

ALT SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF NONFERMENTATİF ÇOMAKLARA LEVOFLOKSASİN VE SİPROFLOKSASİNİN İN-VİTRO ETKİNLİĞİ

Güneş ŞENOL¹, Berna KÖMÜRÇÜOĞLU², Can BİÇMEN¹,
Işın ÖZTUNA², Melih BÜYÜKŞİRİN²

ÖZET

Alt solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen Gram negatif nonfermentatif çomaklara karşı levofloksasinin antibakteriyel aktivitesi siprofloksasinin aktivitesi ile karşılaştırılmıştır. Toplam 230 klinik izolat ile çalışılmıştır. 167 nonfermentatif oksidaz pozitif suşun 107'si (% 64) ve 63 nonfermentatif oksidaz negatif suşun 18'i (% 29) levofloksasine duyarlı iken, 122 oksidaz pozitif (% 73) ve 14 oksidaz negatif (% 22) suş siprofloksasine duyarlı bulunmuştur. İki antibiyotiğin iki grup bakteriye etkinlikleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Oksidaz negatif suşlar oksidaz pozitif suşlara göre çok ileri derece anlamlı olacak şekilde, her iki antibiyotiğe de daha dirençli bulunmuşlardır ($p<0.001$).

SUMMARY

In-vitro activities of levofloxacin and ciprofloxacin against Gram negative nonfermentative bacilli isolated from patients with lower respiratory tract infections.

The antibacterial activity of levofloxacin was compared with the activity of ciprofloxacin against Gram negative nonfermentative strains isolated from lower respiratory tract infections. Total 230 clinical isolates were studied. One hundred and seven (64 %) of 167 nonfermentative oxidase positive and 18 (29 %) of 63 oxidase negative strains were found susceptible to levofloxacin whereas 122 (73 %) oxidase positive and 14 (22 %) oxidase negative strains were susceptible to ciprofloxacin. There was no significant difference between the activities of two antibiotics against two groups of bacteria ($p>0.05$). Oxidase negative strains were found significantly more resistant to both antibiotics ($p<0.001$).

GİRİŞ

Levofloksasin, rasemik ofloksasinin optik L (-) izomeri olan bir florokinolon antibiyotiktir (17). Etki mekanizması, diğer florokinolonlar gibi, DNA girazın A subünitesine ve topoizomeraz IV'ün inhibisyonuna bağlı olarak bakteriyel DNA'nın replikasyonunun ve transkripsiyonunun engellenmesidir (5).

Levofloksasin özellikle solunum yolu infeksiyonlarında kullanılır. Bunun nedeni solunum yolu patojenleri olarak da bilinen *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae* ve atipik patojenler (*Mycoplasma*, *Chlamydia* ve *Legionella*) üzerinde in-vitro çok iyi aktivite göstermesidir. Birçok Gram negatif ve anaerob bakteri üzerinde orta derecede etkilidir (5,14,17).

Gram negatif nonfermentatif çomaklar levofloksasinin aktivite spektrumunun içinde görülmektedirler. Bu bakteriler, toprakta ve suda yaşayan, doğada yaygın olarak bulunan Gram negatif, nonfermentatif, aerop bakterilerdir. Sağlıklı insanları infekte edebilecekleri gibi özellikle altta yatan başka bir hastalığı olan, immun direnci zayıflamış, uzun süreli hastanede yatan hastalar için fırsatçı patojendirler. Hastane infeksiyonlarından izole edilen bakteriler arasında ilk sıralarda yer alırlar. Sık kullanılan antibiyotiklere dirençli oluşları nedeniyle ağır ve tedavisi zor infeksiyonlar yaparlar (1,3,7). Levofloksasin bu bakteriler üzerinde etkin gözükse de, değişik çalışmalarda bildirilen duyarlılık oranları farklılıklar göstermektedir (4,14,16).

