

# HASTANE İNFEKSİYON ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN NON-FERMENTATİF GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE SİPROFLOKSASİN, OFLOKSASİN VE LEVOFLOKSASİNİN İN-VİTRO ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Özlem Kurt Azap\* ❖ Funda Timurkaynak\* ❖ Hande Arslan\* ❖  
Sedef Özbalıkcı Karaman\*

## ÖZET

Hastane infeksiyonlarından izole edilen non-fermentatif bakteriler üzerine uzun süredir kullanımda olan siprofloksasin (SİP) ve ofloksasin (OFL) ile son yıllarda kullanıma giren levofloksasinin (LEV) in-vitro etkinliğinin karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışmaya Ocak 2001-Ocak 2003 tarihlerinde hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen 228 nonfermentatif bakteri suşu (107 *Pseudomonas aeruginosa*, 86 *Acinetobacter baumannii*, 26 *Stenotrophomonas maltophilia*, 9 *Burkholderia cepacia*) alındı. Tüm izolatlar standart mikrobiyolojik yöntemlerle tiplendirildi. Bakteriler çalışma gününe kadar -20 °C'de saklandı. Antibiyotik tozları üretici firmalardan (siprofloksasin Bayer, ofloksasin ve levofloksasin Aventis) sağlandı. MK değerleri agar dilüsyon yöntemi ile Muller-Hinton agar kullanılarak belirlendi. Antibiyotik duyarlılık sınırları NCCLS kriterlerine göre okundu. Kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı.

*P. aeruginosa* için siprofloksasinin en düşük MK50 ve MK90 değerlerine sahip antibiyotik olduğu belirlendi. *Acinetobacter baumannii* için çalışılan üç kinolonun da MK50 ve MK90 değerlerinin duyarlılık sınırının üzerinde olduğu gözlemlendi. *S. maltophilia* ve *B. cepacia*'ya karşı en iyi in-vitro etki OFL ve LEV ile sağlandı.

Siprofloksasinin *P. aeruginosa* infeksiyonları için hala en etkili antibiyotik olduğu belirlendi. *S. maltophilia* ve *B. cepacia* ile gelişen infeksiyonların tedavisinde ofloksasin ve levofloksasin iyi bir alternatif olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** MK, Kinolon Duyarlılığı, Non-Fermentatif Bakteri

## SUMMARY

### Comparison In-Vitro Activities of Ciprofloxacin, Ofloxacin and Levofloxacin Against Non-Fermentative Bacteria Isolated From Nosocomial Infections

To compare the in-vitro activities of new broad spectrum (levofloxacin, LEV) and previously developed (ciprofloxacin CIP, ofloxacin OFX) quinolones against clinical isolates of non-fermentative bacteria.

Two hundred twenty eight nonfermentative bacteria (107 *Pseudomonas aeruginosa*, 86 *Acinetobacter baumannii*, 26 *Stenotrophomonas maltophilia*, 9 *Burkholderia cepacia*) recovered from clinical isolates between January 2001 to January 2003 were studied. All isolates were identified by standard methods and kept frozen at -20 °C until use. Antibiotic powders were provided by their respective manufacturers (CIP Bayer, OFX and LEV Aventis). MICs were determined by agar dilution method on Muller-Hinton agar and results were interpreted according to the recommendations of NCCLS. Control strains were *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922.

Ciprofloxacin was the most active compound tested against *P. aeruginosa*, while levofloxacin and ofloxacin showed the best in-vitro activity against *S. maltophilia* and *B. cepacia*. We also found high MIC values for all quinolones tested against *A. baumannii*

According to our results CIP is still the most effective quinolone against *P. aeruginosa*. Levofloxacin and ofloxacin could become therapeutic options for treating infections due to *S. maltophilia* and *B. cepacia*.

**Key Words:** MIC, Non-Fermentative Bacteria, Quinolone Susceptibility

\* Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Infeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

Son yıllarda non-fermentatif gram negatif bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*) hastane infeksiyon etkeni olarak sık karşımıza çıkmaktadır. Bir çok antibiyotige dirençli olduklarından bu bakteriler ile gelişen infeksiyonlarda tedavi güçlüğü yaşanmaktadır. Kinolonlar antibiyotik seçeneğinin çok kısıtlı olduğu *Stenotrophomonas maltophilia* infeksiyonları da dahil olmak üzere dirençli non-fermentatif bakteri infeksiyonlarında önemli bir tedavi alternatifi haline gelmişlerdir (1, 2).

