

Actividad *in vitro* de la tigeciclina en cepas bacterianas cultivadas en muestras clínicas de pacientes atendidos en un hospital universitario

In vitro activity of tigecycline in bacterial strains isolated in clinical specimens from patients seen at a university hospital

Jaime Alberto López Vargas¹

RESUMEN

Introducción: el constante incremento de la resistencia bacteriana a los antibióticos, hace necesario disponer de herramientas terapéuticas. La tigeciclina es un nuevo antibiótico, derivado de la minociclina, y ha demostrado excelente actividad *in vitro* en contra de un amplio espectro de microorganismos. **Objetivo:** describir la sensibilidad de las bacterias aerobias grampositivas y gramnegativas a la tigeciclina, aisladas de muestras clínicas, en un hospital de cuarto nivel de atención. **Metodología:** se realizó la identificación por medios convencionales y el estudio de sensibilidad a la tigeciclina por el método de difusión con disco, a bacterias cultivadas de muestras (con excepción de orina) provenientes de pacientes atendidos en el servicio de Urgencias y ambulatorios. **Resultados:** en total se estudiaron 2 515 bacterias. El 100% de las cepas de *Staphylococcus aureus* (651), *Staphylococcus coagulasa negativa* (382) y *Enterococcus* spp. (276) es sensible a la tigeciclina. Del mayor número de enterobacterias analizadas, *Escherichia coli* (511) presentó una sensibilidad del 99.8%, *Klebsiella pneumoniae* (332) un 93.1% y *Enterobacter cloacae* (129) del 96.9%. Las cepas que presentaron mecanismos de resistencia como *Staphylococcus* spp. oxacilino resistentes y enterobacterias productores de betalactamasas de espectro extendido presentaron altos porcentajes de sensibilidad a la tigeciclina. **Conclusiones:** la tigeciclina, como en la mayoría de los estudios realizados en otras regiones del mundo, presentó una excelente actividad *in vitro* en las bacterias cultivadas en las muestras clínicas de este Hospital y, por tanto, podría ser una opción en el tratamiento, tanto empírico como terapéutico, de las infecciones en las que esté indicado su uso.

Palabras clave: Tigeciclina, cocos grampositivos, enterobacterias.

ABSTRACT

Introduction: The steady increase in bacterial resistance to antibiotics, will require new therapeutic strategies. Tigecycline is a new antibiotic derived from minocycline, which has demonstrated excellent *in vitro* activity against a broad spectrum of microorganisms. **Objective:** To describe the sensitivity of Gram-positive and Gram-negative aerobic bacteria to tigecycline, isolated from clinical samples, in a fourth-level hospital. **Methods:** The identification was carried out by conventional methods of identification and the susceptibility study to tigecycline by the disk diffusion method, to isolated bacteria specimens (except urine) from patients treated in the emergency and outpatient department. **Results:** A total of 2515 bacteria strains were included. 100% of strains of *Staphylococcus aureus* (651), *Staphylococcus coagulase negative* (382) and *Enterococcus* spp. (276), were susceptible to tigecycline. The largest number of *Enterobacteriaceae* tested, *Escherichia coli* (511) had a sensitivity of 99.8%, *Klebsiella pneumoniae* (332) a 93.1% and *Enterobacter cloacae* (129) of 96.9%. The strains that showed resistance mechanisms such as *Staphylococcus* spp. oxacillin-resistant or *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta lactamases showed high rates of susceptibility to tigecycline. **Conclusions:** Tigecycline, as with most studies conducted in other regions of the world, presented an excellent *in vitro* activity in bacteria isolated in the clinical samples from this hospital and therefore could be an option in treating both as empirical therapy of infections in which its use is indicated.

Key words: Tigecycline, Gram-Positive Cocci, *Enterobacteriaceae*.

¹ Especialista en Microbiología y Parasitología Médicas. Coordinador Laboratorio Microbiología Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Colombia.

Correspondencia: Jaime Alberto López V. Dirección - Calle 78B No. 69-240. Teléfono – 4459286. Fax – 4417955. Correo electrónico: jlopez@hptu.org.co. Medellín, Colombia.

