



Kan Dolaşım İnfeksiyonuna Neden Olan Karbapeneme Dirençli *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Çeşitli Antibiyotiklerin Biyofilm Üzerine Etkisinin Araştırılması

Şeyma Betül Kayhan¹, İlkay Bozkurt², Kemal Bilgin³

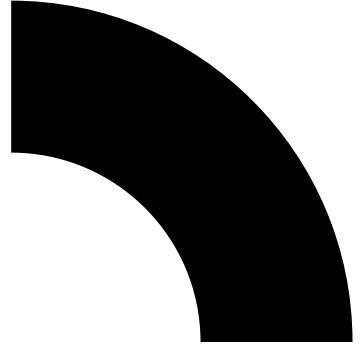
¹Bayburt Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Bayburt

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Samsun

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun

Giriş ve Amaç

- Karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* nozokomiyal enfeksiyonlarda sık karşılaşılan etkenlerden biridir
- Biyofilm oluşumu da bakterinin antibiyotik direncine katkı sağlayan önemli bir virulans faktörüdür
- Bu çalışma ile bakteremi etkeni karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* izolatlarının oluşturduğu biyofilme meropenem, polimiksin B ve tigesiklinin monoterapi ve kombinasyonla etkilerinin araştırılması amaçlandı



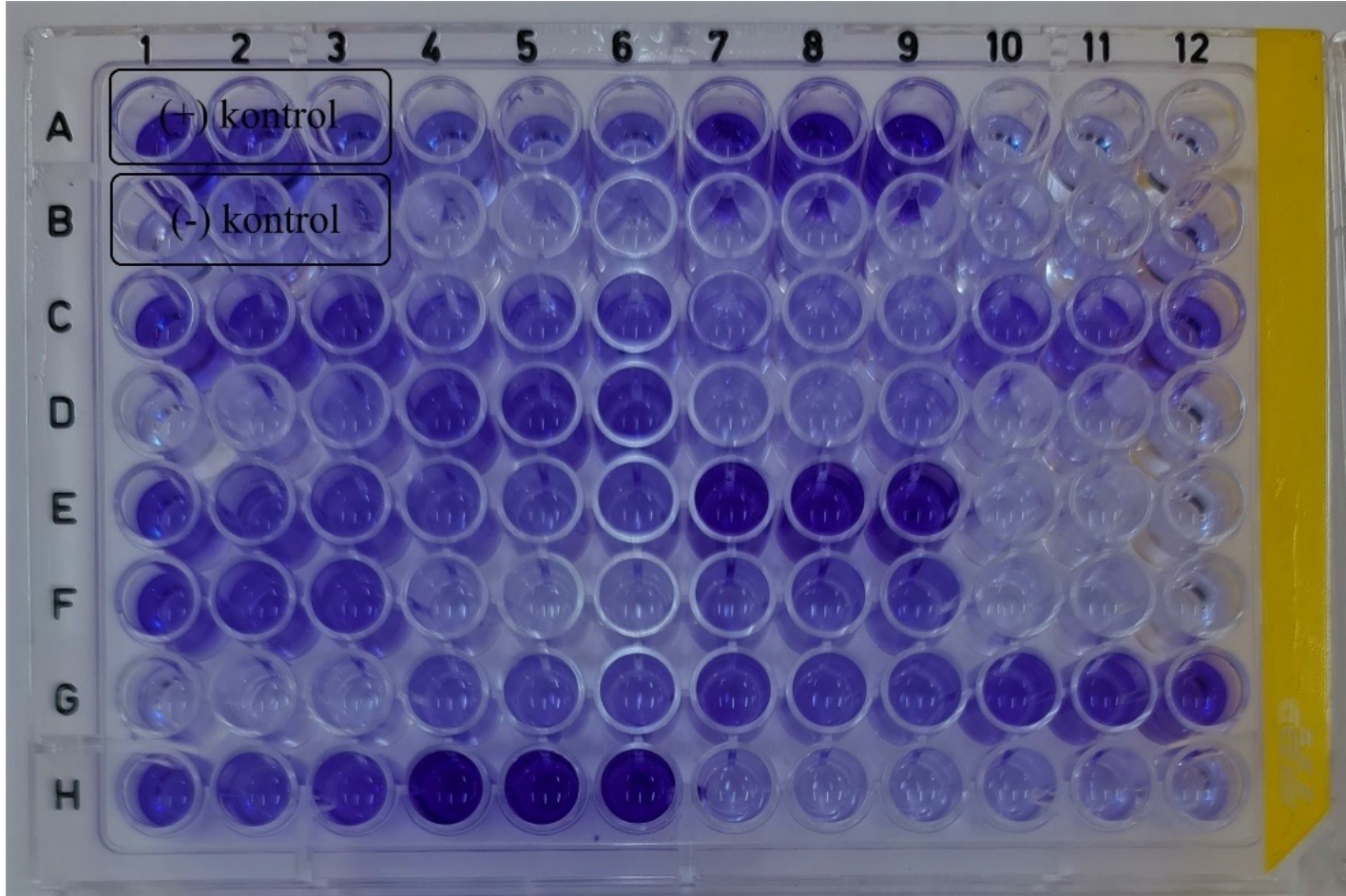
Biyofilm

- Mikroorganizmaların çevresel etkilerden korunmak ve yaşamsal faaliyetlerine devam edebilmek amacıyla oluşturdukları
- Doğal çevrede de sık rastlanan bir mikrobiyal yaşam formu
- Biyopolimerik matriksin görevi;
 - Kolonizasyonu desteklemek
 - Olumsuz çevresel faktörlerden, antibiyotik ve dezenfektan gibi kimyasallardan korumak
- Matriks;
 - Polisakkaritler
 - Proteinler
 - Bakteriden ayrılan ekstrasellüler DNA