Levofloksasin, ülkemizde klinik kullanıma yeni girmiş, hem yatan hem de ayaktan sağaltılan hastalarda ampirik olarak uygulanmaya başlanmıştır. Ampirik tedavideki yerini daha iyi belirlemek için hem bölgesel hem de ulusal geniş kapsamlı serilerle ülkemizdeki suşların bu antibiyotiğe duyarlılık paterni ortaya çıkarılmalıdır. Bu çalışmada bir alt solunum yolu infeksiyonu nedeniyle hastanemizde yatan hastalardan laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif nonfermentatif çomakların levofloksasine duyarlılıkları retrospektif olarak araştırılmış ve uzun süreden beri kliniklerde kullanılan bir başka florokinolon olan siprofloksasine duyarlılık oranları ile karşılaştırılmıştır. Suşların hastane infeksiyonu etkeni olup olmadıkları irdelenmemiş, sadece söz konusu iki kinolon antibiyotiğe duyarlılıkları araştırılmıştır. Hastane ortamı ve hizmet verilen bölgedeki nonfermentatif çomakların bu iki antibiyotiğe direnç oranlarının ortaya konması ve ampirik tedavideki yerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1999-Eylül 2000 tarihleri arasında klinik, radyolojik ve laboratuvar bulgularına göre alt solunum yolu infeksiyonu tanısı almış hastaların tablo 1'de izlenen çeşitli örnekleri konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle incelenmiştir. Balgam örnekleri önce mikroskopik olarak incelenip, $\times 10$ büyütmede her alanda üst solunum yolu epiteli sayısı < 10 , lökosit sayısı > 25 olan balgamlar değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca balgamın Gram boyamasında izlenen bakterilerin morfolojisi ile kültürde izlenen üreme arasında uyum izlenen örneklerde, üreyen bakterinin infeksiyon etkeni olduğu düşünülmüştür. Bronş aspirasyonlarında 10^3 bakteri/ml ve üzerindeki üreme sınır olarak alınmıştır (1, 2). Suşlar Gram boyanma özellikleri, morfolojileri, EMB ve kanlı agarda oluşturdukları koloni yapısı, fermentasyon yetenekleri ve sitokrom-oksidad reaksiyonu özelliklerine bakılarak gruplandırılmıştır (1, 3, 7). EMB agarda üreyen, şeffaf, düzensiz kenarlı, aromatik kokusu olan, S tipi koloniler oluşturan, Gram negatif çomak morfolojisi gösteren, nonfermentatif ve oksidaz pozitif izolatlar *P.aeruginosa* olarak; EMB agarda üreyen, düzgün kenarlı açık mavimsi refle veren S tipi koloniler oluşturan, Gram negatif çomak ve/veya kokobasil morfolojisi gösteren, nonfermentatif ve oksidaz negatif izolatlar *Acinetobacter* spp. olarak öngörülmüştür. Ancak daha ileri tanımlama teknikleri kullanılmadığı için, çalışmamızda biyokimyasal özellikleri göz önüne alınarak *Pseudomonas* olduğu öngörülen izolatlar oksidaz pozitif nonfermentatif, *Acinetobacter* olarak öngörülen izolatlar ise oksidaz negatif nonfermentatif çomak olarak tanımlanmışlardır. İzolatların duyarlılıkları 5 mg'lık levofloksasin ve siprofloksasin diskleri kullanılarak NCCLS M2-A6'a uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antibiyogramlar için Mueller-Hinton agar kullanılmıştır. Zon çapı 13 mm ve altında kalan suşlar levofloksasine, 15 mm ve altında kalan suşlar siprofloksasine dirençli; 21 mm ve üzerinde zon çapı açıklığı oluşturan suşlar siprofloksasin için, 17 mm ve üzeri açıklık yapan suşlar ise levofloksasin için duyarlı olarak değerlendirilmiş-

tir (10). Levofloksasin zon çapı 14-16 mm, siprofloksasin zon çapı 16-20 mm olan suşlar orta duyarlı kabul edilmişler, sonuçlar verilirken dirençli suşlara eklenmişlerdir. Kullanılan antibiyogram disklerinin kalite kontrolü için *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 standart suşları kullanılmıştır. Bu çalışma elde edilen bulguların retrospektif olarak derlenmesiyle oluşmuştur. Sonuçlar χ kare yöntemi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Gram negatif nonfermentatif izolatların elde edildiği hasta örneklerinin sayıları ve toplam izolat sayısına oranları tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gram negatif nonfermentatif izolatların elde edildiği hasta örneklerinin sayısı ve toplam izolat sayısına oranları.

