

АНТИМИКРОБНА ОСЕТЉИВОСТ БАКТЕРИЈА РОДА АЦИНЕТОБАКТЕР ИЗОЛОВАНИХ ИЗ ИНФИЦИРАНИХ РАНА У ТЕРЦИЈАРНОЈ ЗДРАВСТВЕНОЈ УСТАНОВИ

Ивана Росић¹, Никола Росић², Слободан Симовић³

¹ Центар за онкологију, Клинички центар Крагујевац

² Служба за клиничку фармакологију, Клинички центар Крагујевац

³ Дом здравља "Милоје Хаџић-Шуле" Рача Крагујевачка

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERN OF ACINETOBACTER SPECIES ISOLATED FROM INFECTED WOUNDS AT A TERTIARY CARE HOSPITAL

Ivana Rosic¹, Nikola Rosic², Slobodan Simovic³

¹ Center for Oncology, Clinical Center Kragujevac

² Department for Clinical Pharmacology, Clinical Center Kragujevac

³ Health Center "Miloje Hadzic-Šule", Rača Kragujevačka

Примљен/Received: 5.2.2013.

Прихваћен/Accepted: 22.3.2013.

СКРАЋЕНИЦЕ

A. - Acinetobacter

ДО - друга одељења

ЕСБЛ - бета-лактамазе проширеног спектра

ЈИЛ - јединице интензивног лечења

МБЛ - метало бета-лактамазе

МИК – минимална инхибиторна концентрација

P - резистенција, отпорност

C - сензитивност, осетљивост

ABBREVIATIONS:

A. - Acinetobacter

OD - other departments

ESBL - extended-spectrum beta-lactamase

ICU - intensive care units

MBL - metallo-beta-lactamase

MIC - minimum inhibitory concentration

R - resistance

S - sensitivity

ABSTRACT

САЖЕТАК

Бактерије рода Ацинетобактер, а посебно врста *Acinetobacter baumannii*, су један од најзначајнијих узрочника инфекције код имунокомпромитованих пацијената у болничким условима.

Циљ истраживања је био да се утврди на које антибиотике бактерије рода Ацинетобактер, изоловане у брисевима инфицираних

Bacteria of the genus *Acinetobacter*, especially species *Acinetobacter baumannii*, is one of the most important causes of infection in immunocompromised patients in hospital.

The aim of this study was to determine susceptibility of *Acinetobacter* species isolated from

Контакт: Ивана Росић

Кнеза Милоша 2/2-4, 34000 Крагујевац
e-mail: drivanarosic@gmail.com

рана пацијената Клиничког центра Крагујевац показују највећу осетљивост, као и да се установи да ли постоји разлика између *in vitro* осетљивости у јединицама интензивног лечења и другим, хируршким и интернистичким, одељењима.

Ретроспективно је анализирано 220 брисева рана пацијената Клиничког центра током 2011. године, у којима је изолована само бактерија рода Ацинетобактер, и праћена је њена осетљивост на карактеристичну палету антибиотика.

Највећу ефикасност *in vitro* против изолата ацинетобактера у свим анализираним организационим јединицама Клиничког центра су показали ампицилин са сулбактамом, колистин и тигециклин. Лекови на које су само понеки изолати Ацинетобактера осетљиви су ко-тримоксазол, амикацин, имипенем и меропенем.

Ацинетобактер показује највећу осетљивост *in vitro* на ампицилин са сулбактамом, колистин и тигециклин. Осетљивост изолата Ацинетобактера на антибиотике је мање изражена у јединицама интензивног лечења у односу на друга одељења.

Кључне речи: *Acinetobacter species*, инфекција ране, резистенција, избор антибиотика

УВОД

У данашње време мулти-резистентне бактерије представљају патогене чија је велика отпорност на антибиотике опасност, али и велики изазов у свакодневном клиничком раду. Годинама су бактерије рода псеудомонас важиле за најотпорније, али се у последњој деценији највећи пораст резистенције бележи код бактерија рода Ацинетобактер¹.

Бактерије рода ацинетобактер су стриктно аеробни грам-негативни коко-бацили. Главни представник рода је врста *A. baumannii*. У болничким условима често контаминирају катетере и опрему за механичку вентилацију. Отуда су врло често повезани са уринарним инфекцијама, инфекцијама ране, пнеумонијама, али и бактеријемјама и менингитисом². Колонизација и инфекција се јако тешко разликују, а као фактори ризика за настанак инфекције овом бактеријом се наводе: дуготрајно болничко лечење, пријем у јединицу интензивне неге, спровођење хируршких процедура, изложеност антимицробним лековима, коришћење централног венског катетера, претходна хоспитализација

swabs of inflamed wounds to antibiotics. The study was conducted in several departments of the Clinical Centre "Kragujevac" through retrospective analysis of 220 *Acinetobacter* species isolates from surgical wounds in 2011.

The isolates of *Acinetobacter* species were mostly sensitive to ampicillin-sulbactam, colistin and tigecycline in all hospital departments that were surveyed. Only minority of the isolated *Acinetobacter* species were susceptible to cotrimoxazole, amikacin, imipenem and/or meropenem.

Antibiotics with the highest *in vitro* efficacy against *Acinetobacter* species were ampicillin-sulbactam, colistin and tigecycline. Highly resistant *Acinetobacter* species were more frequently isolated from patients in Intensive Care Unit.

Key words: *Acinetobacter* species, wound infection, resistance, choice of antibiotics

INTRODUCTION

Nowadays, multi-drug-resistant bacteria are pathogens with high resistance risk, but also a great challenge in everyday clinical practice. For years, the bacteria of the genus *Pseudomonas* were considered to be the most resistant, but in the last decade, the largest recorded increase in resistance was among bacteria of the genus *Acinetobacter*¹.

Bacteria of the genus *Acinetobacter* are strictly aerobic gram-negative coccobacilli. The main representative of the genus is the species *A. baumannii*. It usually contaminates catheters and equipment for mechanical ventilation in hospitals. Therefore, it is often associated with urinary tract infections, wound infections, pneumonia, bacteremia and meningitis.^[2] The colonization and infection are very difficult to distinguish, as the risk factors include prolonged hospitalization, admission to an intensive care unit, implementation of surgical procedures, exposure to antimicrobial drugs, use of central venous catheters, previous hospitalizations and local colonization in susceptible patients^{3,4}.