Fecha de recibido: 23 de junio de 2009

Fecha de aprobado: 28 de junio de 2009

INTRODUCCIÓN

El aumento progresivo de la resistencia microbiana a los antibióticos hace necesario la implementación de estrategias que tengan como propósito dar solución a uno de los principales problemas actuales de salud pública¹. El desarrollo de nuevos antibióticos es una de estas estrategias. La tigeciclina es una glicilciclina, esto es, una tetraciclina, y en este caso la minociclina a la que se le ha añadido un grupo glicilamido². El mecanismo de acción de la tigeciclina es igual al de las tetraciclinas, y consiste en evitar la entrada del ARN de transferencia con el nuevo aminoácido para añadir y, por lo tanto, la síntesis de la proteína queda bloqueada². Los mecanismos de resistencia que afectan a las tetraciclinas como la protección ribosomal y las bombas de eflujo no afectan a la tigeciclina. El espectro de acción de este nuevo antibiótico incluye bacterias multi-resistentes, como enterobacterias productoras de beta-lactamasas³, enterococos resistentes a la vancomicina, estafilococos resistentes a la oxacilina y neumococos resistentes a la penicilina⁴. Aunque existen publicaciones de aislamientos clínicos, regionales y continentales,⁵⁻¹⁰ es necesario que cada región examine su propia flora bacteriana, ya que pueden existir diferencias notables en cuanto a los patrones de susceptibilidad, incluso entre hospitales de una misma ciudad. Es por esto que se decidió publicar la experiencia *in vitro* con la tigeciclina, con cepas bacterianas cultivadas en muestras clínicas de pacientes atendidos en un hospital de cuarto nivel de atención en la ciudad de Medellín (Colombia).

METODOLOGÍA

Tipo de estudio y población

El presente estudio es de tipo descriptivo, prospectivo. Se estudiaron cepas de enterobacterias (excepto *Proteus* spp. y *Providencia* spp.), en las que se ha demostrado que la tigeciclina presenta poca actividad), *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp., cultivadas de muestras clínicas (sin incluir muestras de orina) de pacientes atendidos

en el servicio de Urgencias o atendidos de manera ambulatoria en el laboratorio clínico del Hospital Pablo Tobón Uribe (HPTU) de la ciudad de Medellín (Colombia), entre abril de 2006 y diciembre de 2008. El HPTU es un hospital de cuarto nivel de atención con 283 camas y que ofrece el servicio de todas las especialidades médicas, excepto obstetricia.

Técnicas de laboratorio

El proceso de identificación de las bacterias se realizó de acuerdo con las guías correspondientes¹¹. En el caso de las enterobacterias se utilizó el sistema de pruebas metabólicas convencionales, preparadas en el mismo laboratorio, y si no era concluyente el resultado se empleó el sistema de identificación Crystal (Beckton Dickinson). De igual manera, en el caso de *Staphylococcus* spp., se procedió a realizar la prueba de la catalasa y la coagulasa en tubo. Aquellos aislamientos que presentaron una prueba de la coagulasa positiva se reportaron como *S. aureus* y aquellos con un resultado negativo como *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN); no se intentó, con algunas excepciones, identificar la especie en SCN. El género *Enterococcus* spp. se identificó por medio de la prueba de la bilis esculina positiva y el crecimiento de la cepa en caldo con NaCl al 7%. Como en el caso de SCN, sólo en situaciones especiales se identificó la especie. Los estudios de sensibilidad a los diferentes antimicrobianos se realizaron con la técnica de difusión con disco, y de acuerdo con las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)¹². Los puntos de corte de los halos de inhibición para interpretar la sensibilidad a la tigeciclina fueron: sensible, > o igual a 19 mm; sensibilidad intermedia, 15 a 18 mm y resistente, < o igual a 14 mm¹³. El control de calidad se efectuó semanalmente, y se usaron las cepas de *E. coli* ATCC25922 y *S. aureus* ATCC25923.

