Sinerji IMP-NET kombinasyonu ile suşların beşinde, FEP-NET kombinasyonu ile suşların ikisinde, FEP-CİP kombinasyonu ile de bir suшта gözlenmiştir. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre, FEP-NET kombinasyonu ile sinerjik etkileşim gösterilen *A. baumannii* suşlarından biri kombinasyonda yer alan her iki antibiyotiğe duyarlı, IMP-NET kombinasyonu ile sinerji saptanan suşlardan biri ise netilmisine duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Sinerji saptanan diğer kombinasyonlarda ise suşların tümü her iki antibiyotiğe de dirençli olarak değerlendirilmiştir. En yüksek antagonistik etkileşim IMP-CIP kombinasyonu ile (%25) saptanırken, IMP-NET ve SAM-CIP kombinasyonları ile suşların hiçbirinde antagonistik etki saptanmamıştır.

TARTIŞMA

A. baumannii, ülkemizin diğer merkezlerinde olduğu gibi hastanemizde de nozokomiyal infeksiyonlardan en sık soyutlanan mikroorganizmalardan biridir (7, 8). Son yıllarda kullanılan bir çok antibiyotiği karşı direnç geliştirmesi ise ciddi tedavi sorunlarına neden olmaktadır (9, 10). Yüksek direnç oranlarına rağmen, halen geniş spektrumlu penisilinler, 3. kuşak sefalosporinler, karbapenemler veya bu grup antimikrobiallerin bir aminoglikozid veya kinolon grubu antibiyotik ile kombinasyonu *A. baumannii* infeksiyonlarında en sık kullanılan tedavi rejimleridir (11-13). Kombine sağaltımda uygulanan antibiyotikler arasında antagonistik etkileşimlerinin olmaması klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, hastanemizde kombine tedavi rejimlerinde sıklıkla yer alan antibiyotiklerin etkileşimlerinin araştırılması ve klinisyenlere sunulması hastaya en uygun tedaviyi verme açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

Gram negatif bakterilerde etkinliği en çok araştırılan kombinasyonlar geniş spektrumlu beta/laktam-aminoglikozit, beta/laktam-kinolon veya kinolon-aminoglikozit grubundan oluşan antibiyotik kombinasyonlarıdır (12, 14). *Acinetobacter* türlerinin ise özellikle karbapenemlere ve amikasin ve-

ya netilmisin gibi aminoglikozitlere karşı direnç oranlarının daha düşük olması ve *in-vitro* ortamda yüksek sinerjistik etkileşim göstermelerinden dolayı ampirik tedavi protokollerinde imipenem-amikasin veya imipenem-netilmisin en çok yer alan antibiyotiklerdir (12, 14). Bu çalışmada da test edilen karbapenem-aminoglikozit, karbapenem-kinolon, beta/laktam-aminoglikozit ve beta/laktam-kinolon kombinasyonları içinde en yüksek sinerji oranı imipenem-netilmisin (%25) kombinasyonu ile elde edilmiştir. Ayrıca bu kombinasyonla %55 aditif etki saptanması ve hiçbir suшта antagonistik etkileşiminin olmaması, hastanemizde çoğul dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarının ampirik tedavisinde imipenem-netilmisin kombinasyonun iyi bir seçim olabileceğini düşündürmüştür. Benzer olarak Chang ve ark.(15) bakteriyemi etkeni olarak izole edilen 22 *A. baumannii* kökeninin %36'sında karbapenem-aminoglikozid kombinasyonu ile sinerji bildirmişlerdir.

2004 yılında Drago ve ark (11) 55 *Acinetobacter* spp. suşunda levofloksasin/siprofloksasin ve seftazidim, sefepim, imipenem, piperasilin/tazobaktam ve amikasin arasında antibiyotik etkileşimlerini dama tahtası yöntemi ile araştırmışlar ve florokinolon-beta/laktam ve florokinolon-amikasin grubu antibiyotiklerin arasında sinerjinin en yüksek oranda olduğunu saptamışlardır. Bonapace ve ark. (12) ise 10 klinik izolatla yaptıkları bir çalışmada trovofloksasin ve tobramisin ile sefepim ve piperasilin/tazobaktam arasındaki sinerji varlığını checkerboard yöntemi ile araştırmışlar ve trovofloksasin-sefepim arasında %60 gibi yüksek oranda sinerji bulmuşlardır. Çalışmamızda ise siprofloksasin kullanılan üç kombinasyondan sadece sefepim-siprofloksasin ile bir suшта sinerji saptanmıştır. Bununla birlikte siprofloksasin içeren kombinasyonların tümünde %50'yi geçen oranlarda indiferan etkileşim ve bir suшта da antagonizma gösterilmesi, hastanemizde gelişen *A. baumannii* infeksiyonlarının ampirik tedavisinde bu sonuçların göz önünde bulundurulmasının hastalara en uygun tedaviyi verme açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