и локална колонизација код предиспонираних пацијената^{3,4}.

Acinetobacter има способност да преживи дуже временске периоде на површини предмета. Ова бактерија располаже бројним механизмима резистенције почев од ензима који разарају β -лактамски прстен, преко модификације ензима против аминокликозида и измене места везивања хинолона, до промене разних механизма елиминације лекова и спољашњих мембранских протеина, тако да је терапија инфекција Ацинетобактером неуобичајена и непредвидива. Набројани механизми појединачно или у садејству могу учинити Ацинетобактер мултирезистентним на антибиотике⁵. Инфекције у болничким условима оваквим мултирезистентним сојевима додатно отежавају иначе тешку клиничку слику пацијената, посебно у јединицама интензивног лечења, продужавајући хоспитализацију, и повећавајући морталитет. Морталитет пацијената лечених у болничким условима, са инфекцијама Ацинетобактером, је 8-23%, а у интензивној чак и у распону од 10-43%^{6,7}. Нерационална примена антибиотика свакако додатно доприноси појави мултирезистентних сојева бактерија²⁻⁴. Карбапенемима су дуго били коришћени као стандард за терапију инфекција изазваних мултирезистентним бактеријама. Када је у питању резистенција Ацинетобактера на меропенем, она је 2000. године била 17,4%, у периоду 2000-2005. је варирала између 11,0-20,7%, да би 2007. године износила 48,8%, а 2008. године чак 57,4%¹. Нешто боља ситуација је са имипенемом на који је резистенција Ацинетобактера 2000. године износила 8,8%, у периоду 2000-2005. је варирала између 2,7-14,5%, да би 2007. године порасла на 37,2%, а 2008. године чак на 47,9%¹. Пораст резистенције ацинетобактера и контроверзе у третману и тумачењу изолата били су мотив да се спроведе ова студија.

Циљ истраживања је био да се утврди на које антибиотике бактерије рода Ацинетобактер, изоловане у брисевима инфицираних рана у Клиничком центру у Крагујевцу, показују највећу осетљивост, као и да се установи да ли постоји разлика између *in vitro* осетљивости у јединицама интензивног лечења и другим, хируршким и интеристичким, одељењима.

Acinetobacter has the ability to survive long periods in the environment. The bacteria have a lot of mechanisms of resistance: enzymes that destroy the β -lactam ring, modification of the enzyme against aminoglycosides, changes of binding places for the quinolones, changes in various mechanisms of antibiotic removal and changes in outer membrane proteins for which antibiotics bind. Treatment of *Acinetobacter* infections is difficult and the outcomes are unpredictable. The abovementioned mechanisms of resistance can make certain species of bacteria mono- or multi-resistant to antibiotics.^[5] Hospital infections with multi-resistant strains further compromise clinical condition of a patient, especially in intensive care unit, prolonging hospitalization and sometimes causing death. Mortality among hospital patients with infection caused by *Acinetobacter* is 8-23%, but in intensive care is even higher and range from 10-43%.^{6,7} Inappropriate use of antibiotics certainly contributes to multiresistance of bacteria²⁻⁴. Carbapenems were used as a standard for the treatment of infections caused by multiresistant bacteria. Resistance of *Acinetobacter* to meropenem, in the literature, during the year 2000 was 17.4%, during the period 2000-2005 it varied from 11.0 to 20.7%, during the year 2007 it was 48.8%, while in the year 2008 it was 57.4%¹. The situation is slightly better with imipenem where *Acinetobacter* resistance in the year 2000 amounted to 8.8%, during the period 2000-2005 it varied from 2.7 to 14.5%, in the year 2007 it was up to 37.2%, while in the year 2008 it was 47.9%¹. Increase in *Acinetobacter* resistance, controversies in the treatment and interpretation of the isolates were motives to analyze the results of susceptibility testing.

The aim of this study was to determine pattern of *Acinetobacter* resistance to antibiotics among isolates from inflamed wounds in the Clinical Centre in Kragujevac.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Студија спада у врсту дескриптивних студија пресека, и заснована је на ретроспективном увиду у базу података Службе за микробиологију Клинике за инфективне болести Клиничког центра у Крагујевцу. Анализирано је укупно 220 брисева током целе 2011. године, од чега је било 194 бриса оперативне ране и 26 брисева других врста рана. Из свих брисева је изолована само бактерија рода Ацинетобактер, то јест, радило се о чистим културама ове бактерије. Из јединица интензивног лечења је узето 84 бриса, а 136 брисева потиче са свих осталих хируршких и интернистичких одељења.

Узети брисеви рана су стандардно засејани на MacConkey агару и Blood agar plate-у. Потом су лактоза негативне колоније инокулиране на стандардне биохемијске подлоге за идентификацију (Kligler iron agar, Simmons citrate agar, Urea Christensen agar, Peptone bacterial water analysis). Након тога је урађен тест оксидазе за грам негативне неферментисуће бактерије, јер су бактерије рода Ацинетобактер оксидаза негативне и на микроскопском препарату се виде као Грам негативне коке (остале бактерије које су до овог нивоа лабораторијског испитивања биле сличне бактеријама рода Ацинетобактер су бацили). Дефинитивна идентификација, до нивоа врста, се постиже Витек-2 апаратом, уз коришћење Грам негативни тест кит Витек-2 идентификационих картица⁸. У Клиничком центру у току 2011. године није рађен Double disc synergy test (тест за детекцију лучења ЕСБЛ и МБЛ), као ни Combined disc diffusion test (тест за доказивање само МБЛ).

Осетљивост бактерија рода Ацинетобактер је испитана на стандардну палету антибиотика: ампицилин са сулбактамом, цефепим, карбапенеми (имипенем и меропенем), флуорохинолони (офлоксацин, цiproфлоксацин и левофлоксацин), аминогликозиди (амикацин и неомицин), ко-тримоксазол (сулфаметоксазол-триметоприм) и тетрациклини. Тестирање изолата у погледу осетљивости на колистин и тигециклин је рађено само код мултирезистентних сојева. Није било могућности да се измере минималне инхибиторне концентрације антибиотика. Добијени подаци су анализирани дескриптивном статистиком, уз коришћење хи-квадрат теста.