Bu çalışmada uzun süredir kullanımda olan siprofloksasin (SİP) ve ofloksasin (OFL) ile son yıllarda kullanıma giren levofloksasinin (LEV) non-fermentatif bakteriler üzerine in-vitro etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

#### MATERYAL VE METOD

Çalışmaya Ocak 2001-Ocak 2003 tarihlerinde hastane infeksiyon etkeni olarak farklı tarihlerde, farklı yoğun bakım ünitelerinden, her hastadan tek seferde izole edilen ve antibiyotik duyarlılık paternleri farklı olan 228 nonfermentatif bakteri suşu (107 *Pseudomonas aeruginosa*, 86 *Acinetobacter baumannii*, 26 *Stenotrophomonas maltophilia*, 9 *Burkholderia cepacia*) alındı. Etkenlerin %31'i derin trakeal aspirat, %26'sı kan, %18'i kateter, %9'u idrar, %9'u yara ve %7'si abse örneklerinden izole edildi. Klinik örneklerden izole edilen, EMB agarda laktoz negatif olduğu belirlenen, sitokrom oksidaz testleri değerlendirilen ve şeker fermantasyonuna göre non-fermentatif olduğu saptanan mikroorganizmalar tür düzeyinde tiplendirme için otomatize sisteme (BBL Crystal (Becton-Dickonson)) alındı (3). Bakteriler çalışma gününe kadar -20 °C'de saklandı. Antibiyotik tozları üretici firmalardan (Siprofloksasin Bayer, ofloksasin ve levofloksasin

Aventis) sağlandı. Bakteri süspansiyonu izolatların gecelik subkültürlerinden alınan kolonilerin 0.5 Mc Farland bulanıklığına eşit olacak şekilde serum fizyolojik içinde hazırlandı. Besiyeri olarak Muller-Hinton agar kullanıldı. Bakteri inokulumları steril plastik özelerle siprofloksasin için 0.25-16 mg/L, ofloksasin ve levofloksasin için 0.5-32 mg/L antibiyotik içeren agar plaklarına ekildi. Her antibiyotik için antibiyotik içermeyen kontrol agar plağı hazırlandı. Plaklar 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık sınırları NCCLS M100-S13'e göre okundu (4). İzolatların %50'sini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK50, %90'nını inhibe eden en düşük konsantrasyon ise MİK90 olarak tanımlandı. Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı.

#### SONUÇLAR

Çalışılan bakterilerin MİK50 ve MİK90 değerleri tabloda özetlendi.

*P. aeruginosa* için çalışılan tüm kinolonların MİK90 değerleri yüksek idi. Siprofloksasinin en düşük MİK50 ve MİK90 değerlerine sahip antibiyotik olduğu belirlendi ve LEV'in duyarlılık yüzdesi SİP'e yakın bulundu.

*A. baumannii* için çalışılan üç kinolonun da MİK50 ve MİK90 değerlerinin duyarlılık sınırının üzerinde olduğu gözlemlendi. Çalışılan suşların yalnızca %8'inde duyarlılık saptandı.

*S. maltophilia*'ya karşı en iyi in-vitro etki OFL ve LEV ile sağlandı. Suşların duyarlılık oranı sırasıyla %96 ve %81 idi. Benzer şekilde *B. cepacia* için OFL'in MİK90 değerinin SİP'den 2, LEV'den 4 kat düşük olduğu ve suşların %89'unun duyarlı olduğu belirlendi.