 - Su ve besinlerin biyofilm içinde dağılmasını sağlayan kanallar

Materyal ve Metod

- Ocak 2019 ve Ocak 2022 tarihleri arasında OMUTF Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen *K.pneumoniae* izolatları incelendi
- Rutin laboratuvar işlemleri
 - Tür düzeyinde tanımlama Vitek-MS (bioMérieux, Fransa)
 - Antimikrobiyal duyarlılık Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) ile yapıldı
- Meropenem veya imipenem MİK>8 mg/L olan izolatlar seçildi

Materyal ve Metod



Biyofilm oluřum kapasitesinin ölçümü

Optik Deęeri	Dansite	Biyofilm oluřumun deęerlendirilmesi	Skor
$OD \leq OD_C$		Biyofilm oluşumu yok	0
$OD_C < OD < 2 \times OD_C$		Zayıf biyofilm oluşumu	+1
$2 \times OD_C < OD < 4 \times OD_C$		Orta derecede güçlü biyofilm oluşumu	+2
$4 \times OD_C < OD$		Güçlü biyofilm oluşumu	+3

$$OD_C = \text{ort. } OD_{\text{pozitif kontrol}} - \text{ort. } OD_{\text{negatif kontrol}}$$

Christensen GD, et al. Journal of Clinical Microbiology. 1985;22(6):996-1006.

Stepanovic S, et al. APMIS. 2007;115(8):891-9.

Stepanovic S, et al. J Microbiol Methods. 2000;40(2):175-9.

Li Z, Infect Drug Resist. 2021;14:2613-24.

Materyal ve Metod



Minimum inhibitör konsantrasyon tespiti

	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Meropenem *	≤ 2 mg/L	> 2 mg/L ve ≤ 8 mg/L	> 8 mg/L
Polimiksin B*	≤ 2 mg/L	-	> 2 mg/L
Tigesiklin [§]	≤ 2 mg/L	> 2 mg/L ve < 8 mg/L	≥ 8 mg/L