MATERIAL AND METHODS

The study was designed as a descriptive cross-sectional study based on a retrospective data from the Department of Microbiology at Clinic for Infectious Diseases, Clinical Centre Kragujevac. In the study, we analyzed a total of 220 swabs with isolated *Acinetobacter* throughout the year 2011, 194 being taken from surgical wounds, and 26 from other types of wounds. In total, 84 swabs were taken from intensive care unit, and 136 swabs from all other hospital wards.

Wound swabs were taken in a standard way, and then streaked on MacConkey agar and Blood agar plates. Then, lactose negative colonies were transferred to specific biochemical plates for identification (Kligler iron agar, Simmons citrate agar, Christensen Urea Agar, Peptone bacterial water analysis). After that, oxidase-test was done in gram-negative non-fermentative bacteria, because *Acinetobacter* is oxidase negative and could be seen under microscope as Gram-negative coccus (other bacteria were bacilli similar to *Acinetobacter*). Definitive identification to the level of species was achieved by Vitek-2 machine, using the Gram-negative test kit Vitek-2 identification cards⁸. During the study period Double disc synergy test (test for detection of ESBL and MBL secretion) and Combined disc diffusion test (test for the MBL secretion) were not carried out.

Susceptibility of *Acinetobacter* was tested to commonly used antibiotics: ampicillin with sulbactam, cefepime, carbapenems (imipenem and meropenem), fluoroquinolones (ofloxacin, ciprofloxacin and levofloxacin), aminoglycosides (amikacin and neomycin), co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole) and tetracycline. It should be noted that the testing of colistin and tigecycline was done only in multiresistant strains. The obtained data were analyzed by descriptive statistics, and the chi-square test was used for comparisons.

РЕЗУЛТАТИ

У Клиничком центру "Крагујевац" је током 2011. године урађено укупно 51034 микробиолошких анализа од којих је у 1192 (2,36%) изолована само бактерија рода Ацинетобактер, то јест, радило се о чистим културама ове бактерије. Ацинетобактер је најчешће изолован у јединицама интензивне неге, и то у 849 случајева (71,22% свих анализа у којима је изолован ацинетобактер односно 1,66% свих анализа урађених у Служби за микробиологију) током 2011. године. На осталим одељењима Клиничког центра у Крагујевцу бактерија рода Ацинетобактер је изолована у 343 случаја (28,78% тј. 0,67%). Од свих изолата Ацинетобактера у чистој култури, њих 220 је потекло из инфицираних рана (18,46% свих анализа у којима је изолован ацинетобактер).

У брису оперативне ране која је инфицирана до потврде инфекције Ацинетобактером је дошло код 194 пацијента (88,18% свих брисева рана у којима је изолован Ацинетобактер). Најчешће је Ацинетобактер изолован у Централној јединици интензивне неге Клиничког центра, и то у 74 случаја (33,64%), док је у интензивној нези Ургентног центра изолован у 10 случајева (4,55%), што чини укупно 84 изолата од пацијената из јединица интензивних нега (38,19%). На свим осталим одељењима је Ацинетобактер изолован у 110 случајева (50%). Остале анализирани врсте рана (26 анализа тј. 11,82%) су биле: рана пупка (11 тј. 5%), стопала (9 тј. 4,5%), потколенице (4 тј. 1,8%), декубитус (1 тј. 0,45%) и була после опекотине шаке (1 тј. 0,45%) (слика 1).

Ацинетобактер је показао највећу осетљивост у свим организационим јединицама на комбинацију ампицилина са сулбактамом, и то у 83,9% случајева у јединицама интензивног лечења, и у 94,7% случајева на осталим одељењима. Значајна осетљивост је забележена на колистин (код 72,7% изолата) и на тигецикли (код 62,5% изолата) у јединицама интензивне неге, док су изолати са осталих одељења били осетљиви на ове антибиотике у 100% случајева. Од лекова на које се у појединим случајевима може рачунати су цефепим (23,0% изолата је осетљиво у јединицама интензивне неге, и само 20,3% је осетљиво на другим одељењима), ко-тримоксазол (14,9% изолата је осетљиво у јединицама интензивне неге, и 27,1% изолата на другим одељењима) и амикацин (9,2% изолата је

RESULTS

During the year 2011 in Clinical Center Krugujevac there was a total of 51034 microbiological analyses with 1192 (2.36%) isolates of bacteria belonging to the genus *Acinetobacter*. The *Acinetobacter* was the most frequently isolated bacteria in the ICU, in 849 cases (71.22% of all analyzes where the *Acinetobacter* was isolated or 1.66% of all analyzes performed in the Department of Microbiology). At other departments, surgical and internal medicine, *Acinetobacter* was isolated in 343 cases (28.78% or 0.67%, respectively). *Acinetobacter* was isolated from the wound smears in 220 cases (18.46% of all analyzes where the *Acinetobacter* was isolated).

In 194 patients with *Acinetobacter* isolated from a surgical wound the infection was confirmed (88.18% of all wound cultures where the *Acinetobacter* was isolated). These were central intensive care unit patients with 74 swabs (33.64%), and Emergency Center intensive care patients with 10 swabs (4.55%), for a total of 84 ICU swabs (38.19%). The total of 110 surgical wound *Acinetobacter* isolates were from all other hospital departments (50%). *Acinetobacter* was isolated from the other types of wounds (26 analysis or 11.82%) in the following cases: umbilicus (11 or 5%), foot ulcer (9 or 4.5%), lower leg ulcer (4 or 1.8%), decubital ulcer (1 or 0.45%) and hand burns (1 or 0.45%) (Figure 1).

