

Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerde Doripenem ve Diğer Karbapenemlerin İn-Vitro Etkinliklerinin Karşılaştırılması[§]

Erkan ÖZMEN*, Halil YAZGI**, Osman AKTAŞ**, M. Hamidullah UYANIK**, Hakan AYDIN***

*Erzurum Halk Sağlığı Laboratuvarı

**Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

***Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Tıbbi Viroloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Ülkemizde son zamanlarda klinik kullanıma giren antibiyotiklerden biri olan doripenem ve yıllardır klinik kullanımda olan diğer karbapenemlerin in-vitro koşullarda gram negatif bakterilere karşı etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilerek geleneksel yöntemlerle tiplendirilmesi yapılan 70 *Escherichia coli*, 36 *Enterobacter spp*, 71 *Klebsiella pneumoniae* ve 71 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun doripenem, imipenem, meropenem ve ertapenem duyarlılıkları Bioanalyse® antibiyotik diskleri kullanılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda 143 idrar, 48 yara, 33 kan, 21 kulak ve 3 trakeal aspirat kaynaklı toplam 248 klinik örnek incelenmiştir. Örneklerin 129'u (%52.0) yatan hastalardan 119'u (%48.0) poliklinik hastalarından gönderilmiş olup, bunların 142'si (%57.3) toplum kökenli 106'sı (%42.7) ise hastane kökenli suşlar olduğu tespit edilmiştir. İncelenen *E. coli* ve *Enterobacter spp* suşlarının tümü karbapenemlere duyarlı olup, *K. pneumoniae* için doripenem ve meropenem, *P. aeruginosa* için ise doripenem en az direnç görülen karbapenem grubu antibiyotikler olmuştur.

Sonuç: Bölgemizden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının karbapenem direnci *E. coli*, *Enterobacter spp* ve *K. pneumoniae* suşlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Bakteri grubumuz bir bütün olarak incelendiğinde doripeneme karşı ortaya çıkan direnç oranları diğer karbapenemlere karşı oluşan direnç oranlarına yakın değerlerde oldukları görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Disk difüzyon, doripenem, karbapenemler

SUMMARY

The Comparison of In-Vitro Activity of Doripenem and Other Carbapenems on Gram Negative Bacteria Isolated from Clinical Samples

Objective: In this study, it was aimed to compare the activity of doripenem, one of the antibiotics recently used in clinics in our country, and other carbapenems on gram negative bacteria under in-vitro conditions.

Material and Methods: Doripenem, imipenem, meropenem and ertapenem susceptibilities of 70 *Escherichia coli*, 36 *Enterobacter spp*, 71 *Klebsiella pneumoniae* and 71 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various clinical samples and identified with conventional methods were investigated with Kirby-Bauer disk diffusion method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria by Bioanalyse® antibiotic disks.

Results: We examined totally 248 clinical samples (143 urine, 48 wound site, 33 blood, 21 ear discharge and 3 tracheal aspirates) in our study. One hundred and twenty-nine (52.0%) of the total amount of specimens were obtained from inpatients and 119 (48.0%) from outpatients and it was deduced that 142 (57.3%) of the bacterial strains were community-based and 106 strains (42.7%) hospital-acquired. All of the *E. coli* and *Enterobacter spp* were susceptible to carbapenems. On the other hand, doripenem and meropenem were detected to have the lowest resistance rates for *K. pneumoniae* and doripenem for *P. aeruginosa* among carbapenems.

Conclusion: Carbapenem resistance of *P. aeruginosa* strains was detected to be higher when compared to *E. coli*, *Enterobacter spp* and *K. pneumoniae* strains, in our region. Taking into account all the bacteria in our study, it was detected that the rates of doripenem resistance were nearly the same as the rates of resistance to other carbapenems.

Key words: Disk diffusion, doripenem, carbapenems

Alındığı tarih: 06.02.2016

Kabul tarihi: 08.03.2016

Yazışma adresi: Erkan Özmen, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Erzurum

e-posta: drerkan81@gmail.com

§ Bu çalışma Dr. Erkan Özmen tarafından tıpta uzmanlık tez çalışması kapsamında yapılmıştır.

GİRİŞ

Günümüzde beta-laktam antibiyotikler enfeksiyonların tedavisinde en sık kullanılan en önemli antibiyotik gruplarının başında gelmektedir⁽¹⁾. Zaman içerisinde bu grup antibiyotiklere karşı gelişen direnç yeni beta-laktam antibiyotiklerin geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Bu gereklilik nedeniyle 1970'lerin sonlarına doğru geniş etki spektrumuna sahip olan karbapenemler geliştirilmişlerdir⁽²⁾. Günümüzde imipenem, meropenem ve ertapenem gibi birçok karbapenem grubu antibiyotik olmakla birlikte, bu grubun ilk etken maddesi tienamisin olup, *Streptomyces cattleya*'dan üretilmiştir⁽³⁾.

