

Resistenza di *Pseudomonas aeruginosa* a ciprofloxacina e levofloxacina: 1998-2002

Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin and levofloxacin: 1998-2002

Elena De Vecchi¹, Lorenzo Drago¹, Lucia Nicola¹, Alberto Colombo¹, Anna Guerra¹, Loredana Tocalli¹, Massimo Medaglia², Maria Rita Gismondo¹

¹Laboratorio di Microbiologia, Dipartimento di Scienze Cliniche L. Sacco, Università degli Studi, Milano;

²Dipartimento Farmacologico, Polo Universitario, Azienda Ospedaliera Luigi Sacco Milano

INTRODUZIONE

P*seudomonas aeruginosa* è un batterio Gram-negativo non fermentante facilmente isolabile dal suolo, dalle acque, e presente come commensale nei soggetti sani. Dal momento che *P. aeruginosa* possiede meccanismi intrinseci di resistenza, quali un'alterata permeabilità di membrana, pompe di flusso e beta-lattamasi inducibili [1-3], una delle caratteristiche peculiari di questo microrganismo è la sua capacità di presentare, con elevata frequenza, una certa multi-resistenza agli antibiotici. Questa caratteristica contribuisce in maniera determinante all'azione patogena di *P. aeruginosa* che, in presenza di fattori predisponenti, è causa frequente di infezioni, anche di una certa gravità nei vari distretti corporei [4, 5]. Il trattamento, infatti, delle infezioni causate da *P. aeruginosa* risulta spesso complicato dalla presenza di resistenze a più antibiotici e questo aspetto ha assunto negli ultimi anni dimensioni notevoli e, per taluni antibiotici, preoccupanti [5-7].

Dalla loro introduzione nella pratica clinica, avvenuta circa 20 anni fa, i fluorochinoloni hanno assunto un ruolo sempre più importante nel trattamento di una vasta gamma di infezioni, grazie all'ampio spettro di attività verso batteri sia Gram-positivi che Gram-negativi [8-10]. Ciprofloxacina e levofloxacina sono attualmente tra i fluorochinoloni più utilizzati. Sebbene levofloxacina sia caratterizzata da una maggiore attività verso i batteri Gram-positivi, le due molecole mostrano un comportamento simile nei

confronti dei bacilli Gram-negativi. In effetti, tra i fluorochinoloni oggi disponibili, ciprofloxacina e levofloxacina presentano una certa attività nei confronti di *P. aeruginosa* [11, 12]. D'altra parte, però, l'importanza dei fluorochinoloni nel trattamento di infezioni da Gram-negativi rende necessaria una continua ed attenta valutazione della sensibilità a questa classe di antibiotici.

Recenti studi epidemiologici hanno evidenziato che questo microrganismo presenta talvolta una importante percentuale di isolati resistenti a questi farmaci, con sensibili differenze nella frequenza di resistenza ai fluorochinoloni tra le varie parti del mondo [6, 13]. Questo ha portato a considerazioni più o meno discordanti sulla reale incidenza di resistenza a questi antibiotici. Alla luce di queste considerazioni, è stato condotto uno studio retrospettivo al fine di valutare i cambiamenti di sensibilità a levofloxacina e ciprofloxacina di *P. aeruginosa* isolati nel periodo gennaio 1998-ottobre 2002 presso il Laboratorio di Microbiologia dell'Azienda Ospedaliera L. Sacco di Milano. Inoltre, dal momento che è stato dimostrato che l'utilizzo di diverse classi di antibiotici è spesso correlato all'insorgenza di resistenza in *P. aeruginosa*, è stata anche considerata la variazione del consumo di questi antibiotici nello stesso arco di tempo [14, 15].

MATERIALI E METODI

Lo studio di tipo retrospettivo è stato focalizzato sul periodo gennaio 1998-ottobre 2002. A

tal fine sono stati utilizzati i seguenti programmi di gestione dati: Mapper, operante in ambiente Unix, per il periodo gennaio 1998-maggio 2001 e Italab (Dianoema, Bologna, Italia) per il periodo successivo. Sono stati presi in considerazione tutti i referti relativi a campioni risultati positivi per *P. aeruginosa*. Nel caso di più isolati per paziente, ai fini statistici è stato considerato solamente il primo isolato in ordine temporale.

I due programmi hanno permesso la stratificazione dei dati in base al periodo di isolamento, alla natura del campione e al reparto di provenienza.