On the hospital level, isolates of *Acinetobacter* were the most susceptible to combination of ampicillin with sulbactam (83.9% in intensive care units, and up to 94.7% in other departments). After ampicillin with sulbactam, the highest susceptibility of *Acinetobacter* in ICU was demonstrated to colistin (72.7% of susceptible isolates) and to tigecycline (62.5% of susceptible isolates), while in the OD susceptibility to either of the two drugs was 100%. The drugs that were somewhat active against *Acinetobacter* are cefepime (23.0% of susceptible isolates in the ICU, and paradoxically 20.3% of susceptible strains in OD), co-trimoxazole (14.9 % of susceptibility in ICU, 27.1% of susceptibility in OD) and amikacin (9.2% in the ICU, 15% in the OD) (Figure 2). Three of the *Acinetobacter* isolates

осетљиво у јединицама интензивне неге, и 15% изолата на другим одељењима) (слика 2). Код 3 изолата (1,36%) радило се о мулти-резистентном Ацинетобактеру који је био резистентан на све тестиране антибиотике.

Упоредјујући осетљивост Ацинетобактера на антибиотике (табела 1) уочено је да постоји очигледна разлика између изолата из јединица интензивне неге и изолата са других одељења, где је осетљивост већа. Статистички значајна ($p < 0,05$) разлика у осетљивости Ацинетобактера на антибиотике показана је за ампицилин-сулбактам, колистин, тигецилин, ко-тримоксазол, имипенем, меропенем, левофлоксацин и ципрофлоксацин, а не и за цефепим, тетрациклин, неомицин, амикацин и офлоксацин.

(1.36%) were multi-resistant to all antibiotics tested.

Comparing the effectiveness of antibiotics against *Acinetobacter* (Table 1) reveals that there are obvious differences in terms of greater susceptibility to antibiotics of isolates from DO compared to the isolates from ICU. The differences in susceptibility of *Acinetobacter* to ampicillin-sulbactam, colistin, tigecycline, co-trimoxazole, imipenem, meropenem, ciprofloxacin and levofloxacin were significant ($p < 0.05$), but this was not the case for ceftazidime, tetracycline, neomycin, amikacin and ofloxacin.

Слика 1. Врсте рана из којих је изолован Ацинетобактер

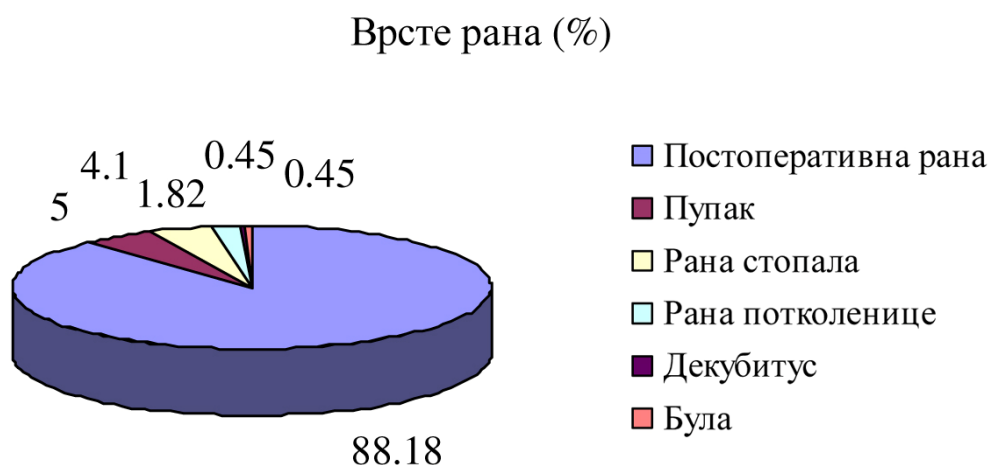
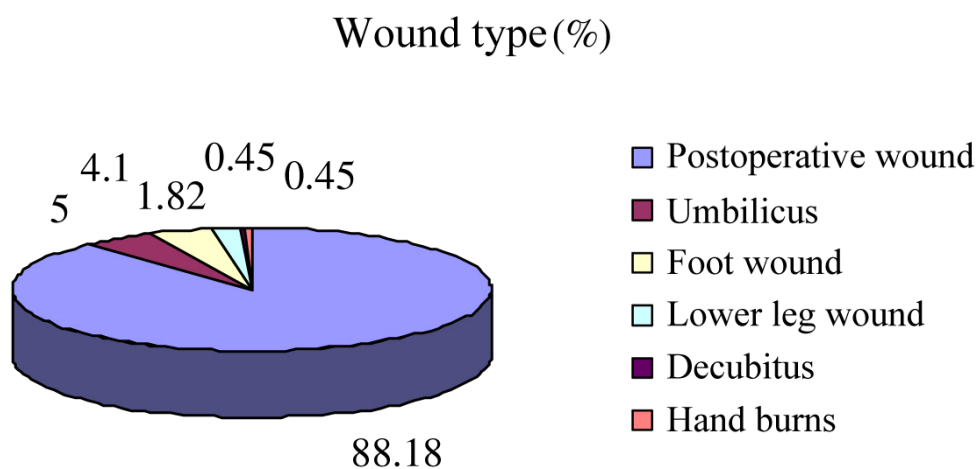