*:EUCAST v12'ye göre

§:FDA'ya göre

Materyal ve Metod

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1/16xMİK _A 1/16xMİK _B	1/16xMİK _A 1/8xMİK _B	1/16xMİK _A 1/4xMİK _B	1/16xMİK _A 1/2xMİK _B	1/16xMİK _A MİK _B	1/16xMİK _A 2xMİK _B	1/16xMİK _A 4xMİK _B	1/16xMİK _A 8xMİK _B	16x MİK _A	16x MİK _B	(+) K
B	1/8xMİK _A 1/16xMİK _B	1/8xMİK _A 1/8xMİK _B	1/8xMİK _A 1/4xMİK _B	1/8xMİK _A 1/2xMİK _B	1/8xMİK _A MİK _B	1/8xMİK _A 2xMİK _B	1/8xMİK _A 4xMİK _B	1/8xMİK _A 8xMİK _B	8x MİK _A	8x MİK _B	(+) K
C	1/4xMİK _A 1/16xMİK _B	1/4xMİK _A 1/8xMİK _B	1/4xMİK _A 1/4xMİK _B	1/4xMİK _A 1/2xMİK _B	1/4xMİK _A MİK _B	1/4xMİK _A 2xMİK _B	1/4xMİK _A 4xMİK _B	1/4xMİK _A 8xMİK _B	4x MİK _A	4x MİK _B	(+) K
D	1/2xMİK _A 1/16xMİK _B	1/2xMİK _A 1/8xMİK _B	1/2xMİK _A 1/4xMİK _B	1/2xMİK _A 1/2xMİK _B	1/2xMİK _A MİK _B	1/2xMİK _A 2xMİK _B	1/2xMİK _A 4xMİK _B	1/2xMİK _A 8xMİK _B	2x MİK _A	2x MİK _B	(+) K
E	MİK _A 1/16xMİK _B	MİK _A 1/8xMİK _B	MİK _A 1/4xMİK _B	MİK _A 1/2xMİK _B	MİK _A MİK _B	MİK _A 2xMİK _B	MİK _A 4xMİK _B	MİK _A 8xMİK _B	MİK _A	MİK _B	(-) K
F	2xMİK _A 1/16xMİK _B	2xMİK _A 1/8xMİK _B	2xMİK _A 1/4xMİK _B	2xMİK _A 1/2xMİK _B	2xMİK _A MİK _B	2xMİK _A 2xMİK _B	2xMİK _A 4xMİK _B	2xMİK _A 8xMİK _B	1/2x MİK _A	1/2x MİK _B	(-) K
G	4xMİK _A 1/16xMİK _B	4xMİK _A 1/8xMİK _B	4xMİK _A 1/4xMİK _B	4xMİK _A 1/2xMİK _B	4xMİK _A MİK _B	4xMİK _A 2xMİK _B	4xMİK _A 4xMİK _B	4xMİK _A 8xMİK _B	1/4x MİK _A	1/4x MİK _B	(-) K
H	8xMİK _A 1/16xMİK _B	8xMİK _A 1/8xMİK _B	8xMİK _A 1/4xMİK _B	8xMİK _A 1/2xMİK _B	8xMİK _A MİK _B	8xMİK _A 2xMİK _B	8xMİK _A 4xMİK _B	8xMİK _A 8xMİK _B	1/8x MİK _A	1/8x MİK _B	(-) K