Örnek	Oksidaz pozitif nonfermentatif çomak (%)	Oksidaz negatif nonfermentatif çomak (%)	Toplam n (%)
Balgam	98 (43)	43 (19)	141 (61)
Bronş aspirasyonu	27 (12)	12 (5)	39 (17)
Ampiyem-plevral sıvı	13 (6)	5 (2)	18 (8)
Akciğer absesi asp.	7 (3)	1 (0.4)	8 (3)
Dren	17 (7)	1 (0.4)	18 (8)
Katater	2 (1)	1 (0.4)	3 (1)
Hemokültür	3 (1)	-	3 (1)
Toplam	167 (73)	63 (27)	230 (100)

Gram negatif çomak morfolojisinde, EMB agarda iyi üreme gösteren, nonfermentatif, sitokrom oksidaz deneyi değişkenlik gösteren toplam 230 adet suş ile çalışılmıştır. Levofloksasine 167 oksidaz pozitif suşun % 64'ü (n=107) duyarlı, % 36'sı (n=60) dirençli; 63 oksidaz negatif suşun ise % 29'u (n=18) duyarlı, % 71'i (n=45) dirençli bulunmuştur. Siprofloksasine % 73 (n=122) oksidaz pozitif ve % 22 (n=14) oksidaz negatif suş duyarlı; % 27 (n=45) oksidaz pozitif suş, % 78 (n=49) oksidaz negatif suş dirençli bulunmuştur (Tablo 2). Orta duyarlı bulunan suşlar dirençli suşlar içinde değerlendirilmiştir. Duyarlılık oranları dikkate alındığında, iki antibiyotiğin iki grup bakteriye etkinlikleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Oksidaz negatif suşlar, oksidaz pozitif suşlara göre çok ileri derece anlamlı olacak şekilde, her iki antibiyotiğe de daha dirençli bulunmuştur (p<0.001).

Tablo 2. Nonfermentatif Gram negatif çomakların levofloksasin ve siprofloksasine duyarlılıkları, n(%).

Oksidaz	Levofloksasin		Siprofloksasin	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Pozitif (n:167)	107 (64)	60 (36)	122 (73)	45 (27)
Negatif (n:63)	18 (29)	45 (71)	14 (22)	49 (78)

TARTIŞMA

Gram negatif nonfermentatif çomaklar yüksek antibiyotik direnç oranları nedeniyle infeksiyonlarının tedavisi zor mikroorganizmalardır. Bu grup bakteriler arasında *Pseudomonas*'lar en sık saptanan infeksiyon etkenleridir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında ikinci sıklıkla izole edilen nonfermentatif çomaklar ise *Acinetobacter* suşlarıdır (1). Diğer nonfermentatif çomakların infeksiyon etkeni olarak izolasyon oranları % 5'in altındadır (15). Kinolon grubu antibiyotikler bu etkenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılabilir. Bir kinolon olan levofloksasinin bu bakteriler üzerindeki etkinliğini inceleyen birçok araştırma yapılmıştır.