Recolección y análisis de la información

Todos los resultados de los cultivos de aerobios positivos en el laboratorio de microbiología se

digitaron en la base de datos WHONET; este mismo programa se utilizó para el análisis de los datos. En el programa, se escogió la opción “un aislamiento por paciente” para evitar que una misma cepa cultivada en dos o más muestras del mismo paciente, se consideraran como cepas diferentes.

Aspectos éticos

El trabajo contó con la aprobación del comité de investigaciones y ética en investigaciones de la Institución.

RESULTADOS

Se realizó el estudio de sensibilidad a la tigeciclina a 2 515 bacterias, cultivadas en 2 145 muestras clínicas (Tabla 1). En la Tabla 2 se observa el tipo, número de bacterias y los resultados de sensibilidad a la tigeciclina de los diferentes microorganismos analizados. El 100% de los cocos grampositivos estudiados fue sensible a la tigeciclina. Con respecto al mayor número de enterobacterias analizadas, *E. coli* presentó un 99.8% de sensibilidad y sólo una cepa demostró tener sensibilidad

Tabla 1. Número de cepas bacterianas estudiadas para su sensibilidad a la tigeciclina, por tipo y origen de la muestra, en el laboratorio de microbiología del HPTU entre abril de 2006 y diciembre de 2008

Tipo de muestra	Número de muestras estudiadas
Sangre	423
Cavidad abdominal	244
Hueso	196
Sitio quirúrgico	178
Aspirado traqueal	162
Abscesos	159
Heridas	152
Otros	631
Total	2145

Tabla 2. Actividad *in vitro* de la tigeciclina en bacterias cultivadas en el laboratorio de microbiología del HPTU entre abril de 2006 y diciembre de 2008

Bacterias	No.	% de cepas por categoría		
		S*	I*	R*
<i>Staphylococcus aureus</i>	651	100.0	0.0	0.0
<i>Escherichia coli</i>	511	99.8	0.2	0.0
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	382	100.0	0.0	0.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	332	93.1	5.1	1.8
<i>Enterococcus spp.</i>	276	100.0	0.0	0.0
<i>Enterobacter cloacae</i>	129	96.9	2.3	0.8
<i>Serratia marcescens</i>	73	93.2	6.8	0.0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	48	100.0	0.0	0.0
<i>Citrobacter freundii</i>	46	97.8	2.2	0.0
<i>Morganella morganii</i>	41	100.0	0.0	0.0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	26	96.1	3.9	0.0

* S = sensible, I = intermedia, R = resistente

intermedia. En cuanto a *K. pneumoniae*, 93.1% fue sensible y 1.8% resistente; mientras que para *E. cloacae*, 96.9% fue sensible y 0.8% resistente. *S. marcescens* presentó una sensibilidad del 93.2% y el 6.8% tuvo sensibilidad intermedia, pero ninguna de estas cepas fue resistente a la tigeciclina. En el grupo de estudio, el 22% de *Staphylococcus aureus* fue resistente a la oxacilina y sólo el 0.4% de *Enterococcus* sp, lo fue a la vancomicina. Con respecto a los bacilos gramnegativos, las cepas de *E. coli* fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) en un 5%, y ninguna de ellas presentó resistencia a la tigeciclina (sólo una de 22 presentó sensibilidad intermedia). Sesenta y nueve cepas de *K. pneumoniae* (22%) fueron BLEEs positivas; de éstas, cuatro (5.8%) presentaron sensibilidad intermedia y tres (4.3%) fueron resistentes a la tigeciclina. Debemos mencionar que durante el año 2008 se presentó un brote por un clon de *K. pneumoniae* KPC-3 positiva, sólo sensible a la tigeciclina, colistina y gentamicina.

