

Nozokomiyal Pseudomonas Aeruginosa İzolatlarında Doripenem Duyarlılık Oranlarının E-Test Yöntemiyle Araştırılması

Investigation of Doripenem Sensitivity by e-Test Method in Nosocomial Isolates of Pseudomonas Aeruginosa

Görkem Yaman¹, Hüseyin Güdücüoğlu², Aytekin Çıkman², Abdullah Bektaş², Mustafa Berktas²

¹ Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

Özet

Amaç: Karbapenemlerin en yeni üyesi olan ve ülkemizde son dönemde kullanıma giren doripenemin nozokomiyal Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa) izolatlarında in-vitro etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Bu amaçla 2008-2010 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve nozokomiyal enfeksiyon etkeni olduğu belirlenen 86 P.aeruginosa izolatu çalışmaya alındı. P.aeruginosa izolatlarının doripenem duyarlılıkları E-test yöntemi (AB bioMérieux, Fransa) ile EUCAST'ın belirlediği minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ($S \leq 1 \mu\text{g/ml}$, $R > 4 \mu\text{g/ml}$) esas alınarak saptandı, diğer antibiyotik duyarlılıkları ise BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson, A.B.D.) ile belirlendi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen P.aeruginosa suşları 64 trakea, 9 kan, 6 yara, 3 idrar, 2 kulak ile birer parasentez ve pleval mayi örneğinden izole edildi. E-test yöntemiyle 86 izolattan 34'ü (%40) doripeneme duyarlı, 52'si (%60) ise dirençli bulundu. Antibiyotik duyarlılık testi sonucunda amikasine %14, siprofloksasine %36, seftazidime %43, levofloksasine %45, meropeneme %51, piperasilin-tazobaktama %55, piperasiline %56, imipeneme %60, gentamisine %65 ve sefepim ile aztreonama %69 oranında direnç saptandı.

Sonuçlar: Nozokomiyal P.aeruginosa suşlarında yüksek oranda doripenem direncinin saptandığı çalışmamızda imipenem ve diğer antibiyotiklere karşı da yüksek oranlarda direnç tespit edilmiştir. Doripenem direncinin yüksek olmasına karşın nispeten daha düşük MİK düzeylerine sahip olması ve uzun süreli infüzyon ile daha yüksek serum konsantrasyonları elde edilmesi, P.aeruginosa ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde doripenemin iyi bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Bununla beraber çoklu ilaç direncine sahip suşların yayılmasını engellemek için enfeksiyon kontrol önlemlerine sıkı bir şekilde uyulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Nozokomiyal enfeksiyon, Pseudomonas aeruginosa, Doripenem

Başvuru Tarihi: 25.03.2011 **Kabul Tarihi:** 13.05.2011

Abstract

Aim: Aim of our study was to investigate the in-vitro effect of doripenem, novel member of carbapenems and also going value in our country, in nosocomial isolates of Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa).

Material and Methods: 86 P. aeruginosa isolates which were shown as nosocomial infection agent from various clinical samples, obtained between 2008-2010 are conducted to our study. Doripenem sensitivity of P.aeruginosa isolates are shown by E-test method (AB bioMérieux, France) which is defined by EUCASTs' minimal inhibitor concentration (MIC) values ($S \leq 1 \mu\text{g/ml}$, $R > 4 \mu\text{g/ml}$), sensitivity of other antibiotics are determined by BD Phoenix (Becton Dickinson, A.B.D.) automatized microbiology system.

Results: Of the P.aeruginosa isolates conducted to our study are 64 from tracheal aspirates, 9 from blood samples, 6 from wound samples, 3 from urine samples, 2 from ear and 1 from parasentesis and 1 from pleval fluid sample. 34 Of 86 isolates (40%) was found as sensitive to doripenem and the rest of 86 (60%) found as resistance to the doripenem by E-test method. Antibiotic resistance rates were obtained %14 to amikacin, %36 to ciprofloxacin, %43 to ceftazidime, %45 to levofloxacin, %51 to meropenem, %55 to piperacillin-tazobactam, %56 to piperacillin, %60 to imipenem, %65 to gentamicin, %69 to cefepime, and 69% to aztreonam.

