

# NOZOKOMİYAL PSEUDOMONAS AERUGINOSA İZOLATLARINDA DORİPENEMİN DİĞER KARBAPENEMLERLE İN-VİTRO KARŞILAŞTIRMALI ETKİNLİĞİ

Derya TOZLU KETEN, Özlem GÜZEL TUNÇCAN, Murat DİZBAY, Dilek ARMAN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

## ÖZET

Ülkemizde yeni kullanıma giren doripenemin in-vitro antipseudomonal etkinliği imipenem ve meropenem ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden ardışık olarak izole edilen ve nozokomiyal enfeksiyon etkeni olduğu belirlenen 90 Pseudomonas aeruginosa izolatı çalışmaya alınmıştır. İzolatların 76'sı (% 84) yoğun bakım ünitesinden elde edilmiştir. Doripenem, imipenem ve meropenemin duyarlılıkları E-test yöntemi ile belirlenmiştir. Duyarlılık sınırlarının belirlenmesinde EUCAST'ın belirlediği minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri esas alınmıştır. P.aeruginosa izolatlarının test edilen diğer antibiyotiklere duyarlılıkları ise CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Doripenemin MİK<sub>50</sub> düzeyleri imipenemden 6 kat, meropenemden ise 3 kat; MİK<sub>90</sub> düzeyleri ise her iki antibiyotikten de 4 kat daha düşük saptanmıştır. Duyarlılık oranları ise doripenem, imipenem ve meropenem için sırasıyla % 64, % 61 ve % 58 olarak bulunmuştur. Doripenemin farmakokinetiği ile ilgili olarak uzun süreli infüzyon sonrası 8 µg/mL düzeye ulaştığı göz önüne alındığında izolatların % 91'inin bu düzeyde in-vitro olarak inhibe olduğu gözlenmiştir. Her ne kadar doripenem direnci de yüksek ise de imipenem ve meropeneme göre daha düşük MİK düzeylerine sahip olması ve uzun süreli infüzyon ile daha yüksek serum konsantrasyonları elde edilmesi P.aeruginosa ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** doripenem, duyarlılık, nozokomiyal, Pseudomonas aeruginosa

## SUMMARY

### Comparative in vitro Activity of Doripenem with other Carbapenems against Nosocomial Pseudomonas aeruginosa Isolates

The in vitro antipseudomonal activity of doripenem, which is recently introduced commercially in Turkey, was compared with imipenem and meropenem. A total of 90 Pseudomonas aeruginosa strains isolated consequently from nosocomial infections between January and December 2008 were tested. 84 % of the isolates were obtained from intensive care unit patients. Antimicrobial susceptibilities for doripenem, imipenem and meropenem was determined by E-test method. In the interpretation of the MIC results, EUCAST criteria were used. The antimicrobial susceptibility testing for other antibiotics were performed by disk diffusion method according to CLSI criteria.

MIC<sub>50</sub> levels for doripenem were found to be 6-fold lower than that of imipenem, and 3-fold lower than that of meropenem, and MIC<sub>90</sub> levels of doripenem were 4-fold lower than those of both antibiotics. Susceptibility rates for doripenem, imipenem and meropenem were 64 %, 61 % and 58 %, respectively. 91 % of the isolates were inhibited at 8 µg/mL concentration of doripenem, which can be reached by 4-hr extended infusion. Although the resistance rates to doripenem, as well as other carbapenems, are high in our hospital, doripenem can be still considered as an option in the treatment of nosocomial P.aeruginosa infections because of its lower MIC levels and higher serum concentrations than those of imipenem and meropenem, and its pharmacodynamic properties.

**Keywords:** doripenem, nosocomial, Pseudomonas aeruginosa, susceptibility

**İletişim adresi:** Derya Tozlu Keten, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, ANKARA  
Tel: (0312) 202 54 29  
e-posta: dketen@gmail.com

Alındığı tarih: 11.02.2010, revizyon kabulü: 26.04.2010

## GİRİŞ

*Pseudomonas aeruginosa* hastanelerde nozokomiyal pnömoni, ventilatör ilişkili pnömoni, kan dolaşımı infeksiyonları, üriner sistem infeksiyonları, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, intraabdominal infeksiyonlar gibi mortalitesi yüksek infeksiyonlara neden olmaktadır<sup>(5)</sup>. Ciddi infeksiyonlarda tedavi genellikle ampirik olarak başlanmaktadır. Bu mikroorganizmalarla mücadelede en önemli problem sık kullanılan antimikrobiallere direnç oranlarının yüksek olması ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olmasıdır. Tedavide en sık antipsödomonal penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler kullanılmakta, aminoglikozidler veya kinolonlarla kombine edilmektedirler<sup>(5)</sup>.