**Tablo 1:** Non-fermentatif bakterilerin MIC 50 and MIC90 değerleri

Bakteri (n)	Antibiyotik	MIC (mg/L)			Duyarlılık %
		MİK 50	MİK 90	Aralık	
P.aeruginosa(107)	SİP	0.25	16	<0.25->16	74
	OFL	1	32	<0.5->32	47
	LEV	1	32	<0.5->32	73
A.baumannii (86)	SİP	16	16	0.25->32	8
	OFL	8	16	<0.5->32	8
	LEV	16	32	<0.5->32	9
S.maltophilia (26)	SİP	2	4	1->16	12
	OFL	1	1	1->32	96
	LEV	1	4	1-32	81
B.cepacia (9)	SİP	2	16	1->16	22
	OFL	2	8	<0.5-8	89
	LEV	4	32	1-32	11

## TARTIŞMA

Günümüzde non-fermentatif bakteriler nozokomiyal infeksiyon etkenleri içinde önemli bir grubu oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalarda gözlenen çoklu antibiyotik direnci tedavi güçlüğüne neden olmaktadır. Kinolonlar bu bakterilerle gelişen nozokomiyal infeksiyonların tedavisinde iyi in-vitro aktiviteleri nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak siprofloksasin başta olmak üzere bu antibiyotik grubuna dünyada ve ülkemizde giderek artan direnç oranları bildirilmektedir (5-9). Son yıllarda farklı bakteri türlerine güçlü potensiyel etkiye sahip olan geniş spektrumlu kinolonlar geliştirilmiştir. Bu yeni jenerasyondan olan levofloksasin ülkemizde son dört yıldır klinik kullanımda yerini almıştır.

P. aeruginosa'ya karşı kinolonların in-vitro aktivitesinin araştırıldığı çalışmalarda oldukça farklı duyarlılık oranları elde edilmiştir. Karlowsky ve arkadaşlarının (10) çalışmasında Pseudomonas ve Acinetobacter suşlarında yıllar içerisinde gelişen direnç oranları incelenmiş ve kinolon grubu antibiyotiklere karşı diğer grup antibiyotiklere göre dirençte hızlı bir artış olduğu ve MİK90 değerlerinde belirgin yükselme olduğu belirlen-

miştir. Etkinliğin karşılaştırıldığı çalışmalarda siprofloksasinin in-vitro etkinliği en iyi olan kinolon olduğunun belirlendiği çalışmaların yanı sıra (5,8) levofloksasinin siprofloksasine yakın etkinliğe sahip olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (7,11,12). Ofloksasin ise antipseudomonal etkinlik açısından en az etkili kinolon olarak belirlenmiştir (5,13,14). Çalışmamızda siprofloksasinin MİK50 ve MİK90 değerleri (sırasıyla 4 kat ve 2 kat) levofloksasin ve ofloksasine göre düşük olduğu saptandı. Ancak levofloksasinin duyarlılık yüzdesi siprofloksasin ile benzer idi.

A. baumannii bir çok antibiyotiğe dirençli olması ve salgınlar yapabilmesi nedeniyle hastane infeksiyon etkeni olarak özel bir yere sahiptir (15,16). Bu infeksiyonların tedavisinde karbapenemler, kinolonlar ve aminoglikozidler ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. Artan kinolon direnci bu bakteri için de sorun olmaya başlamıştır (10). Yapılan çalışmalarda siprofloksasin, levofloksasin ve ofloksasin için %50'nin altında duyarlılık oranları ve yüksek MİK düzeyleri saptanmıştır (8,11). Heineman ve arkadaşlarının (15) çalışmasında yeni kinolonlardan klinafloksasin ve

levofloksasinin in-vitro aktivitesinin siprofloksasine göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda *Acinetobacter* suşlarının test edilen kinolonlara duyarlılık oranının %10'nun altında olduğu saptanmıştır.

*S. maltophilia* özellikle yoğun bakım ünitelerinde ventilasyon veya kateterizasyon uygulanan hastalarda infeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bakteri beta-laktamlar ve aminoglikozidler gibi bir çok antibiyotiğe doğal dirençlidir ve az sayıda tedavi seçeneği bulunmaktadır. *S. maltophilia*'nın etken olduğu infeksiyonlarda kinolonlar tek başlarına ya da diğer antibiyotiklerle kombinasyon yapılarak tedavi alternatifi olmuştur (17). Kinolonların bu bakteriye etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda siprofloksasine oldukça değişken duyarlılık oranları (%25-79) bildirilmekte (7,11) ve yeni kinolonların (levofloksasin, moksifloksasin, klinafloksasin gibi) daha iyi in-vitro aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (1,12,17,18). Schmitz (11) ve

Hoban'ın (19) çalışmalarında ise bu bakterinin levofloksasin ve ofloksasine siprofloksasinden daha yüksek duyarlılık oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, *S. maltophilia*'ya in-vitro etkinliği en iyi olan ajanlar levofloksasin ve ofloksasin olarak belirlenmiştir.