(+) K: Pozitif kontrol (-) K: Negatif kontrol

Planktonik formda sinerji

$FİK_A$ = A antibiyotiğinin o kuyucuktaki konsantrasyonu/ MİK_A

$FİK_B$ = B antibiyotiğinin o kuyucuktaki konsantrasyonu/ MİK_B

$$\Sigma FİK = FİK_A + FİK_B$$

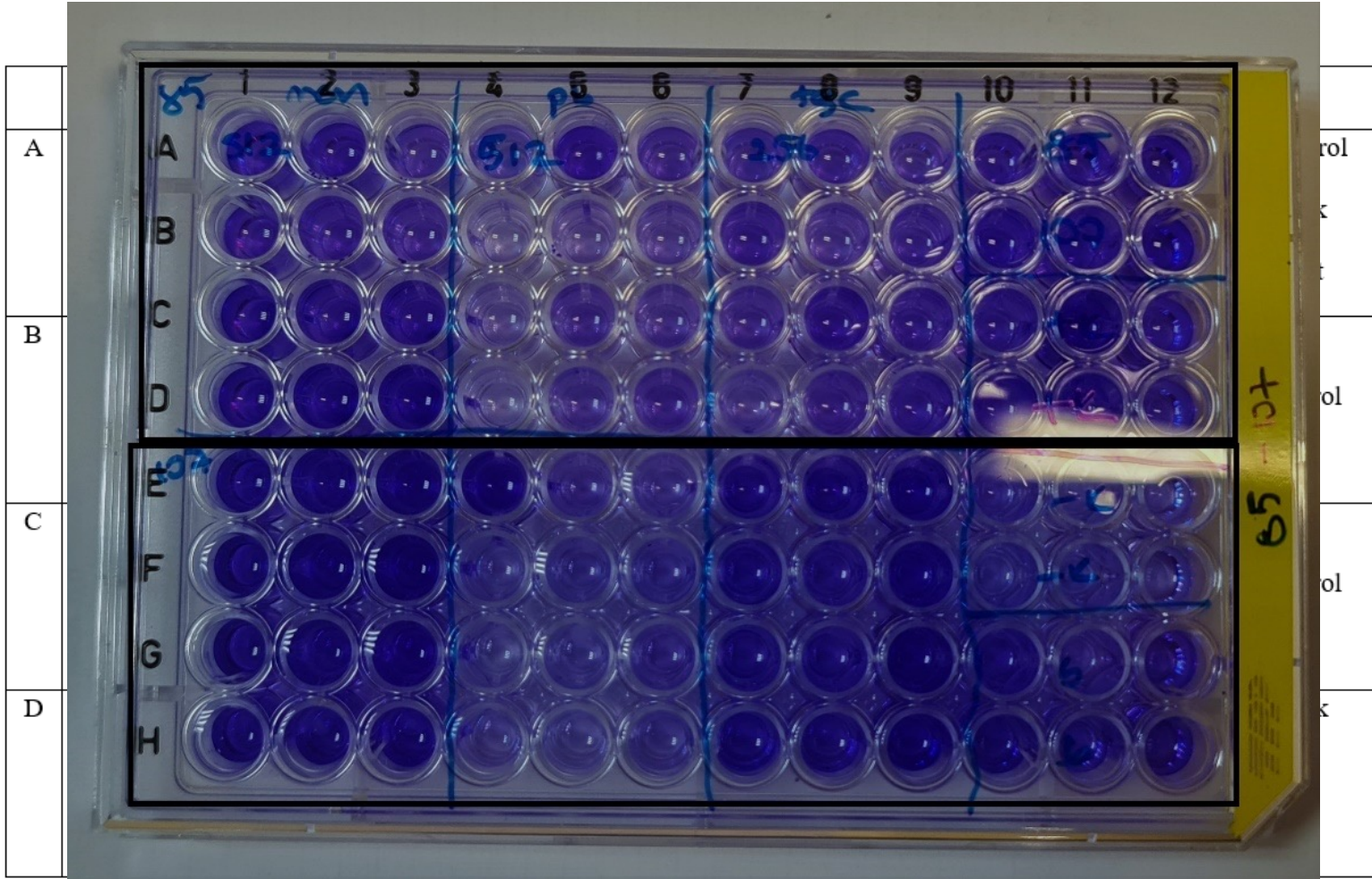
≤0,5 sinerji

0,5-1 arası additif etki

1-4 arası indiferens