Doripenem karbapenem grubunun yeni bir üyesi olup Gram negatif, Gram pozitif ve anaerob mikroorganizmalara etkili bir antibiyotiktir<sup>(5)</sup>. Diğer karbapenemlerle karşılaştırıldığında *P.aeruginosa* suşlarına etkinliği daha fazla görünmektedir ve özellikle farmakodinamik özellikleri göz önüne alındığında uzun süreli infüzyon şeklinde kullanımının dirençli *Pseudomonas* infeksiyonlarında avantaj sağlayacağı bildirilmektedir<sup>(6)</sup>. Ülkemizde klinik kullanıma yeni girmiştir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilmiş *P.aeruginosa* izolatlarında doripenemin in-vitro etkinliği imipenem ve meropenem ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyojoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarı'nda ardışık olarak izole edilen ve nozokomiyal infeksiyon etkeni olduğu belirlenen 90 *P.aeruginosa* izolatı çalışmaya alınmıştır. Birden fazla üreme olması durumunda her hastadan sadece bir izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

İnfeksiyon etkeni olarak izole edilen *P.aeruginosa* suşları değişik kliniklerde yatan hastaların kan, santral kateter, yara, apse, doku biyopsisi ve periton sıvı örneklerinden klasik

yöntemler kullanılarak elde edilmiştir. Doripenem, imipenem ve meropenemin duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için 0.5 McFarland ayarında bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra Mueller Hinton agara ekim yapılmış ve her bir antibiyotik için E-test stripleri besiyerinin yüzeyine yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saatlik inkübasyondan sonra sonuçlar okunmuştur. Duyarlılık sınırlarının belirlenmesinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'in<sup>(3)</sup> belirlediği minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri esas alınmıştır. Buna göre doripenem için duyarlı:  $\leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ , orta duyarlı:  $2-4 \mu\text{g}/\text{mL}$ , dirençli:  $>4 \mu\text{g}/\text{mL}$ ; imipenem için duyarlı:  $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$ , orta duyarlı:  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ , dirençli  $>8 \mu\text{g}/\text{mL}$ ; meropenem için duyarlı:  $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ , orta duyarlı:  $4-8 \mu\text{g}/\text{mL}$ , dirençli  $>8 \mu\text{g}/\text{mL}$  MİK değerleri kullanılmıştır.

*P.aeruginosa* izolatlarının test edilen diğer antibiyotiklere (kolistin, seftazidim, sefepim, sefoperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin ve amikasin) duyarlılıkları ise CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Sefoperazon-sulbaktamın duyarlılığını belirlemek için sefoperazon değerleri kullanılmıştır<sup>(2)</sup>. Kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

İstatistiksel analiz için McNemar testi kullanılmıştır.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Nozokomiyal infeksiyon etkeni olan 90 *P.aeruginosa* izolatının 55'i endotrakeal aspirat, 17'si kan, 16'sı apse, birer tanesi doku biyopsisi ve periton sıvısından izole edilmiştir. İzolatların 76'sı (% 84) yoğun bakım ünitesi (YBÜ) izolatı olup geri kalanı hematoloji, infeksiyon hastalıkları ve nefroloji hastalarından elde edilmiştir. İzolatların doripenem, imipenem ve meropenem için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ve direnç durumları Tablo 1'de sunulmuştur. İmipenem direnci doripenemden istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır ( $p=0.03$ ). Doripenem ve meropenem ile meropenem ve imipenem arasındaki direnç farkı ise anlamlı değildir (sırası-

**Tablo 1.** 90 *P. aeruginosa* suşunun karbapenemler için MİK değerleri ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	MİK (µg/mL)			Duyarlılık [n(%)]		
	MİK aralığı	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Doripenem	0.016 - >32	0.25	8	58 (64)	17 (19)	15 (17)
İmipenem	0.032 - >32	1.5	32	55 (61)	7 (8)	28 (31)
Meropenem	0.047 - >32	0.75	>32	52 (58)	14 (16)	24 (27)

la p=0.14, p=0.62). Ancak orta duyarlı suşlar da dirençli olanlarla birlikte hesaplandığında üç antibiyotik arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (p>0.05).