Conclusion: High resistance in nosocomial P. aeruginosa to the doripenem accompanies with high resistance to the imipenem and other antibiotics. Despite of high resistance, doripenem can be a rational choice in treatment of infections related with P. aeruginosa because of having lower MIC values and higher serum concentration with long term infusions. Although strict infection control cautions should be done for minimizing the outspread of multi resistance strains.

Keywords: Nosocomial infection, Pseudomonas aeruginosa, Doripenem.

Application: 25.03.2011 **Accepted:** 13.05.2011

Giriş

Doğada yaygın olarak izole edilen, non-fermentatif Gram negatif bir basil olan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), özellikle hastanede yatan ve immun sistemi çeşitli nedenlerle zayıflamış olan hastalarda pnömoni, bakteriyemi, yanık infeksiyonları, menenjit, beyin apsesi, endokardit, septik artrit, osteomyelit, deri ve yumuşak doku infeksiyonları gibi klinik tablolara neden olmaktadır.^{1,2} *P. aeruginosa*, yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde gelişen pnömonilerin en sık nedeni olup, hastane infeksiyon etkeni Gram negatif bakteriler arasında ikinci sırada yer almaktadır.³ Önemli bir nozokomiyal etken olan *P. aeruginosa*, birçok antibiyotiğe yüksek oranda ve hızla direnç göstermesi nedeni ile yol açtığı infeksiyonların tedavisinde sorunlar yaşanmaktadır.⁴ Tedavide en sık antipsödomonal penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler kullanılmakta, aminoglikozidler veya kinolonlarla kombine edilmektedirler.⁵

Karbapenemler, *Pseudomonas* kökenlerine karşı günümüzde kullanılmakta olan antibiyotikler arasında en etkin antibiyotik sınıfıdır.⁶ Gram negatif, gram pozitif ve anaerob mikroorganizmalara etkili bir karbapenem olan doripenemin etki spektrumu imipenem ve meropenem ile benzer olması yanında iyi bir antipsödomonal antibiyotik olması nedeniyle ciddi infeksiyonların ampirik seçiminde önerilmektedir.^{7,8} Japonya'dan sonra ABD ve Avrupa'da da ruhsatlandırılan doripenem, karbapenemlerin en yeni üyesi olarak son dönemde ülkemizde de kullanıma girmiştir.⁹ Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilmiş

P. aeruginosa izolatlarında doripenemin in-vitro etkinliği ile çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

2008-2010 tarihleri arasında laboratuvarımıza gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve CDC ölçütlerine göre nozokomiyal infeksiyon etkeni olduğu belirlenen 86 *P. aeruginosa* izolatu çalışmaya alındı. Laboratuvara gelen kültür örnekleri % 5 kanlı agar ve EMB agara ekilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. EMB agarda üreyen koloni-

ler, oksidaz ve katalaz aktivitesi, koloni morfolojisi, özgül aromatik koku ve kanlı agarda hemoliz oluşturma özellikleri açısından değerlendirilmiştir.

P. aeruginosa olduğu düşünülen mikroorganizmaların doripenem duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla bakterilerden 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanıp, Müeller-Hinton agar besiyeri yüzeyine ekilerek E-test stripleri yerleştirildi. Plaklar 24 saat 37° C'de inkübe edildikten sonra, duyarlılık sınırlarının belirlenmesinde EUCAST(10) belirlediği minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri doripenem için duyarlı: ≤1 µg/mL, dirençli: >4 µg/mL esas alınarak saptandı. Orta duyarlı tespit edilen suşlar duyarlı kabul edilmiştir. Diğer antibiyotik duyarlılıkları ise BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson, ABD.) ile belirlendi.

Bulgular

Çalışmaya alınan *P. aeruginosa* suşları 64 (%74) trakea, 9 (%11) kan, 6 (%7) yara, 3 (%4) idrar, 2 (%2) kulak ile birer parasetez (%1) ve plevral mayi (%1) örneğinden izole edildi.