DISCUSIÓN

Gales y Jones⁶ compararon la actividad de la tigeciclina con la tetraciclina y la minociclina, en enterobacterias, encontraron entre 2 a 16 veces y entre 2 y 4 veces mayor actividad, respectivamente. Sólo especies del género *Proteus* presentaron resistencia (> ó = 8 ug/mL). Igualmente, el antibiótico fue activo en *Enterococcus* spp., incluyendo cepas resistentes a la vancomicina, y *Staphylococcus aureus* resistentes a la oxacilina. Con respecto a los bacilos gramnegativos no fermentadores, encontraron que el compuesto presentaba buena actividad en *Acinetobacter* spp. y *Stenotrophomonas maltophilia*, pero escasa actividad en el caso de *Pseudomonas aeruginosa*. Además, demostraron que era efectivo en bacterias como *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. La mayoría de los estudios realizados en diversas regiones del mundo, ha descrito altos porcentajes de sensibilidad a la tigeciclina, tanto en bacilos gramnegativos tipo enterobacterias, como en cocos grampositivos⁷⁻¹⁰. Además, las investigaciones realizadas con bacterias que presentaban algún mecanismo de

resistencia especial, como las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), *K. pneumoniae* productora de KPC, *Staphylococcus aureus* oxacilino resistentes, *Enterococcus* spp. resistentes a la vancomicina, y *Streptococcus pneumoniae* resistentes a la penicilina, han demostrado que la tigeciclina presenta una excelente actividad *in vitro*^{3, 4, 14, 15}; con excepción de un estudio realizado en Bélgica, en el que describen altos porcentajes de resistencia en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEEs y *Enterobacter* spp. multiresistente¹⁶. La compañía farmacéutica Wyeth implementó un estudio mundial denominado "Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.)" para evaluar la actividad *in vitro* de la tigeciclina. De este seguimiento se han publicado varios trabajos; en todos ellos se concluye que este nuevo antibiótico podría ser una buena alternativa terapéutica, debido a los altos porcentajes de sensibilidad observados, tanto en cocos grampositivos como en enterobacterias¹⁷⁻²². En el único estudio colombiano publicado y conocido por nosotros, y que hace parte del seguimiento T.E.S.T., se analizaron 553 cepas (155 cocos grampositivos y 398 bacilos gramnegativos), en tres hospitales universitarios de alta complejidad de la ciudad de Bogotá. En este estudio, el 100% de los cocos grampositivos fue sensible a la tigeciclina; mientras que de las 361 enterobacterias, en tres (1.1%) se encontró sensibilidad intermedia y en una cepa de *K. pneumoniae* (0.3%), resistencia a la tigeciclina²³. A diferencia de la mayoría de las investigaciones mencionadas, en las que se utilizó como método de estudio de sensibilidad la microdilución en caldo, para establecer la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los antibióticos ensayados; en nuestro estudio se empleó el método de difusión con disco, ya que hasta hace algunos meses era la metodología estándar en nuestro laboratorio, y además porque los sistemas automatizados, o al menos el sistema Vitek, incorporaron hace poco tiempo a la tigeciclina en las tarjetas destinadas al estudio de la sensibilidad bacteriana, y por el momento sólo en bacilos gramnegativos. Fernández *et al.*²⁴ en 20 laboratorios argentinos, con el método de difusión con disco, analizaron 3 182 aislamientos bacterianos, cifra comparable

a la de la presente investigación (2515); y encontraron el mismo hallazgo de 100% de sensibilidad en los cocos grampositivos. En las enterobacterias encontraron que *Serratia* spp. presentó el mayor porcentaje de aislamientos con sensibilidad intermedia (19.1% versus 6.8% en nuestro estudio), y resistentes (1.8% versus 0.0%). En *K. pneumoniae* reportaron sensibilidad intermedia en el 11.1% de sus aislamientos, mientras que en el presente estudio se encontró un 5.1%; y resistencia en el 1.3% versus el 1.8% de nuestras cepas analizadas. Como en la mayoría de las investigaciones, también se halló una muy buena actividad *in vitro* de la tigeciclina en bacterias productoras de BLEEs, y como se mencionó, incluso en un clon de *K. pneumoniae* KPC-3 positivo. Con respecto a *Acinetobacter baumannii*, el segundo bacilo gramnegativo no fermentador más frecuentemente cultivado, y contra el cual se ha descrito que tiene acción la tigeciclina^{17, 25}, a pesar de que se ensayó en el laboratorio y también se encontró una buena sensibilidad (93%) [datos no presentados], y con el uso de los mismos puntos de corte que en las enterobacterias y que son más estrictos que los propuestos por Jones *et al.*²⁶, se decidió no describir los hallazgos ya que aún existen controversias con respecto a los puntos de corte para considerar como válidos.