Figure 1. The types of wounds from which *Acinetobacter* was isolated



Слика 2. Осетљивост бактерија из рода Ацинетобактер изолованих из бриса рана

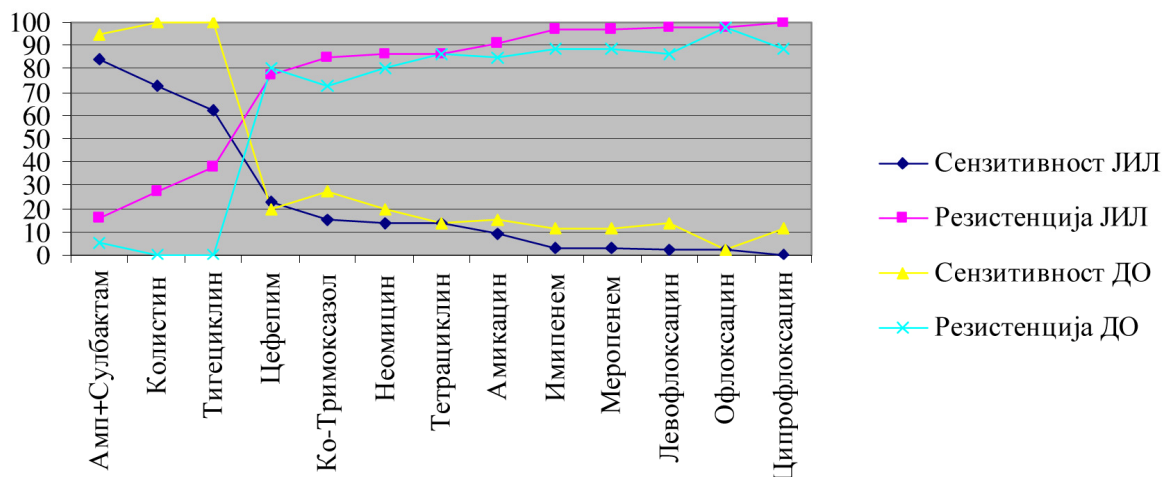
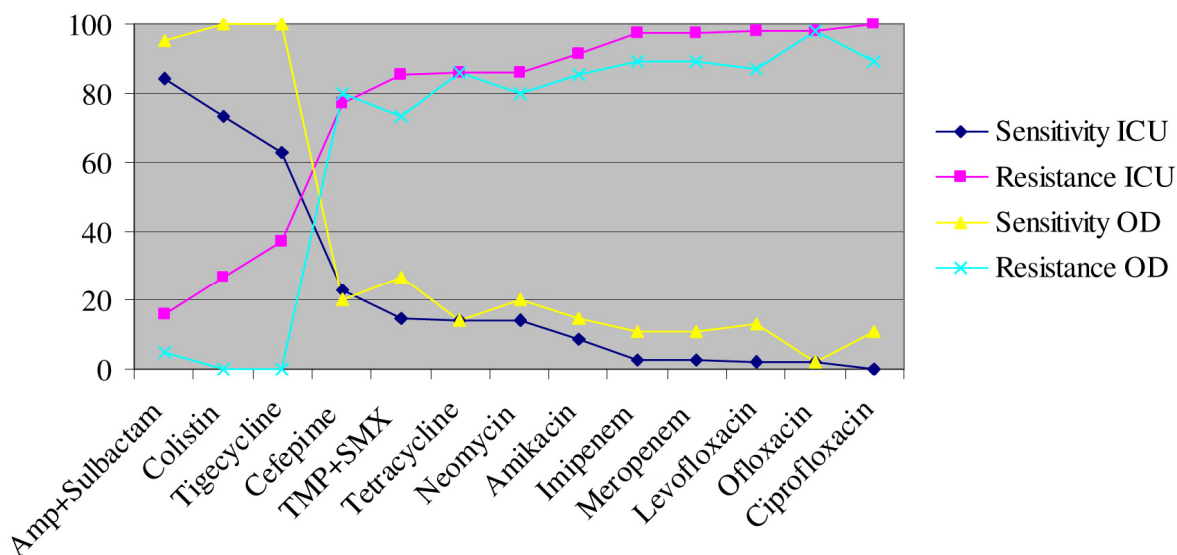


Figure 2. Susceptibility to antibiotics of Acinetobacter isolates from wounds



Табела 1. Осетљивост бактерија из рода Ацинетобактер изолованих из бриса рана

Одељење	Јединице интензивног лечења				Друга одељења				Статистика	
	С		Р		С		Р			
Осетљивост										
Антибиотик	број	%	број	%	број	%	број	%	χ^2 -тест	р
Ампицилин+Сулбактам	73	83,9	14	16,1	126	94,7	7	5,3	7,143	0,008
Колистин	8	72,7	3	27,3	24	100	0	0	7,159	0,007
Тигециклин	5	62,5	3	37,5	11	100	0	0	4,898	0,027
Цефепим	20	23,0	67	77,0	27	20,3	106	79,7	0,226	0,634
Ко-Тримоксазол	13	14,9	74	85,1	36	27,1	97	72,9	4,467	0,035
Тетрациклин	12	13,8	72	86,2	19	14,3	114	85,7	0,011	0,918
Неомицин	12	13,8	72	86,2	27	20,3	106	79,7	1,527	0,217
Амикацин	8	9,2	79	90,8	20	15,0	113	85,0	1,616	0,204
Имипенем	3	3,4	84	96,6	15	11,3	118	88,7	4,292	0,038
Меропенем	3	3,4	84	96,6	15	11,3	118	88,7	4,292	0,038
Левифлоксацин	2	2,3	85	97,7	18	13,5	115	86,5	8,033	0,005
Офлоксацин	2	2,3	85	97,7	2	1,5	131	98,5	0,186	0,666
Ципрофлоксацин	0	0	87	100	15	11,3	118	88,7	10,530	0,001

Table 1. The susceptibility of *Acinetobacter* isolated from wounds to antibiotics

Department	ICU				OD				Statistic	
	S		R		S		R			
Antibiotic	No	%	No	%	No	%	No	%	χ^2 -test	p
Amp+Sulbactam	73	83.9	14	16.1	126	94.7	7	5.3	7.143	0.008
Colistin	8	72.7	3	27.3	24	100	0	0	7.159	0.007
Tigecycline	5	62.5	3	37.5	11	100	0	0	4.898	0.027
Cefepime	20	23.0	67	77.0	27	20.3	106	79.7	0.226	0.634
Co-Trimoxazole	13	14.9	74	85.1	36	27.1	97	72.9	4.467	0.035
Tetracycline	12	13.8	72	86.2	19	14.3	114	85.7	0.011	0.918
Neomycin	12	13.8	72	86.2	27	20.3	106	79.7	1.527	0.217
Amikacin	8	9.2	79	90.8	20	15.0	113	85.0	1.616	0.204
Imipenem	3	3.4	84	96.6	15	11.3	118	88.7	4.292	0.038
Meropenem	3	3.4	84	96.6	15	11.3	118	88.7	4.292	0.038
Levofloxacin	2	2.3	85	97.7	18	13.5	115	86.5	8.033	0.005
Ofloxacin	2	2.3	85	97.7	2	1.5	131	98.5	0.186	0.666
Ciprofloxacin	0	0	87	100	15	11.3	118	88.7	10.530	0.001