Çalışmaya dahil edilen *P. aeruginosa* suşlarına E-test yöntemiyle yapılan duyarlılık testi sonucunda 86 izolattan 34'ü (%40) doripeneme duyarlı, 52'si (%60) ise dirençli bulundu. Doripenem MİK aralığının 0.016 µg/ml ile 32 µg/ml olarak belirlendiği çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarında MİK50 ve MİK90 değerleri 32 µg/ml olarak bulundu.

P. aeruginosa suşlarında doripenem, diğer iki karbanemle (imipenem ve meropenem) direnç durumları açısından kıyaslandığında; suşların 78'inde doripenem ve imipenem direncinin eşit olduğu, ancak imipeneme dirençli 4 suşun doripeneme duyarlı, imipeneme duyarlı 4 suşun ise doripeneme dirençli olduğu saptandı.

Suşların 77'sinde doripenem ve meropenem direncinin eşit olduğu, ancak meropeneme dirençli 1 suşun doripeneme duyarlı, meropeneme duyarlı 8 suşun ise doripeneme dirençli olduğu görüldü.

Tablo 1. *P. aeruginosa* suşlarında doripenemin imipenem ve meropenemle direnç durumlarının karşılaştırılması *P. aeruginosa* suşlarının diğer antibiyotiklere karşı direnç

oranları *Tablo 2*'de verildi.

Tablo 1: P.aeruginosa suşlarında doripeneme direnç durumlarının imipenem ve meropenemle karşılaştırılması

		Doripenem	
		R	S
İmipenem	R	48	4
	S	4	30
Meropenem	R	44	1
	S	8	33

Tablo 2: P. aeruginosa suşlarının antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	n	R (%)
Amikasin	12	14
Siprofloksasin	31	36
Doripenem	34	40
Seftazidim	37	43
Levofloksasin	39	45
Meropenem	44	51
Piperasilin-Tazobaktam	47	55
Piperasilin	48	56
İmipenem	52	60
Gentamisin	56	65
Aztreonam	59	69
Sefepim	59	69

n: Çalışılan suş sayısı; R: Direnç oranı

Tartışma

Nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir etken olan P. aeruginosa birçok antibiyotiğe yüksek oranda ve hızla direnç geliştirmekte ve her geçen gün daha önemli bir sorun oluşturmaktadır. Gerek yurt dışı gerekse ülkemizde yapılan geniş kapsamlı sörveyans çalışmalarında P. aeruginosa izolatlarına en etkili antibiyotik olarak piperasilin-tazobaktam gösterilmektedir.^{11,12} Ancak bölgesel çalışmalarda elde edilen sonuçlarda amikasin en etkili antibiyotikler arasında gösterilmektedir.¹³ Bu çalışmalara benzer olarak bizim izolatlarımız için en etkili antibiyotiğin amikasin (% 86 duyarlı) olduğu gözlenmiştir.

Beta-laktam grubu antibiyotiklerin en geniş spektrumlusu

olan karbapenemler özellikle P. aeruginosa enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.^{14,15} Çalışmada imipenem (%60) ve meropenem (%51) için bulunan farklı direnç oranları bu grup antibiyotiklere karşı karbapenemazlar dışında farklı direnç mekanizmalarının da rol oynadığını düşündürmektedir. Karbapenemlerin yeni üyesi olan doripenem için elde edilen %40 direnç oranı da bu düşüncüyü desteklemektedir.

Doripenem, ciddi psödomonas enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek ilaç haline gelme potansiyeline sahiptir.¹⁶ Doripenemin etki spektrumunun imipenem ve meropenem ile benzer olması, iyi bir antipsödomonal etkinliği olması nedeniyle ciddi enfeksiyonların empirik seçiminde önerilmektedir.⁸ Yapılan çalışmalarda doripenemin P. aeruginosa suşlarına karşı imipeneme ve meropenem ile benzer veya daha güçlü etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, imipenem ve meropeneme dirençli suşların doripeneme duyarlı kaldıkları dolayısıyla bu dirençli P. aeruginosa suşlarının tedavisinde bir alternatif olabileceği bildirilmektedir.¹⁶⁻¹⁸ Yurt dışı kaynaklı çalışmalarda doripenem için bildirilen direnç oranları farklılık göstermektedir. Jones ve ark. karbapenem dirençli P. aeruginosa suşlarında doripenem duyarlılığını %29 olarak tespit etmişlerdir.¹⁷ Bogiel ve ark. ise karbapenem dirençli P. aeruginosa suşlarında doripenem direncini % 81 olarak bulmuşlardır.¹⁹