Karbapenemler, sık karşılaşılan çoğul dirençli bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde uzun yıllardır başarıyla kullanılmakta olup, doripenem bu grubun en yeni üyesidir⁽⁴⁾. Food and Drug Administration (FDA) tarafından 2007 yılında onaylanarak klinik kullanıma girmiştir. Etki mekanizması diğer beta-laktam antibiyotikler gibi olup, penisin bağlayan proteinler (PBP)'e bağlanarak bakterinin hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkinlik göstermektedir⁽⁵⁾.

Doripenemin gram pozitif ve negatif bakterilere karşı etkinliği imipenem ve meropeneme benzerle beraber, karbapenem grubu antibiyotikler içinde metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* ve metisiline duyarlı koagülaz-negatif stafilkokların çeşitli suşlarına karşı en güçlü etkiye sahip olan antibakteriyel ajandır. *Enterococcus faecium* dışında kalan diğer enterokoklara karşı, meropenem ve ertapeneme göre iki kat daha etkin olup, imipenemin ise yarısı kadar etkinlik göstermektedir. *Streptococcus pneumoniae*, viridans streptokoklar, çeşitli beta-hemolitik streptokoklar, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve çeşitli anaerob bakterilere karşı güçlü etkinliği vardır. *Stenotrophomonas maltophilia* ve enterokok grubu bakteriler içinde vankomisine direnç gösteren *Enterococcus*

faecium suşlarının tümü doripeneme dirençlidir⁽⁴⁾. Genel olarak gram negatif bakterilere karşı meropenem kadar etkili olmakla birlikte, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı en etkili karbapenem doripenemdir^(2,6).

Yakın zamanda ülkemizde de klinik uygulamaya giren doripenemin antimikrobiyal etkinliği üzerine yöremizde daha önce bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin çeşitli klinik ve polikliniklerine başvuran hastalardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp* ve *P. aeruginosa* gibi gram negatif bakteri suşlarına karşı doripenemin yanı sıra diğer karbapenemlerden imipenem, meropenem ve ertapenemin in-vitro etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada 2012-2013 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan, trakeal aspirat, idrar, yara, dış/orta kulak sürüntü örneklerinden izole edilip, geleneksel yöntemlerle tiplendirilmesi yapılan gram negatif bakteri suşlarındaki doripenem, imipenem, meropenem ve ertapenem Bioanalyse® antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) döküman M100-S22'nin önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır⁽⁷⁾.

Bu mikroorganizmaların izole edildiği hastaların hastanede yatıp yatmadığı, yatıyor ise kaç gündür hastanede yatmakta olduğu sorgulandı. Klinik örneğin gönderildiği zaman, hastanede en az 72 saattir yatmakta olan hastalardan veya son 10 gün içerisinde hastanede yatma öyküsü olan poliklinik hastalarından izole edilen mikroorganizmalar hastane kökenli olarak değerlendirildi. Bunların dışında kalan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ise toplum kökenli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen 143 idrar, 21 kulak, 48 yara, 33 kan ve 3 balgam örneğinden 70 *E. coli*, 36 *Enterobacter* spp, 71 *K. pneumoniae* ve 71 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 248 suş izole edilmiştir.

Toplum kökenli enfeksiyonlardan izole edilen toplam 142 (%57.3), hastane enfeksiyonlarından izole edilen 106 (%42.7) bakteri izolatu karbapenemlere direnç yönünden araştırılmıştır.

E. coli ve *Enterobacter* spp suşlarının hastane ve toplum kökenli tüm suşlarının test ettiğimiz karbapenemlere duyarlı oldukları gözlenmiştir. *K. pneumoniae* suşları ertapeneme %12.7, imipeneme %9.9, meropenem ve doripeneme ise %8.5 dirençli saptanmıştır. *P. aeruginosa* izolatları ise imipeneme %19.7, meropeneme %18.3 ve doripeneme ise %17 oranında dirençli bulunmuşlardır.

Suşları toplum kökenli ve hastane kökenli olarak ayrı ayrı incelediğimizde toplum kökenli *K. pneumoniae* izolatlarının tümünün test ettiğimiz karbapenemlere duyarlı oldukları, hastane kökenli *K. pneumoniae* suşlarında ise %27.3 ertapenem, %21.2 imipenem, %18.2 meropenem ve %18.2 doripenem direnç oranları görülmüştür. *P. aeruginosa* suşlarında baktığımızda hastane kökenli izolatlarda duyarlılığın daha düşük olduğu ve %25.7 ile en fazla imipeneme, % 14.3 ile de en az doripeneme karşı direnç oranları saptanmıştır.