ДИСКУСИЈА

Инфекције бактеријама рода Ацинетобактер су све чешће у болничким условима. У Клиничком центру у Крагујевцу се све чешће изолују бактерије овог рода из многих узорака, а посебно из секрета оперативних и других рана које су настале у болничким условима. С друге стране, из рана након повређивања насталим у ванболничким условима ниједном није изолована бактерија рода Ацинетобактер, због чега род Ацинетобактер називамо "болничким клицама". Као фактори ризика за колонизацију и инфекције са бактеријама рода Ацинетобактер велику улогу играју хоспитализација у јединицама интензивне неге, хоспитализација на одељењима за лечење опекотина и на неонатологији, дужина хоспитализације (дужа од 7 дана), пласирање централног венског катетера и назогастричне сонде, примена механичке вентилације, и стања имуносупресије⁹. Неке хируршке интервенције (операције једњака, хепатобилиопанкреатичне регије) су независни фактор ризика за појаву бактерија рода Ацинетобактер у микробиолошким изолатима⁹. Као узрочник инфекције оперативног места бактерије рода Ацинетобактер су међу најзаступљенијим, са 13% учешћа¹⁰. Чешће од Ацинетобактера инфекције оперативног места изазивају само бактерије рода Псеудомонас (19%), Стафилококус (18%, од чега је 80% резистентно на метицилин) и Клебсијела (18%)¹⁰. Примена антибиотика широког спектра, посебно хинолона и цефалоспорина

DISCUSSION

Infections caused by bacteria of the genus *Acinetobacter* were frequent in our hospital. *Acinetobacter* was isolated mostly from surgical wounds, which implies nosocomial character of such infections. Among the risk factors for colonization and infection of wounds with *Acinetobacter* the following were the most frequently reported: hospitalization in the ICU, hospitalization on the wards for the treatment of burns and neonatology, length of hospital stay (more than 7 days), installment of central venous catheter and nasogastric tube, use of mechanical ventilation and state of immunosuppression⁹. Some types of surgery (surgery of the esophagus, operations on liver, biliary tract or pancreas) are independent risk factors for occurrence *Acinetobakter* in wounds⁹. Bacteria of the genus *Acinetobacter* are among the most frequent causes of surgical site infections, with share of 13%¹⁰. More often, surgical site infections are caused by bacteria of the genus *Pseudomonas* (19%), *Staphylococcus* (18%, of which 80% resistant to methicillin) and *Klebsiella* (18%)¹⁰. Overutilization of broad-spectrum antibiotics, especially quinolones and third generation cephalosporins, leads to creation of multi-resistant bacterial strains of *Acineto-*

треће генерације, олакшава настанак мулти-резистентних сојева бактерија рода Ацинетобактер⁹. Основне мере превенције колонизације и инфекције са Ацинетобактером су правилна антибиотска профилакса и терапија⁹.

У добијеним резултатима микробиолошких анализа је уочено да је највећа сензитивност бактерија рода Ацинетобактер на комбинацију ампицилин-сулбактам, колистин и тигециклин. Неки други антибиотици су само спорадично испољавали дејство према овој бактерији. Ово се, пре свега, односи на комбинацију ко-тримоксазол, амикацин и карбапенеме. На остале антибиотике на које је тестирана осетљивост бактерија рода Ацинетобактер се не може рачунати у клиничком смислу, обзиром на ниску или непостојећу осетљивост *in vitro*. Ово се посебно односи на флуорохинолоне, на које су бактерије рода Ацинетобактер углавном резистентне.

Ампицилин-сулбактам се у нашој студији потврдио као лек који је најефикаснији у лабораторијским условима према изолатима бактерија рода Ацинетобактер. Литература такође сугерише да сулбактам има највећу активност против бактерија рода Ацинетобактер од свих инхибитора β -лактамаза⁵. Њега следи колистин који је постао "терапија спаса" за инфекције изазване високо-резистентним Грам негативним бактеријама, показавши високу ефикасност клинички и *in vitro*, што је у корелацији са подацима из литературе који сугеришу да је у лабораторијским условима осетљивост Ацинетобактера на колистин 55-80%¹¹.

Тигециклин (дериват миноциклина), нови антибиотик у лекарској пракси, је следећа алтернатива према резултатима испитивања *in vitro* осетљивости Ацинетобактера. Како су и колистин и тигециклин тестирани само код мултирезистентних изолата, ређе су тестирани на узорцима са других одељења, па је осетљивост Ацинетобактера на оба лека у овој групи пацијената 100%. Када употребљујемо активност тетрациклина и тигециклина увиђа се да због способности да избегне најзаступљенији механизам специфичне резистенције на тетрациклин тигециклин има шири спектар. С друге стране, сам миноциклин, који није расположив у парентералној форми у Србији, клинички је ефикаснији према бактеријама рода Ацинетобактер у односу на тигециклин^{12,13}. Клинички ефекат миноциклина не корелира са резултатом теста осетљивости Ацинетобактера на тетрациклин *in vitro*, обзиром да код резистенције

*bacter*⁹. Proper antibiotic prophylaxis and therapy that would prevent occurrence of infection and spread of the pathogen are some of efficient measures for prevention of colonization and infection of wounds with *Acinetobacter*⁹.

The isolates of *Acinetobacter* in our study showed the highest sensitivity to ampicillin-sulbactam, colistin and tigecycline. Some other antibiotics were only occasionally effective *in vitro*. This primarily refers to co-trimoxazole, amikacin and carbapenems. The isolates of *Acinetobacter* were unequivocally resistant to other tested antibiotics (especially to fluoroquinolones).

Susceptibility of isolated *Acinetobacter* in our study was the highest to ampicillin-sulbactam. Other studies also suggest that ampicillin-sulbactam has the highest bactericidal activity against *Acinetobacter*⁵. However, colistin, which became the "rescue therapy" for infections caused by highly resistant Gram-negative bacteria, inhibited growth of most *Acinetobacter* isolates in our study, which is consistent with data from the literature suggesting susceptibility of 55-80%¹¹.