Ülkemizde doripenem direncinin belirlenmesi için yapılan çalışmalar kısıtlı sayıdadır. Tozlu-Keten ve ark. nozokomiyal enfeksiyon etkeni 90 P. aeruginosa izolatında doripenem duyarlılığını

% 64 olarak bulmuşlardır.²⁰ Buna karşın bazı araştırmacılar ise doripenemin meropenem veya imipenem dirençli çoğu gram-negatif basillere karşı klinik olarak yararlı olmadığını tespit etmişlerdir²¹. Çalışmamızda elde ettiğimiz doripenem direncinin benzer çalışmalara göre yüksek olduğu görülmektedir. Ancak hastanemizdeki imipenem direncinin de ülkemizdeki diğer çalışmalara göre yüksek olması bu sonucu desteklemektedir.

Karbapenemler konsantrasyona bağlı etki gösterirken bu grubun yeni üyesi olan doripenem, zamana bağımlı bir bakterisid etki göstermektedir. Serbest ilaç konsantras-

yonu, ne kadar uzun süre (T) boyunca MİK değerleri üzerinde kalırsa, bakterisid etkinlik de o ölçüde artmaktadır (%fT>MİK).¹⁰ Doripenemin farmakokinetiği ile ilgili olarak uzun süreli infüzyon sonrası yeterli süre (8 µg/mL üzeri) konsantrasyon sağlanabilmektedir.²⁰

Doripenem ile yapılan çalışmalarda yoğun bakımda yatan hastalarda, hastaların yatış süresini kısalttığı gösterilmiştir. Kollef ve ark. yaptığı çalışmada doripenemin, piperazin-tazabaktam ve imipeneme göre ventilatörle ilişkili pnömoni hastalarında hastanede kalma sürelerini kısalttığını göstermişlerdir.²² P. aeruginosa ile enfekte olup doripenem ile tedavi edilen hastalarda ortalama mekanik ventilasyon süreleri (7'ye karşı 13 gün, p = 0.031) ve yoğun bakımda kalış süreleri (13'e karşı 21 gün, p = 0,027) de daha kısa bulunmuştur.

P. aeruginosa birçok antibiyotiğe karşı doğal dirençli olmasına karşın antipsödomonal antibiyotiklerle tedavi altındayken de direnç geliştirebilmektedir. Direnç gelişimini inceleme amacıyla yapılan in vitro çalışmalarda doripenemin karbapeneme dirençli mutant ortaya çıkmasını önleme gücünün imipenem ve meropeneme göre daha fazla olduğu-

nu göstermiştir. Başka bir çalışmada ise değişik karbapenemlerin çeşitli konsantrasyonları kullanılarak, mutasyon ve direnç gelişimi sıklığı test edilmiştir. En yüksek mutant izolasyon sıklığı meropenemle elde edilmiş, doripenemin ise mutant gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir.²⁴ Mushtağ ve ark. yaptıkları çalışmada P. aeruginosa için doripenem MİK'lerinin meropenemden daha düşük olduğunu ortaya koymuştur.²⁵ Doripenem ayrıca, meropeneme göre daha düşük dirençli mutant seçme yatkınlığı da göstermiştir.

Nozokomiyal P. aeruginosa suşlarında yüksek oranda doripenem direncinin saptandığı çalışmamızda başta imipenem olmak üzere diğer antibiyotiklere karşı da yüksek oranlarda direnç tespit edilmiştir. Doripenem direncinin yüksek olmasına karşın nispeten daha düşük MİK düzeylerine sahip olması ve uzun süreli infüzyon ile daha yüksek serum konsantrasyonları elde edilmesinin yanında karbapeneme dirençli mutantların ortaya çıkmasını önlemesi, P. aeruginosa ile gelişen infeksiyonların tedavisinde doripenemin iyi bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Bununla beraber çoklu ilaç direncine sahip suşların yayılmasını engellemek için infeksiyon kontrol önlemlerine sıkı bir şekilde uyulmalıdır.