TARTIŞMA

Karbapenemler oldukça geniş bir etkinlik spektrumuna sahip olup, özellikle yaşamı tehdit edici enfeksiyonlarda ve çoklu ilaç direnci gösteren gram negatif bakterilere bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yeri vardır^(8,9). Bakteri dış membran proteinlerinde değişiklik-

lere bağlı olarak geçirgenliğin azalması, antibiyotığın hücre dışına pompalanması, AmpC tipi beta-laktamaz yapımının artması ve metallo-beta-laktamaz'ların üretimi gibi çeşitli mekanizmalarla gram negatif bakteriler karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç göstermektedirler^(8,10,11). Direnç gelişimine yol açabilecek enzimler ve direnç oranları bölgesel olarak ve sağlık kurumu için farklı olabilirken yapılan çalışmalarda ortak düşünce bu antibiyotiklere karşı gelişen direnç oranlarının giderek artmakta olduğudur⁽⁷⁾.

Yaptığımız çalışmada, toplum kökenli ve hastane kökenli enfeksiyon etkeni olan 248 bakteri izolatu üzerinde doripenemin in vitro etkinliği diğer karbapenemlerden imipenem, meropenem ve ertapenem ile karşılaştırılmalı değerlendirilmiştir.

Enterobacteriaceae grubu bakteriler ile gelişen enfeksiyonlarda karbapenem direnci çok fazla görülmemektedir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda, karbapenem dirençli veya karbapenemaz üreten suşlara bağlı gelişen enfeksiyonlar klinik açıdan giderek daha fazla önemsenmeye başlanmıştır⁽¹²⁾. Yaptığımız çalışmada, incelediğimiz 70 *E. coli* ve 36 *Enterobacter* spp suşlarının tümü çalıştığımız karbapenemlere duyarlı bulunmuştur. İncelediğimiz 71 *K. pneumoniae* suşunda ise; toplum kökenli olanlarda karbapenem direnci görülmezken, hastane kökenlilerde karbapenem direnci saptanan tüm suşlar genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif olup doripenem ve meropeneme %18.2, imipeneme %21.2, ertapeneme %27.3 direnç oranları bulunmuştur. Bu verilerde *E.coli* ve *Enterobacter* spp etkeni enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin çok etkin olduğu saptanmıştır. *K. pneumoniae* suşlarında doripenem ve meropenemin benzer etkinliğe sahip olduğu, ertapeneme karşı ise daha yüksek direnç olduğu görülmektedir. Ece ve ark.⁽⁵⁾ yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta-

lardan izole ettikleri 37 *K. pneumoniae* ve 40 *E. coli* suşunun imipenem, meropenem ve doripenem karşı etkinliklerini araştırmışlardır. İncelenen tüm suşların GSBL ürettikleri tespit edilen bu çalışmada, her üç antibiyotik içinde duyarlılık oranlarını %100 bulmuşlardır.

P. aeruginosa doğada yaygın bir şekilde bulunabilen, hastane enfeksiyonlarının %8-25'inden sorumlu ve mortalitesi oldukça yüksek olan bir bakteridir⁽¹³⁾. Birçok antibiyotige karşı doğal direnci olmasının yanında çoklu ilaç direnci kazanma yetenekleri önemli bir sorundur. Günümüzde *P. aeruginosa* suşlarının dış membran geçirgenliğinin azalması, pompa sistemlerinin fazla çalışması ve karbapenemaz üretimi gibi mekanizmalar ile kazandığı karbapenem direnci önemli bir sorun olarak karşımızda durmaktadır^(14,15).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde karbapenemler sıklıkla kullanılmaktadır. Bu grubun yeni üyesi olan doripenem ciddi *Pseudomonas* enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olma potansiyeline sahiptir. Yaptığımız çalışmada, tüm *P. aeruginosa* suşları dikkate alındığında en az direnç oranının %17 ile doripenemde, en fazla direnç % 19.7 ile imipenemde olduğu görülmüştür. Keten ve ark.⁽¹⁶⁾ çalışmaların da doripenem, meropenem ve imipenem için sırasıyla %17, %27 ve %31 direnç oranları bulmuşlardır. Pillar ve ark.⁽¹⁷⁾ *P. aeruginosa* suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile antimikrobiyal etkinliklerini araştırdığı çalışmalarında, doripenemin en etkili karbapenem olduğunu göstermiştir. Yapılan bir başka çalışmada, Castanheira ve ark.⁽¹⁸⁾ 8 µg/mL MİK₉₀ düzeyinde *P. aeruginosa* suşlarının %93.3'ünün doripeneme, %87.6'sının meropeneme ve %83.8'inin de imipeneme duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, bölgemizden izole edilen *E. coli* ve *Enterobacter* spp suşlarında karbapenemlere direnç saptanmamıştır. *K. pneumoniae* ve