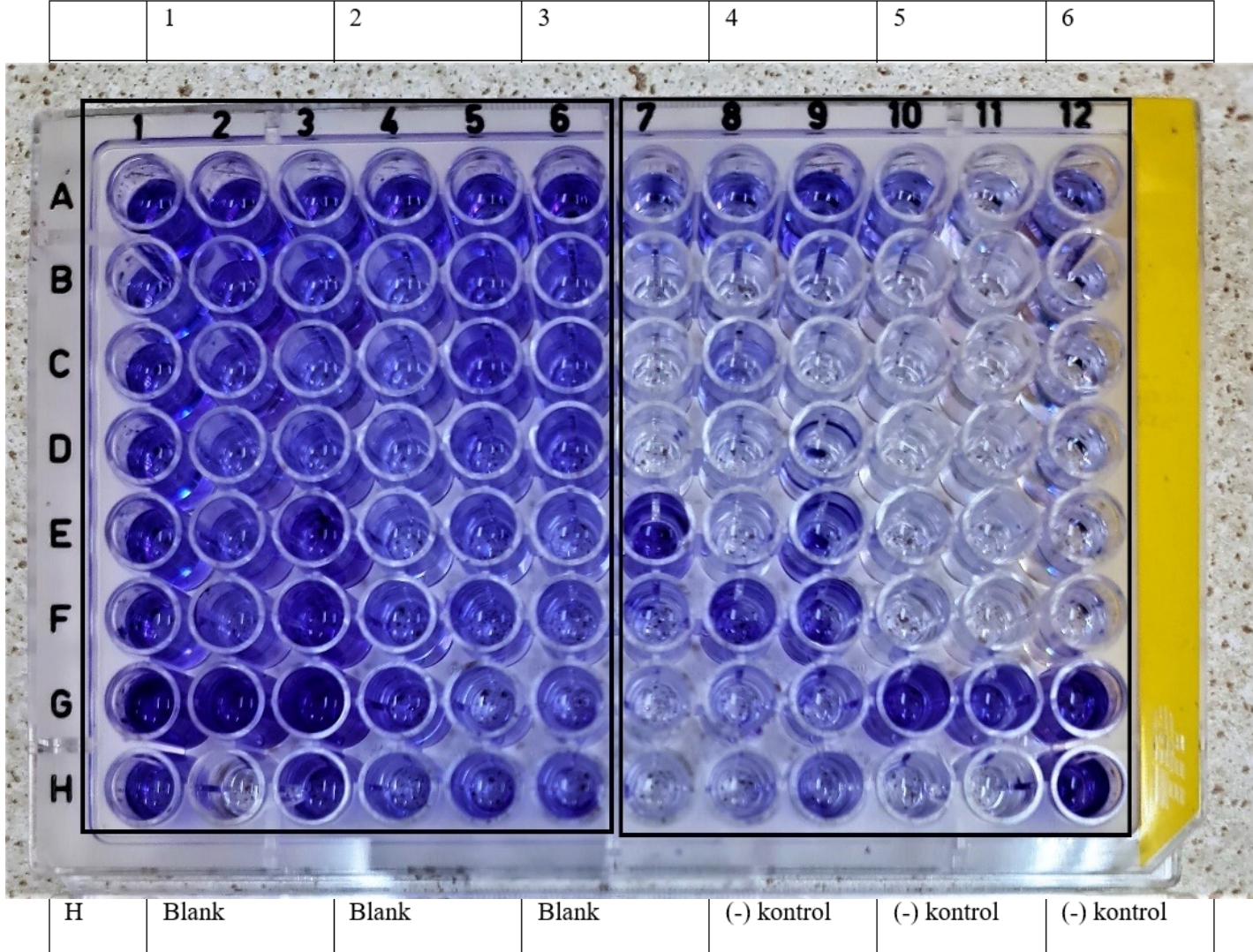
≥4 antagonist

Materyal ve Metod



Minimum biyofilm
inhibitör
konsantrasyon tespiti

Materyal ve Metod



İkili kombinasyon ile biyofilm inhibisyonu gösterilmesi

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen izolatların genel özellikleri

S: Duyarlı, I: Yüksek dozda duyarlı,
R: Dirençli (EUCAST v12)