Kaynaklar

1. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa: our worst nightmare?. Clin Infect Dis 2002;34(5):634-640.
2. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. Başustaoğlu A (Çeviren) 9.baskı, Ankara :Nobel Yayınevi, 2009, 734-737.
3. Üstün C. Hastane kökenli karbapenem dirençli ve duyarlı Pseudomonas aeruginosa suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. ANKEM Derg 2010;24(1):1-6.
4. Fidan I, Çetin Gürel F, Yüksel S, Sultan N. Pseudomonas aeruginosa suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-betalaktamaz sıklığı. ANKEM Derg 2005;19(2):68-70.
5. Fujimura T, Anan N, Sugimori G et al: Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in Japan to doripenem and other antipseudomonal agents. Int J Antimicrob Agents 2009;34(6):523-528.
6. Şenol E. Karbapenemlerin yeni açılımları. ANKEM Derg 2009; 23:14-16.
7. Mandell L. Doripenem: A New Carbapenem in the treatment of nosocomial infection. Clin Infect Dis 2009;49:1-3.
8. Başaran S. İntraabdominal infeksiyonların antibiyotik tedavisi. ANKEM Derg 2010;24:140-143.
9. Başaran S, Korten V. Doripenem: Klinik uygulamada yeni bir karbapenem doripenem. Klimik Derg 2010;23(1):2-5.
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 1.0, December (2009). "http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.0_20091221.pdf" sitesinde. Erişim tarihi: 20 Aralık 2010.
11. Jones RN, Stilwell MG, Rhombert PR. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazo-bactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2007). Diagn Microbiol Infect Dis 2009;65(3):331-334.
12. Gür D, Hasçelik G, Aydın N et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance

- Study of 2007. J Chemother 2009;21(4):383-389.
13. Aktaş E, Terzi HA, K lah C, C mert F. Pseudomonas aeruginosa izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirmesi: eřitli antibiyotiklere azalan duyarlılık. ANKEM Derg 2010;24(4):188-192.
 14. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009;22(4):582-610.
 15. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin Microbiol Infect 2002;8(6):321-333.
 16. Dedhia HV, McKnight R. Doripenem: Position in clinical practice. Expert Rev Anti Infect Ther 2009;7(5):507-514.
 17. Jones RN, Huynh HK, Biedenbach DJ. Activities of doripenem (S-4661) against drug-resistant clinical pathogens. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:3136-3140.
 18. Walsh F. Doripenem: A new carbapenem antibiotic a review of comparative antimicrobial and bactericidal activities. Ther Clin Risk Manag 2007;3(5):789-794.
 19. Bogiel T, Gospodarek E. PCR-RAPD typing of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa strains. Med Dosw Mikrobiol 2010;62(3):211-219.
 20. Tozlu-Keten D, G zel-Tunan  , Dizbay M, Arman D. Nozokomiyal Pseudomonas aeruginosa izolatlarında doripenemin diğer karbapenemlerle in-vitro karşılaştırmalı etkinliği. ANKEM Derg 2010;24(2):71-75.
 21. Paterson DL, Depestel DD. Doripenem. Clin Infect Dis. 2009;49(2):291-298.
 22. Kollef MH, Nathwani D, Merchant S, Gast C, Quintana A, Ketter N. Medical resource utilization among patients with ventilator-associated pneumonia: pooled analysis of randomized studies of doripenem versus comparators. Crit Care 2010;14(3):84.
 23. Sakyo S, Tomita H, Tanimoto K, Fujimoto S, Ike Y. Potency of carbapenems for the prevention of carbapenem-resistant mutants of Pseudomonas aeruginosa: the high potency of a new carbapenem doripenem. J Antibiot 2006;59(4):220-228.
 24. Tanimoto K, Tomita H, Fujimoto S et al. Fluroquinolone enhances the mutation frequency of meropenem selected carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa, but use of high potency drug doripenem inhibits mutant formation. Antimicrob Agents Chemother 2008;52(10):3795-3800.
 25. Mushtaq S, Ge Y, Livermore DM. In vitro-activity against characterized isolates, mutants and transconjugates and resistance
-