Tigecycline (a derivative of minocycline), an antibiotic that was recently introduced in clinical practice, was also efficient *in vitro* against *Pseudomonas*. As both colistin and tigecycline were tested only on multiresistant isolates, they were tried less frequently in isolates from OD, and both drugs demonstrated 100% efficacy *in vitro* in this group of patients. Comparing activities of tetracycline and tigecycline (which avoids usual mechanisms of resistance to tetracyclines), the second has wider spectrum of action, while minocycline, which is not available in parenteral form in Serbia, is clinically more effective against *Acinetobacter*^{12,13}. Clinical effects of minocycline do not correlate with *in vitro* activity: there are cases with proven clinical effect, while at the same time *in vitro* activity was negligible¹⁴. In our study we could not investigate this rela-

на тетрациклине у лабораторијским условима постоји доказана ефикасност миноциклина¹⁴. У микробиолошкој лабораторији Клиничког центра у Крагујевцу се тестира осетљивост у лабораторијским условима на тетрациклине, али је без практичног значаја обзиром на недоступност парентералних форми.

Распрострањена употреба β -лактамских антибиотика је доводи до све веће резистенције бактерија рода Ацинетобактер, па је лечење пацијената са овим инфекцијама све већи изазов. Ефикасност у лабораторијским условима цефепима је слична у обе испитиване групе, али парадоксално нижа на другим одељењима. Иначе, цефепим тренутно није расположив на тржишту Србије и не употребљава се, па у томе треба тражити разлоге ове парадоксалности. Карбапенемима (имипенем и меропенем) се данас примењују у доста широком индикационом подручју што је резултирало све слабијом клиничком ефикасношћу ових лекова. Томе су допринели и погрешан одабир антибиотика у терапији инфекција, неадекватно дозирање, као и недовољна дужина трајања терапије. Према литератури, на карбапенеме се још може рачунати, али је пораст резистенције, примењен и у другим срединама. Док се раније, око 2000. године, полемисало о осетљивости у лабораторијским условима бактерија рода Ацинетобактер на меропенем од 83,4% и имипенем 91,2%, са годинама је дошло до њеног драстичног пада и у 2008. години је износила на меропенем 42,6% и на имипенем 52,1%, са евидентном даљом тенденцијом пораста резистенције¹. Током тестирања 2011. године у Клиничком центру у Крагујевцу, карбапенемима (истоветни резултати и за меропенем и за имипенем) су показали јако ниску ефикасност у лабораторијским условима према бактеријама рода Ацинетобактер. Имајући у виду ове резултате у терапији инфекција изазваних сојевима Ацинетобактера на карбапенеме можемо рачунати само у изолованим случајевима, тек након микробиолошке потврде осетљивости. Иначе, током 2011. године нису рађени двојни диск тестови за детекцију лучења бета-лактамаза од стране бактерија рода Ацинетобактер, нити су мерене минималне инхибиторне концентрације антибиотика. У литератури се овом проблему даје све већи значај и према неким публикацијама удео сојева Ацинетобактера који луче ЕСБЛ је 28%¹⁵, док је удео сојева који луче МБЛ 14,2%¹⁶. Забележен је пораст и овог механизма резистенције, па се ради

tion, since parenteral form of minocycline was not available in Serbia at the time of the study conduct.

Utilization of β -lactam antibiotics is accompanied with increasing resistance of *Acinetobacter* and serious therapeutic challenges. In vitro activity of cefepime was similar in the both groups, and paradoxically low in OD. However, cefepime is not currently available on the market of Serbia and therefore is not used, which could explain this paradox. Carbapenems (imipenem and meropenem) were widely used, which led to worse clinical efficacy of these drugs. Special problems with these drugs were wrong selection of antibiotic for empirical treatment of infections, inadequate dosage and insufficient duration of therapy. In the literature, the carbapenems can still be used for treatment of infections with *Acinetobacter*, but the increase in resistance is also observed. While before the year 2000 reported susceptibility of *Acinetobacter* to meropenem and imipenem was 83.4% and 91.2% respectively, there was gradual decline during the last decade, reaching 42.6% for meropenem and 52.1% for imipenem in year 2008, with an obvious tendency of further deterioration¹. In our study, carbapenems (identical results for meropenem and imipenem) showed very low in vitro activity against *Acinetobacter*. In the light of these results, we should use meropenem or imipenem for wound infections with *Acinetobacter* only in isolated cases, after in vitro confirmation of sensitivity.

During the year 2011 the double disk tests for detection of beta-lactamase secretion by *Acinetobacter* were not available at our study site, so the MICs of these antibiotics were not measured. According to some publications share of *Acinetobacter* strains producing ESBL was 28%¹⁵, while the proportion of strains that secrete MBL was 14.2%¹⁶. This test is important for easier detection of multi-drug-resistant strains of *Acinetobacter*.

лакше детекције мулти-резистентних сојева Ацинетобактера у појединим случајевима спроводе ова тестирања.

Аминогликозиди имају своје место у терапији инфекција изазваних бактеријама рода Ацинетобактер. Углавном се користе амикацин и тобрамицин (као инхалаторни антибиотик код пнеумонија, што није предмет овог рада). Резултати наше студије су у корелацији са резултатима из литературе који сугеришу ефикасност од 17,0%¹⁷. Аминогликозиди се обично не користе у монотерапији и обзиром на профил нежељених ефеката не користе се у дужем временском интервалу¹⁸.

Ко-тримоксазол је тестиран као и код свих других Грам-негативних неферментативних бактерија, али сем у случају изолата *Stenotrophomonas maltophilia* се не може сматрати леком избора, и у клиничком погледу се не користи за инфекције бактеријама рода Ацинетобактер. Постоји јако мало радова у којима се анализира употреба ко-тримоксазола, углавном старијег датума, где је ефикасност у лабораторијским условима на нивоу 73% свих изолата¹⁹; како се у новијим радовима ко-тримоксазол не наводи као терапијска опција претпостављамо да је пораст резистенције довео до оваквих ставова. Имајући то у виду, на ко-тримоксазол у инфекцијама Ацинетобактером се може ослонити само у појединачним случајевима.