P. aeruginosa suşlarında doripenem, meropenem, imipenem ve ertapenem karşı direnç oranları benzer çalışmalarda bildirilen oranlara yakın olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* suşlarına karşı genel olarak doripenemin; meropenemle benzer veya daha iyi, imipenem ve ertapenemden ise belirgin derecede daha iyi aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. *P. aeruginosa* suşları açısından doripenemin meropenem ve imipeneme göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlarımız doğrultusunda *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatları arasında karbapenem direncinin önemli bir sorun olduğu görülmektedir. Özellikle hastane kökenli suşlarda karbapenem direnç oranları toplum kökenli suşlara oranla daha yüksek çıkmaktadır. Bakteri grubumuzda doripenem direnç oranları diğer karbapenemlere gösterilen direnç oranlarına yakın veya daha düşük düzeyde bulunmuş olup, bu çalışmamız doripenemin gram negatif bakterilere bağlı gelişen enfeksiyonların tedavilerinde diğer karbapenemlere alternatif bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Akova M. Beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanımı ve beta-laktamazlara bağlı direnç gelişimi. *ANKEM Derg* 1994; 8:305-10.
2. Alhan E. Yeni karbapenemler. *J Pediatr Inf* 2011; 5(Suppl 1):S90-4.
3. Öncül O. Antibiyotikler I. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, Kasım 2002; 31:23-38.
4. Başaran S, Korten V. Doripenem: Klinik uygulamada yeni bir karbapenem. *Klinik Derg* 2010; 23:2-5.
5. Ece G, Şamhoğlu P, Köse Ş, Ersan G, Atalay S, Gönüllüm, Köse I. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitelerinden izole edilen gram-negatif suşlarda doripenem duyarlılığı. *Yoğun Bakım Derg* 2013; 11:21-6.
6. Drzewiecki A, Bulanda M, Talaga K, Sodo A, Adamski P. Comparison of in vitro activity of doripenem, imipenem and meropenem against clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* in Southern Poland. *Pol Przegl Chir* 2012; 84:449-53.
7. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Fifteenth Informational Supplement, M100-S22, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

8. **Sarı H.** Karbapenemlere dirençli Gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA/Meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye Hodge testi ile metallo-Beta-laktamaz (MBL) varlığının araştırılması. [Uzmanlık Tezi] İstanbul: Sağlık Bakanlığı Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 2005.
9. **Üstün C.** Hastane kökenli karbapenem dirençli ve duyarlı *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. *ANKEM Derg* 2010; 24:1-6.
10. **Fritsche TR, Sader HS, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN.** Emerging metallo-beta lactamase-mediated resistances: a summary report from the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis* 2005; 41(Suppl 4):S276-8. <http://dx.doi.org/10.1086/430790>
11. **Sasirekha B, Shivakumar S.** Occurrence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in a tertiary care hospital in Bangalore. *Indian J Microbiol* 2012; 52:174-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s12088-011-0214-2>
12. **Kuzucu Ç, Yetkin Y, Görgeç S, Ersoy Y.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:28-35.
13. **Dede BY.** Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının Beta-laktamaz yapımı ve çeşitli antimikrobiyalere duyarlılıkları. [Uzmanlık Tezi], İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 2006.
14. **Bayraktar B, Yıldız D, Bulut E.** Yoğun bakım ünitesinden izole edilen karbapeneme dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında metallobetalaktamaz üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004; 34:248-52.
15. **Öğünç D, Öngüt G, Sepin Özen N, ve ark.** *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında BD Phoenix sistemi ile saptanan karbapenem direncini raporlayalım mı? *Mikrobiyol Bul* 2010; 44:197-202.
16. **Tozlu Ketten D, Güzel Tunçcan Ö, Dizbay M, Arman D.** Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında doripenemin diğer karbapenemlerle in-vitro karşılaştırmalı etkinliği. *ANKEM Derg* 2010; 24:71-5.
17. **Pillar CM, Torres MK, Brown NP, Shah D, Sahm DF.** In vitro activity of doripenem, a carbapenem for the treatment of challenging infections caused by gram-negative bacteria, against recent clinical isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:4388-99. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00381-08>
18. **Castanheira M, Jones RN, Livermore DM.** Antimicrobial activities of doripenem and other carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*, other nonfermentative bacilli, and *Aeromonas* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63:426-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.01.026>