Una limitación de nuestro estudio es el método utilizado para realizar las pruebas de sensibilidad y más considerando que pueden presentarse alteraciones del ensayo de acuerdo con el tipo de agar Mueller Hinton empleado²⁷. Esto podría explicar el mayor número de cepas que mostraron sensibilidad intermedia tanto en el presente estudio como en el publicado por Fernández *et al.*²⁴, comparado con la investigación de Martínez *et al.*²³. Esto se pudo constatar cuando algunas de las cepas que presentaron sensibilidad intermedia, se remitieron a la Universidad Nacional de Bogotá para confirmar su sensibilidad, y la mayoría resultó ser sensible a la tigeciclina por el método de microdilución en caldo (datos no presentados). Desafortunadamente, los laboratorios clínicos no contaban con los paneles para realizar la concentración inhibitoria mínima a la tigeciclina,

pero con la incorporación de este antibiótico a las nuevas tarjetas de estudio de sensibilidad de los sistemas automatizados, este problema seguramente estará resuelto; sin embargo, no conocemos estudios que hayan validado estas tarjetas con el estándar de oro. Es preciso expresar que los resultados de los controles de calidad realizados con las cepas ATCC, que se llevaron a cabo semanalmente, siempre estuvieron dentro de los rangos esperados.

Como conclusión, la tigeciclina en nuestro hospital tiene una excelente actividad *in vitro* contra los cocos grampositivos y además en enterobacterias, aun en cepas multirresistentes; sin embargo, pueden presentarse cepas con sensibilidad intermedia y resistente. Por ello, es necesaria la realización de las pruebas de sensibilidad en cada caso en particular y como vigilancia de la evolución del comportamiento de las bacterias ante el uso del antibiótico. Finalmente, recomendamos que en aquellos laboratorios que empleen el método de difusión con disco, confirmen el resultado de la prueba cuando un aislamiento presente sensibilidad intermedia o resistente a la tigeciclina, por un método que establezca la concentración inhibitoria mínima del antibiótico frente al microorganismo.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

La presente investigación se realizó como parte del proceso del día a día del laboratorio de microbiología del HPTU y por iniciativa propia, por tanto no subyace ningún interés que pudiera haber alterado la metodología o los resultados del trabajo. Se recibió apoyo por parte de la Compañía Wyeth, que suministró los sensidiscos de tigeciclina para la realización de las pruebas de sensibilidad.

REFERENCIAS

1. Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, Bradley J, Boucher HW, Scheld WM, et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(2):155-64.

2. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(3):470-80.
3. Biedenbach DJ, Beach ML, Jones RN. In vitro antimicrobial activity of GAR-936 tested against antibiotic-resistant gram-positive blood stream infection isolates and strains producing extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001; 40(4):173-7.
4. Patel R, Rouse MS, Piper KE, Steckelberg JM. In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000; 38(3):177-9.
5. Fritsche TR, Kirby JT, Jones RN. In vitro activity of tigecycline (GAR-936) tested against 11,859 recent clinical isolates associated with community-acquired respiratory tract and gram-positive cutaneous infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 49(3):201-9.
6. Gales AC, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylicycline, GAR-936 tested against 1,203 recent clinical bacterial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000; 36(1):19-36.
7. Betriu C, Rodríguez-Avial I, Gómez M, Culebras E, López F, Alvarez J, et al.; Spanish Tigecycline Group. Tmimicrobial activity of tigecycline against clinical isolates from Spanish medical centers. Second multicenter study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006; 56(4):437-44.
8. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Activities of the glycylicycline tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent European clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(1):400-4.
9. Zhang YY, Zhou L, Zhu DM, Wu PC, Hu FP, Wu WH, et al. In vitro activities of tigecycline against clinical isolates from Shanghai, China. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 50(4):267-81.
10. Waites KB, Duffy LB, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among pathogens collected from hospitalized patients in the United States and in vitro activity of tigecycline, a new glycylicycline antimicrobial. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(10):3479-84.
11. Isenberg HD, Washington JA, Ballows A, Sonnenwirth AC. Collection, handling, and processing of specimens. In: Lennette EH, Ballows A, Hausler WJ Jr, Shadomy HJ, editors. *Manual of clinical microbiology.* Washington, DC: American Society for Microbiology; 1985. p. 73-98.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: approved Standard. 9. ed. Wayne: CLSI; 2006. M2-A9.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: informational Supplement. 16. ed. Wayne: CLSI; 2006. M100-S16.
14. Hope R, Warner M, Potz NA, Fagan EJ, James D, Livermore DM. Activity of tigecycline against ESBL-producing and AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae from south-east England. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58(6):1312-4.
15. Samra Z, Ofir O, Lishtzinsky Y, Madar-Shapiro L, Bishara J. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel. *Int J Antimicrob Agents.* 2007; 30(6):525-9.
16. Naesens R, Ursi JP, Van Schaeren J, Jeurissen A. In vitro activity of tigecycline against multidrug-resistant Enterobacteriaceae isolates from a Belgian hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009; 28(4):381-4.
17. Halstead DC, Abid J, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex and Enterobacteriaceae collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *J Infect.* 2007; 55(1):49-57.
18. Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Watal C, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 60(5):1018-29.
19. Kresken M, Leitner E, Brauers J, Geiss HK, Halle E, von Eiff C, et al.; German Tigecycline Evaluation Surveillance Trial Study Group. Susceptibility of common aerobic pathogens to tigecycline: results of a surveillance study in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009; 28(1):83-90.
20. Bouchillon SK, Iredell JR, Barkham T, Lee K, Dowzicky MJ. Comparative in vitro activity of tigecycline and other antimicrobials against Gram-negative and Gram-positive organisms collected from the Asia-Pacific Rim as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST). *Int J Antimicrob Agents.* 2009; 33(2):130-6.
21. Rossi F, García P, Ronzon B, Curcio D, Dowzicky MJ. Rates of antimicrobial resistance in Latin America (2004-2007) and in vitro activity of the glycylicycline tigecycline and of other antibiotics. *Braz J Infect Dis.* 2008; 12(5):405-15.
22. Nørskov-Lauritsen N, Marchandin H, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of tigecycline and comparators against bacterial isolates collected as part of the TEST study in Europe (2004-2007). *Int J Antimicrob Agents.* 2009 Mar 31 [Epub ahead of print].
23. Martínez E, Alquichire C, Pérez C, Prada G, Roza V, Larotta J. Comparación de la actividad *in vitro* de la tigeciclina contra microorganismos causantes de infección en pacientes hospitalizados en Colombia: estudio de evaluación y vigilancia de tigeciclina, TEST. *Infectio.* 2007; 11(4):159-70.

24. Fernández Canigia L, Kaufman S, Lanata L, Vay C, Giovanakis M, Bantar C; Argentinean Tigecycline Surveillance Group. Multicenter study to assess the in vitro activity of tigecycline by disk diffusion test against clinical isolates from Argentina. *Chemotherapy*. 2009; 55(1):20-7.
25. Henwood CJ, Gatward T, Warner M, James D, Stockdale MW, Spence RP, et al. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the UK, and *in vitro* evaluation of tigecycline (GAR-936). *J Antimicrob Chemother*. 2002; 49(3):479-87.
26. Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sander HS. Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*. 2007; 45(1):227–30.
27. Thamlikitkul V, Tiengrim S. Effect of different Mueller-Hinton agars on tigecycline disc diffusion susceptibility for *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62(4):847-8.