Ülkemizde, 2002 yılında Shokrylanbaran ve ark. (16) tarafından duyarlı ve dirençli *A. baumannii* izolatları ile yapılan bir çalışmada çoğul dirençli suşlarda en yüksek sinerji oranları ampisilin/sulbaktam-tobramisin ve seftazidim-amikasin kombinasyonları ile saptanırken, duyarlı kökenlerde imipenem-amikasin, imipenem-tobramisin, tikarsilin/klavulanat-amikasin, tikarsilin/klavulanat-netilmisin ve seftazidim-siprofloksasin kombinasyonlarında 2/3 oranında sinerji bulunmuştur. 2004 yılında aynı merkezde yapılan başka bir çalışmada ise 3. kuşak sefalosporinlere, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerine ve en az bir aminoglikozite dirençli dokuz *A. baumannii* izolatında ampisilin/sulbaktam-tobramisin ve seftazidim-amikasin kombinasyonları ile suşların %50'sinde sinerji varlığı gösterilmiş ve sulbaktamın bu türlelere karşı etkinliği vurgulanmıştır (17). Bu çalışmada ise ampisilin/sulbaktam ile sefepim, netilmisin ve siprofloksasin kullanarak üç kombinasyon denenmiş, ancak hiçbirinde sinerjistik etkileşim gözlenmemiştir. Bu çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların, çalışılan suş sayısının azlığına ve kullanılan yöntemlerin farklı olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızda *in-vitro* sinerjinin düşük, aditif ve etkisiz sonuçların daha yüksek oranda bulunması, hastanemizde çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarına bağlı infeksiyonların en uygun tedavisi için daha fazla suşla ve farklı antibiyotik kombinasyonları ile yapılacak ileri çalışmalara gereksinim olduğunu göstermektedir. Kombine tedavi gereken durumlarda ise imipenem-netilmisin kombinasyonunun günümüzde iyi etkinlik sağlayabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Ferrara M. Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 183-95.
2. Hsueh PR, Chen WH, Luh KT Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 463-72.
3. "Yaman A , Tasova Y, Kibar F, Inal AS, Saltoglu N, Buyukcelik O et al. Investigation of the antibiotic susceptibility patterns of pathogens causing nosocomial infections. *Saudi Med*

J 2004; 25: 1403-9

4. Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, Montero A, Dominguez MA et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 697-700.
5. Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN. In vitro activity of beta-lactam antimicrobial agents in combination with aztreonam tested against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *J Chemother* 2005; 17: 622-7.
6. Gülay Z. Antibiyotik kombinasyonlarının *in-vitro* etkinliğini ölçen testler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) çalışma grubu. İstanbul, 1997.
7. Meric M, Willke A, Caglayan C, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 297-302.
8. Esen S, Leblebicioglu H. Prevalence of nosocomial infections at intensive care units in Turkey: a multicentre 1-day point prevalence study. *Scand J Infect Dis* 2004; 36: 144-8.
9. Akan O. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates: data from Ibn Sina Hospital for the year 2002. *Mikrobiyol Bul* 2003; 37: 241-6.
10. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18: 306-13
11. Drago L, De Vecchi E, Nicola L, Tocalli L, Gismondo MR. In vitro selection of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. by levofloxacin and ciprofloxacin alone and in combination with beta-lactams and amikacin. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 353-9.
12. Bonapece CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic sinerji against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with Etest, time-kill and checkerboard methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 38: 43-50.
13. Rahal JJ. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 95-99
14. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB. Comparative in vitro antimicrobial susceptibility of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrobial Agents Chemother* 1997; 41: 881-885.
15. Chang SC, Chen YC, Luh KT, Hsieh WC. In vitro activities of antimicrobial agents, alone and in combination, against *Acinetobacter baumannii* isolates from blood. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 23: 105-110.
16. Shokrylanbaran N, Tatman-Otkun. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde antibiyotik sinerjizmi. *İnfeksiyon Der-g* 2002; 16: 463-470.
17. Tatman-Otkun, Gurcan S M, Ozer B, Shokrylanbaran N. Annual trends in antibiotic resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains and the effect of synergistic antibiotic combinations. *New Microbiol* 2004; 27:21-8.