*: EUCAST v12'ye göre

Meropenem S \leq 2 mg/L, R $>$ 8 mg/L

Polimiksin B S \leq 2 mg/L, R $>$ 2 mg/L

§: FDA kriterlerine göre

Tigesiklin S \leq 2 mg/L, R \geq 8 mg/L

İzolatlar	Primer enfeksiyon odağı	Biyofilm oluşturma kapasitesi	Meropenem MİK* (mg/L)		Polimiksin B MİK* (mg/L)		Tigesiklin MİK [§] (mg/L)	
			MİK*	R	MİK*	S	MİK [§]	I
1	İntraabdominal enfeksiyon, cerrahi alan enfeksiyonu	+1	128	R	2	S	4	I
2	İntraabdominal apse, karaciğer nakli	+3	512	R	1	S	0,25	S
3	Komplike üriner sistem enfeksiyonu	+3	512	R	2	S	4	I
4	Üriner sistem enfeksiyonu	+1	512	R	0,5	S	2	S
5	Üriner sistem enfeksiyonu	+2	64	R	0,5	S	2	S

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen izolatların meropenem, polimiksin B ve tigesiklin MİK ve MBİK değerlerinin karşılaştırılması

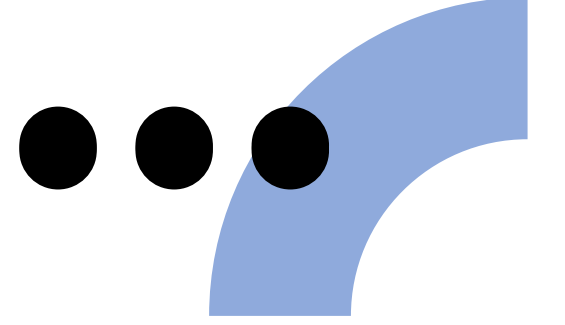
izolatlar	Meropenem			Polimiksin B			Tigesiklin		
	MİK (mg/L)	MBİK (mg/L)	Fark	MİK (mg/L)	MBİK (mg/L)	Fark	MİK (mg/L)	MBİK (mg/L)	Fark
1	128	128	-	2	2	-	4	64	16 kat
2	512	>512	>1 kat	1	128	128 kat	0,25	>256	>1024 kat
3	512	>512	>1 kat	2	16	8 kat	4	32	8 kat
4	512	>512	>1 kat	0,5	8	16 kat	2	>256	>128 kat
5	64	>512	>8 kat	0,5	4	8 kat	2	>256	>128 kat

Bulgular

Tüm izolatların planktonik formda ve biyofilmde sinerjistik etkilerinin karşılaştırılması ve sinerjistik etkileşim görülen antibiyotik kombinasyonları

	Meropenem-Polimiksin B		Tigesiklin-Polimiksin B	
	Planktonik form	Biyofilm	Planktonik form	Biyofilm
1	İndiferens	İndiferens	İndiferens	Additif TGC 64 mg/L + PMB 1 mg/L
2	İndiferens	İndiferens	İndiferens	İndiferens
3	Sinerji MEM 64 mg/L + PMB 0,5 mg/L ve MEM 32 mg/L + PMB 1 mg/L	Additif MEM 512 mg/L + PMB 8 mg/L	Additif TGC 2 mg/L+ PMB 0,5 mg/L ve TGC 1 mg/L + PMB 1 mg/L	Sinerji TGC 2 mg/L + PMB 0,25 mg/L
4	Additif MEM 128 mg/L + PMB 0,125 mg/L	Additif MEM 128 mg/L + PMB 4 mg/L	İndiferens	Sinerji TGC 64 mg/L + PMB 2 mg/L
5	İndiferens	Additif MEM 128 mg/L + PMB 2 mg/L	İndiferens	Additif TGC 64 mg/L + PMB 2 mg/L

Tartışma



- Çalışmamızda;
 - Planktonik formda meropenem-polimiksin B kombinasyonunda daha fazla sinerjistik etkileşim görülürken,
 - Biyofilmde tigesiklin-polimiksin B kombinasyonunda daha fazla sinerjistik etkileşim görüldü
 - Planktonik formda sinerji görülen konsantrasyonlar MİK'e daha yakın değerlerde iken
 - Biyofilmde sinerji görülen konsantrasyonlar meropenem ve tigesiklin için MİK'ten çok daha yüksek konsantrasyonlarda idi

Dinlediğiniz için teşekkürler...