Doripeneme dirençli olan 15 izolatın hiçbir meropenem veya imipeneme duyarlı bulunmamıştır. Doripenem, meropenem ve imipeneme dirençli suşların karşılaştırmalı olarak diğer karbapenemlere direnç durumları Tablo 2’de sunulmuştur.

**Tablo 2.** Dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının karbapenemler için çapraz direnç durumları.

Dirençli suş sayısı	Doripenem			İmipenem			Meropenem		
	D	OD	R	D	OD	R	D	OD	R
Doripenem R (n:15)				0	0	15	0	2	13
İmipenem R (n:28)	5	8	15				0	6	22
Meropenem R (n:24)	4	7	13	1	1	22			

D: Duyarlı, OD: Orta duyarlı, R: Dirençli.

Test edilen diğer antibiyotikler içinde en etkili antibiyotikler kolistin ve seftazidim olup, direnç oranları Tablo 3’de gösterilmiştir. Test edilen antibiyotiklerin direnç durumları karşılaştırıldığında kolistin, seftazidim dışında diğer antibiyotiklerden daha etkin bulunmuştur (p<0.05). Seftazidim, kolistin ve amikasin dışında diğer antibiyotiklerden daha etkin olarak saptanmıştır (p<0.05). Amikasin ise siprofloksa-

**Tablo 3.** 90 *P.aeruginosa* izolatında test edilen diğer antibiyotikler için direnç.

Antibiyotik	Direnç, n (%)
Kolistin	6 (7)
Seftazidim	15 (17)
Amikasin	27 (30)
Piperasilin-tazobaktam	29 (32)
Sefepim	36 (40)
Sefoperazon-sulbaktam	38 (42)
Siprofloksasin	43 (48)

sin ve piperasilin-tazobaktamdan daha etkin bulunmuştur (p<0.02). Karşılaştırılan diğer antibiyotikler arasında direnç açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0.05).

## TARTIŞMA

Çalışmamızda nozokomiyal *P.aeruginosa* izolatlarında doripenemin MİK<sub>50</sub> düzeyleri imipenemden 6 kat, meropenemden ise 3 kat; MİK<sub>90</sub> düzeyleri ise her iki antibiyotikten de 4 kat daha düşük saptanmıştır. Ancak doripenemin MİK direnç sınırının imipenem ve meropenemden daha düşük olması nedeniyle bu farklılığın klinik yansımaları esas olarak farmakokinetik/farmakodinamik (FK/FD) parametreler kullanılarak yapılacak klinik araştırmalarla ortaya konabilecektir. Duyarlılık oranları ise doripenem, imipenem ve meropenem için sırasıyla % 64, % 61 ve % 58 olarak bulunmuştur. Doripenem direnci imipenemden istatistiksel olarak daha düşüktür, meropenemle ise arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Karbapenemler için en önemli FK/FD parametre iki doz aralığında MİK’in üzerinde kaldığı süredir (T>MİK) ve bu sürenin % 40’ın üzerinde olması önerilmektedir. Doripenemin farmakokinetiği ile ilgili olarak uzun süreli infüzyon sonrası yeterli süre 8 µg/mL üzeri konsantrasyon sağlanabilmektedir. Bu durum göz önüne alındığında izolatların % 91’inin bu düzeyde in-vitro olarak inhibe olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde meropenemin 3 saatlik uzun infüzyon şeklinde uygulanması ile 10 µg/mL konsantrasyona ulaşılabilir ve bu düzeyde izolatların % 73’ünün in-vitro olarak inhibe olduğu görülmüştür. Fritsche ve ark.<sup>(4)</sup> tarafından gerçekleştirilen global surveyans çalışmasında doripenemin *P.aeruginosa* izolatlarına imipenem ve meropenemden