İtalya'da yapılmış çok merkezli bir çalışmada 334 *P.aeruginosa* suşunun levofloksasin duyarlılığı değerlendirilmiştir (13). Yoğun bakım, onkoloji ve hematoloji servislerinden elde edilen ve çoğu dirençli olan suşlardan seçilmiş 334 izolatın % 17.1'i siprofloksasine, % 48.2'si levofloksasine duyarlı bulunmuştur. 334 izolatın 188'i solunum yollarından izole edilmiştir. Bu 188 suş arasında da levofloksasin duyarlılığı % 51, siprofloksasin duyarlılığı % 20.7 olarak izlenmiştir. Araştırmacılar siprofloksasine dirençli suşların % 35'den fazlasının levofloksasine duyarlı veya orta duyarlı olduğuna bakarak iki antibiyotik arasında ancak kısmi bir çapraz direnç olduğunu düşünmüşlerdir. Aynı çalışmada 139 levofloksasine dirençli suşun 132'si siprofloksasine de dirençli bulunmuştur. Araştırmacılar levofloksasinin İtalya'da en azından yüksek riskli olgularda siprofloksasinden daha etkili olduğunu, ancak ileri klinik çalışmalar gerektiğini ileri sürmüşlerdir (13).

Sahm ve ark. (11)'nin ABD'de 464 *P.aeruginosa* suşunun % 71.1'ini siprofloksasine, % 71.3'ünü levofloksasine duyarlı bulmuş, 97 *Acinetobacter* suşunun ise duyarlılıklarını sırasıyla % 50.5 ve % 53.6 olarak saptamışlardır. 200'ün üzerinde laboratuvarından ulaştıkları verilere göre ise *Pseudomonas* suşlarının levofloksasin (n=21,199) ve siprofloksasin (n=64,971) duyarlılıklarını % 68.8 ve % 71.5; *Acinetobacter* suşlarının levofloksasin (n=1,835) ve siprofloksasin (n=5,328) duyarlılıkları % 53.2 ve % 47.5 olarak bildirmişlerdir (11). Buna benzer olarak Fu ve ark. (6) levofloksasini *Acinetobacter*'ler için, siprofloksasini *P.aeruginosa* için daha aktif bulmuşlar, ancak klinik uygulamada her antibiyotığın diğeri kadar etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Japonya'da da 1020 yeni klinik izolatla yapılan bir çalışmada *Pseudomonas* suşlarına siprofloksasin, *Acinetobacter* suşlarına ise levofloksasin daha aktif bulunmuştur (8). Avrupa SENTRY sürveyans programı içinde incelenen florokinolonlar arasında siprofloksasin ve levofloksasin *P.aeruginosa*'ya karşı birbirine yakın ve iyi duyarlılık oranları gösterirken, *Acinetobacter* suşlarına diğer kinolonlar daha aktif bulunmuştur. *P. aeruginosa* suşlarının % 72.5'i levofloksasine duyarlı iken, % 74.8 suş siprofloksasine duyarlı bulunmuş, *Acinetobacter*'ler ise siprofloksasine % 45.2, levofloksasine % 47.3 duyarlılık göstermişlerdir (12). Çok merkezli başka bir çalışmada ise levofloksasinin aktivitesinin siprofloksasine eşit ve/veya hafifçe az olduğuna işaret edilmektedir. 33 *Acinetobacter* spp. ve 707 *P. aeruginosa* suşunun levofloksasin duyarlılıkları sırasıyla % 81 ve % 68; siprofloksasin duyarlılıkları ise % 71.6 ve % 79 bulunmuştur (16). McGowan ve ark. (9) ve Fish ve Chow (5) *P.aeruginosa* için siprofloksasini levofloksasine göre in-vitro şartlarda daha aktif bulduklarını bildirmişlerdir.

Yurdumuzda 1999 yılında Zarakolu ve Ünal (17), çeşitli çalışmaların sonuçlarını özetledikleri derlemede toplam 3,332 *P.aeruginosa* ve 726 *Acinetobacter* spp. izolatının MİK₉₀ değerini levofloksasin için 4 mg/l, siprofloksasin için 2 mg/l olarak bildirmişlerdir. Bu iki değer aynı kategoridedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar yurt içi ve yurt dışı çalışma sonuçlarının birçoğu ile uyumlu bulunmuştur. Levofloksasin oksidaz pozitif suşlar için orta düzeyde, oksidaz negatifler için