Употреба флуорохинолона (левофлоксацин, офлоксацин и ципрофлоксацин) је јако ретка код инфекција бактеријама рода Ацинетобактер. Обично су неактивни, мада се помињу и случајеви развоја резистенције током примене^{20,21}. Употреба неактивних антибиотика доводи до појаве мулти-резистентних сојева микроорганизама. Када говоримо о употреби флуорохинолона свакако да се на њих не рачуна у терапији инфекција изазваних бактеријама рода Ацинетобактер, а имајући у виду резултате наше студије.

На основу резултата наше студије, као и увидом у литературу, можемо закључити да је терапија инфекција бактеријама рода Ацинетобактер веома захтевна обзиром на све већу резистенцију ових сојева која из године у годину расте. Као антибиотици, на које се може рачунати у случајевима инфекција сојева Ацинетобактер, издвајају се ампицилин са сулбактамом, колистин и тигециклин. На ко-тримоксазол, амикацин и карбапенеме (меропенем и имипенем) рачуна се само у изолованим случајевима. Ефикасност лекова

Aminoglycosides have some role in the treatment of infections caused by *Acinetobacter*. Amikacin and tobramycin (as inhaled antibiotic for pneumonia, which is not the subject of this study) are used the most frequently. Our results are in accordance with results of other studies, suggesting efficiency of 17.0%¹⁷. Aminoglycosides are never used as single agents, and considering their profile of side effects, they are not used for a long period of time¹⁸.

Except in the case of isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*, co-trimoxazole can not be considered as a drug of choice for infections with *Acinetobacter*. In the real world, there are very few studies which analyze use of co-trimoxazole for infections with *Acinetobacter*, mostly of older date, where activity in vitro was 73% of all isolates¹⁹; however, recent studies showed large increase in resistance. Therefore, co-trimoxazole could be used in clinical practice only after confirmation of in vitro activity against *Acinetobacter*.

Use of fluoroquinolones (levofloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin) for treatment of infections with *Acinetobacter* is very rare occurrence. They are usually inactive, and there are cases of development of resistance during therapy^{20,21}. Therefore, fluoroquinolones are not recommended for treatment of infections with *Acinetobacter*.

Based on these results, we could conclude that treatment of infections with *Acinetobacter* is very demanding, due to increasing resistance to majority of antibiotics. The antibiotics of the first choice against infections with *Acinetobacter* are ampicillin with sulbactam, colistin and tigecycline. Co-trimoxazole, amikacin and carbapenems (imipenem and meropenem) should be used only in isolated cases, after confirmation of in vitro activity. Resistance of *Acinetobacter* to antibiotics is greater in ICU, because a lot of factors (immuno-compromised patients, post-operative recovery, infections associated with the

у лабораторијским условима је, свакако, далеко већа код изолата са одељења обичне неге него из јединица интензивног лечења, где имунокомпромитованост, пост-оперативни опоравак, инфекције повезане са коришћењем медицинских уређаја, употреба механичке вентилације, опекотине и лошија клиничка слика пацијената праћена малнутрицијом доводе до развоја инфекција које изазивају и условно патогене бактерије, а обимнија примена антибиотика доводи до развоја мулти-резистентних сојева Ацинетобактера, али и других врста бактерија.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rhomberg PR, Jones RN. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65:414-26.
- Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clinical infectious diseases* 2008;46(8):1254-63.
- Jang TN, Lee SH, Huang CH, Lee CL, Chen WY. Risk factors and impact of nosocomial *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections in the adult intensive care unit: a case-control study. *J Hosp Infect* 2009;73(2):143-50.
- Mahgoub S, Ahmed J, Glatt AE. Underlying characteristics of patients harboring highly resistant *Acinetobacter baumannii*. *Am J Infect Control* 2002;30(7):386-90.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008;21(3):538-82.
- Falagas ME, Rafailidis PI. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. *Crit Care* 2007;11(3):134.
- Falagas M, Bliziotis I, Siempos I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care* 2006;10(2):48.
- Ecker JA, Massire C, Hall TA et al. Identification of *Acinetobacter* species and genotyping of *Acinetobacter baumannii* by multilocus PCR and mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2006;44(8):2921-32.
- Mioljević V, Simić A, Radenković D et al. *Acinetobacter* spp. colonization and infection risk factors in surgical patients. *Acta chirurgica iugoslavica* 2011;58(4):81-7.
- Mioljević V, Jovanović B, Mazić N, Palibrk I, Milićević M. Rezultati epidemiološkog nadzora nad bolničkim infekcijama na Klinici za digestivnu hirurgiju KCS u 2007. godini. *Acta chirurgica iugoslavica* 2009;56(2):47-51.
- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases* 2005;40(9):1333-41.
- Garrison MW, Mutters R, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparator agents against a global collection of gram-negative and gram-positive organisms: tigecycline evaluation and surveillance trial 2004 to 2007. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65(3):288-99.
- Poulakou G, Kontopidou FV, Paramythiotou E et al. Tigecycline in the treatment of infections from multi-drug resistant gram-negative pathogens. *J Infect* 2009;58(4):273-84.
- Bishburg E, Bishburg K. Minocycline: an old drug for a new century: emphasis on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34(5):395-401.
- Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med Res* 2007; 126(1):63-7.
- Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y. VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerging Infect Dis* 2003;9(7):868-71.
- Akers KS, Chaney C, Barsoumian A et al. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii*-calcoacetatus complex. *J Clin Microbiol* 2010;48(4):1132-8.
- Gounden R, Bamford C, Van ZR, Cohen K, Maartens G. Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Infectious Diseases* 2009;9(1):26.
- Fass RJ, Barnishan J, Solomon MC, Ayers LW. In vitro activities of quinolones, beta-lactams, tobramycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40(6):1412-8.
- Corbella X, Pujol M, Ayats J et al. Relevance of Digestive Tract Colonization in the Epidemiology of Nosocomial Infections Due to Multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1996;23(2):329-34.
- Lortholary O, Fagon JY, Hoi AB et al. Nosocomial Acquisition of Multiresistant *Acinetobacter baumannii*: Risk Factors and Prognosis. *Clinical Infectious Diseases* 1995;20(4):790-6