B. cepacia için kinolon duyarlılığı ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda kinolon duyarlılığının oldukça düşük olduğu görülmüştür (7,19). Çalışmamızda da siprofloksasin ve levofloksasine oldukça düşük duyarlılık oranları saptadık ancak ofloksasine duyarlılık oranı oldukça yüksek idi. Suş sayımızın azlığı nedeniyle bu veri değerlendirilememiştir.

Sonuç olarak *A. baumannii* dışındaki non-fermentatif bakterilerle gelişen infeksiyonların tedavisinde levofloksasin iyi bir alternatif olabilir. Direnç gelişiminin hızı göz önüne alındığında bu bakteri grubu için düzenli surveyans çalışmalarının önemi ortaya çıkmaktadır.

**KAYNAKLAR**

1. Weiss K, Restieri C, De Carolis E ve ark. Comparative activity of new quinolones against 326 clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*. 2000 ;45:363-5
2. Hooper DC. Clinical applications of quinolones. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1400: 45-61
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - Sixth Edition: Approved Standard M7-A6. NCCLS PA, USA.2003
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The nonfermentative Gram negative bacilli. In *Diagnostic Microbiology* eds. Fifth edition, Lippincott New York 1997: 253-320
5. Swiatlo E, Moore E, Watt J ve ark. In vitro activity of four fluoroquinolones against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* determined by the E test. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 15:73-6
6. Thomson CJ. The global epidemiology of resistance to Siprofloxacin and the changing nature of antibiotic resistance: a 10 year perspective *J Antimicrob Chemother* 1999;43 Suppl A:31-40
7. Isenberg HD, Alperstein P, France K. In vitro activity of ciprofloxacin, levofloxacin, and trovafloxacin, alone and in combination with beta-lactams, against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Burkholderia cepacia*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33:81-6
8. Gonullu N, Aktas Z, Salcioglu M ve ark. Comparative in vitro activities of five quinolone antibiotics, including gemifloxacin, against clinical isolates. *Clin Microbiol Infect* 2001;7: 499-503
9. Arda B, Yamazhan T, Ulusoy S ve ark. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılığındaki dört yıllık değişim (1995 ve 1999) Hastane infeksiyonları *Derg* 2001; 5: 49-53
10. Karlowsky JA, Draghi DC ve ark. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001 *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1681-8
11. Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC Comparative activities of six different fluoroquinolones against 9.682 clinical bacterial isolates from 20 European university hospitals participating in the European SENTRY surveillance programme. The SENTRY participants group *Int J Antimicrob Agents* 1999 ;12: 311-7
12. Gesu GP, Marchetti F, Piccoli L ve ark. Levofloxacin and ciprofloxacin in vitro activities against 4,003 clinical bacterial isolates collected in 24 Italian laboratories *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 816-9
13. Hoogkamp-Korstanje JA In-vitro activities of ciprofloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, ofloxacin, pefloxacin, sparfloxacin and trovafloxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 1997 ;40: 427-31
14. Segatore B, Setacci D, Perilli M ve ark. Italian survey on comparative levofloxacin susceptibility in 334 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 ;43:428-31

15. Heinemann B, Wisplinghoff H, Edmond M ve ark. Comparative activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against epidemiologically defined *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2211-3
16. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M ve ark. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med* 1998 ;129:182-9
17. Valdezate S, Vindel A, Baquero F ve ark. Comparative in vitro activity of quinolones against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18: 908-11
18. Bonfiglio G, Cascone C, Azzarelli C ve ark. Levofloxacin in vitro activity and time-kill evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:115-7
19. Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson JL ve ark. Poupard JA; Gemifloxacin Surveillance Study Research Group. Comparative in vitro activity of gemifloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin and ofloxacin in a North American surveillance study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40:51-7