düşük düzeyde etkin bir antibiyotik gibi durmaktadır. Oksidaz pozitif suşlarda siprofloksasine daha yüksek bir duyarlılık oranı saptanmış, ancak oksidaz negatif nonfermentatiflerde levofloksasine duyarlılık oranları biraz daha yüksek çıkmıştır. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak, bu çalışma daha çok epidemiyolojik veri oluşturması için planlanmış olduğundan, her iki antibiyotiğe duyarlılık oranlarının arasında saptanmış olan bu farklılığın antibakteriyel sağaltım sonuçlarını nasıl etkileyeceğini görmek için daha ayrıntılı prospektif çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: *Bailey's and Scott's Diagnostic Microbiology*. 9. baskı, s. 387, Mosby Co., St. Louis (1994).
- 2- Bilgehan H: *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, s. 337, Güneş Yayınevi, İzmir (1995).
- 3- Erdem B: Pseudomonas'lar, "Ustaçelebi Ş (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*" kitabında s. 551, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
- 4- Fełmingam D, Robbins MJ, Mathias I, Ingley K, Bhogal H, Gruneberg RN: Results of European multicenter study on the comparative in vitro susceptibility of gram negative bacteria to levofloxacin, *Clin Microbiol Infect* 3: 283 (1997).
- 5- Fish DN, Chow AT: The clinical pharmacokinetics of levofloksasin, *Clin. Pharmacokinet* 32: 101 (1997).
- 6- Fu KP, Lafredo SC, Foleno B, Isaacson DM, Barrett JF, Tobia AJ, Rosenthale ME: In vitro and in vivo antibacterial activities of levofloxacin (l-ofloxacin), an optically active ofloxacin, *Antimicrob Agents Chemother* 36: 860 (1992).
- 7- Gerçeker D: Miscellaneous Gram negatif bakteriler, "Ustaçelebi Ş (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*" kitabında s. 542, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
- 8- Matsuzaki K, Koyama H, Chiba A, Omika K: In vitro activities of levofloxacin and other antibiotics against fresh clinical isolates, *Jpn J Antibiot* 52: 571 (1999).
- 9- McGowan AP, Wootton M, Holt HA: The antibacterial efficacy of levofloxacin and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* assessed by combining antibiotic exposure and bacterial susceptibility, *J Antimicrob Chemother* 43: 345 (1999).
- 10- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 8th ed, Approved Standard M2-A6 (M100-S8), NCCLS, Wayne Pa (1998).
- 11- Sahn Df, Critchley IA, Kelly LJ, Karlowsky JA: Evaluation of current activities of fluoroquinolones against gram-negative bacilli using centralized in vitro testing and electronic surveillance, *Antimicrob Agents Chemother* 45: 267 (2001).
- 12- Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC, the SENTRY Participants Group: Comparative activities of six different fluoroquinolones against 9,682 clinical bacterial isolates from 20 European university hospitals participating in the European SENTRY Surveillance Programme, *Int J Antimicrob Agents* 12: 311 (1999).
- 13- Segatore B, Setacci D, Perilli M, Franceschini N, Santis A, Marchetti F, Amicosante G: Italian survey on comparative levofloxacin susceptibility in 334 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 43: 428 (1999).

- 14- Soussy CJ, Cluzel M, Ploy MC: In vitro antibacterial activity of a new flouroquinolon, levofloxacin, against hospital isolates and regression curves, *Clin Microbiol Infect* 3: 91 (1997).
- 15- Vahabođlu H: ođul dirençli nonfermentatif Gram-negatif basiller, *Hastane Infeksiyonları Derg* 4: 222 (2000).
- 16- Yamane N, Jones RN, Frei R, Hoban J, Pignatari AC, Marco F: Levofloxacin "in vitro" activity: Results from an international comparative study with ofloxacin and ciprofloxacin, *J Chemother* 6: 83 (1994).
- 17- Zarakolu P, Ünal S: Levofloksasin, *Flora 4 (Suppl 4)*: 4 (1999).