biraz daha potent olduğu, doripenem, imipenem ve meropenem için MİK<sub>90</sub> değerlerinin sırasıyla 8, >8 ve 16 µg/mL olduğu bildirilmiştir. Pillar ve ark.<sup>(7)</sup>'nin yapmış olduğu çalışmada doripenemin *P.aeruginosa* izolatlarına imipenemden 8 kat, meropenemden 4 kat daha etkin olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada imipeneme dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının % 55.6'sının, imipeneme duyarlı izolatların ise % 98.5'inin doripeneme duyarlı olduğu saptanmıştır. Castanheira ve ark.<sup>(1)</sup>'nin çalışmasında 8 µg/mL MİK düzeyinde *P.aeruginosa* izolatlarının % 93.3'ünün doripenem, % 87.6'sının meropenem ve % 83.8'inin imipenem ile inhibe olduğu, imipenem ve meropenem dirençli izolatların % 71.4'ünde doripenem MİK düzeyinin <8 µg/mL olduğu saptanmıştır. Bu izolatlara doripenemin in-vitro olarak etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar yukarıdaki çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Ancak ülkemizde *P.aeruginosa* suşları arasında doripenemin in-vitro etkinliğini gösteren ilk çalışma olması nedeniyle değerlidir. Çalışılan suş sayısının az olması ve sadece hastanemize ait suşlarda çalışılmış olması kısıtlayıcı noktalardır.

Doripenemin *P.aeruginosa* için MİK düzeyleri, OprD porin kaybı ve eflüks pompa sistemine sahip mutant suşlar da dahil olmak üzere meropenem ve imipenemden daha düşük bulunmuş olup imipenem dirençli suşların % 30'unda doripenemin düşük konsantrasyonda inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır<sup>(6)</sup>. Çalışmamızda doripeneme dirençli olan izolatların 13'ü (% 87) meropeneme, hepsi imipeneme dirençli iken; imipeneme dirençli olanların beşi (% 18), meropeneme dirençli olanların ise dördü (% 17) doripeneme duyarlı olarak saptanmıştır. Duyarlılık testlerinde her bir karbapenemin ayrı ayrı test edilmesi, özellikle ciddi infeksiyonlarda MİK düzeyi ölçülmesi uygun bir yaklaşım olacaktır.

Çalışmamızda test edilen diğer antibiyotikler içinde en düşük direnç oranları kolistin ve seftazidim için saptanmıştır. Ancak kolistin sınırlı farmakokinetik özellikleri yanısıra, nefrotoksik yan etkilerinin fazla oluşu ve ülkemizde bulunmayışı bu ilacın klinik kullanımını kısıtlamaktadır. Seftazidim ise hastanemizde hâlâ bir seçenek olarak görünmektedir.

Hastanemizde *P.aeruginosa* izolatları arasında karbapenem direncinin önemli bir problem olduğu görülmektedir. Her ne kadar aralarında istatistiksel fark olmasa da doripenem MİK düzeylerinin imipenem ve meropeneme göre daha düşük olması ve uzun süreli infüzyon ile daha yüksek serum konsantrasyonlarına ulaşabilmesi *P.aeruginosa* ile gelişen infeksiyonların tedavisinde bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Ayrıca daha önce yapılmış çalışmalarda gösterildiği üzere doripenemin direnci indükleme potansiyelinin diğer karbapenemlere göre daha düşük olması zaman içinde bir avantaj olabilir<sup>(6)</sup>. Ancak bu durumun klinik yansımalarını gösteren çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. 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(4):426-33.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement, M100-S18, CLSI, Wayne, PA (2008).
3. 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](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.0_20091221.pdf).
4. Fritsche TR, Sader HS, Stillwell MG, Jones RN: Antimicrobial activity of doripenem tested against prevalent Gram-positive pathogens: results from a global surveillance study (2003-2007), *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;63(4):440-6.
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):523-8.
6. Mushtaq S, Ge Y, Livermore DM: Comparative activities of doripenem versus isolates, mutants, and transconjugants of Enterobacteriaceae and Acinetobacter spp. with characterized beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(4):1313-9.
7. Pillar CM, Torres MK, Brown NP, Shah D, Sahn

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(12):4388-99.

8. Van Wart SA, Andes DR, Ambrose PG, Bhavnani SM: Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to support doripenem dose regimen optimization for critically ill patients, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;63(4):409-14.