L'identificazione batterica e la valutazione della sensibilità a ciprofloxacina e levofloxacina sono state effettuate in maniera automatica mediante Vitek system (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Francia).

Nel periodo considerato sono stati valutati i dati relativi a un totale complessivo di 1917 isolati. In particolare, per ciprofloxacina sono stati considerati 411 isolati nel 1998, 526 isolati nel 1999, 400 isolati nel 2000, 390 isolati nel 2001 e 220 isolati nel periodo gennaio-ottobre 2002; per levofloxacina il saggio di sensibilità è stato introdotto nel nostro laboratorio a partire dal secondo quadrimestre del 1999, anno in cui sono stati considerati 472 isolati, ed è proseguito negli anni successivi con 400 isolati nel 2000, 390 isolati nel 2001 e 220 nel periodo gennaio-ottobre 2002.

Il consumo di ciprofloxacina e levofloxacina è

stato determinato mediante valutazione della percentuale media di pazienti sottoposti a trattamento con gli antibiotici oggetto dello studio per giorno (DDD%).

RISULTATI

La Tabella 1 riporta, in percentuale, i principali materiali dai quali è stato isolato *P. aeruginosa*. La più frequente fonte di isolamento per *P. aeruginosa* è il tratto respiratorio. Infatti gli isolati provenienti da escreato e da lavaggio broncoalveolare rappresentano più del 40% del totale degli isolati. Da segnalare anche l'elevata percentuale (26%) di isolati provenienti da materiali vari, ovvero tamponi da ferita e da piaghe da decubito, e cateteri, mentre gli isolamenti di *P. aeruginosa* da urino-coltura e da emocoltura

Tabella 1 - Materiali di isolamento di *P. aeruginosa*.

Materiale	%
Escreato	25
Broncoaspirato	18
Urine	10
Tamponi auricolari	9
Emocolture	4.5
Materiali vari *	26

* = sono stati definiti come provenienti da materiali vari i microrganismi isolati da ferite, cateteri, piaghe da decubito.

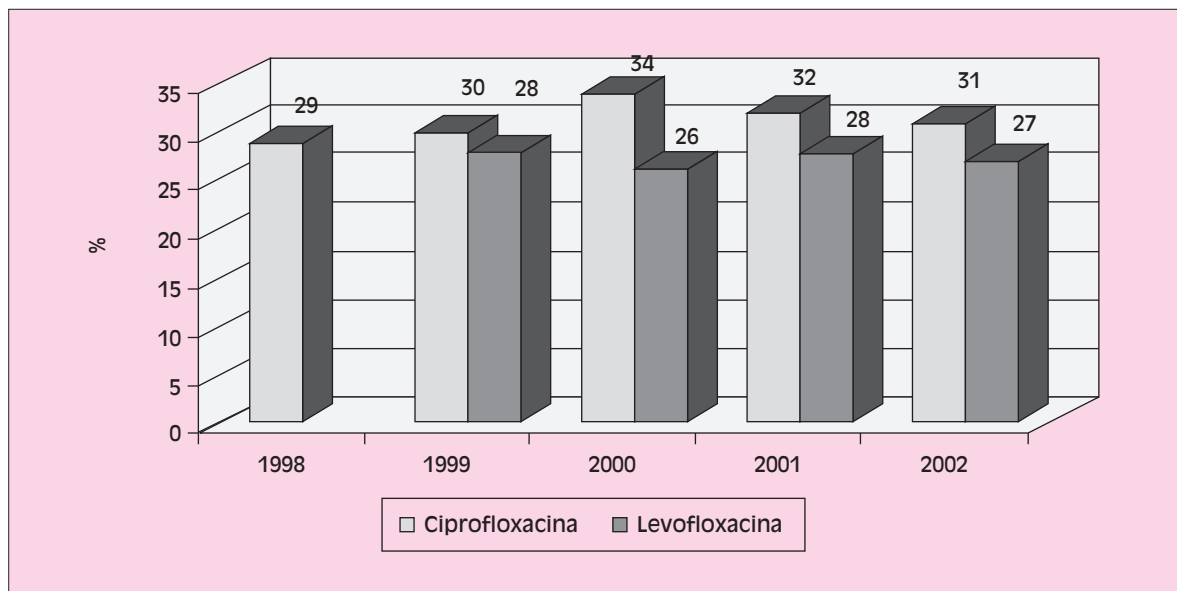


Figura 1 - Frequenza di resistenza di *P. aeruginosa* a ciprofloxacina e levofloxacina nel periodo 1998-2002.

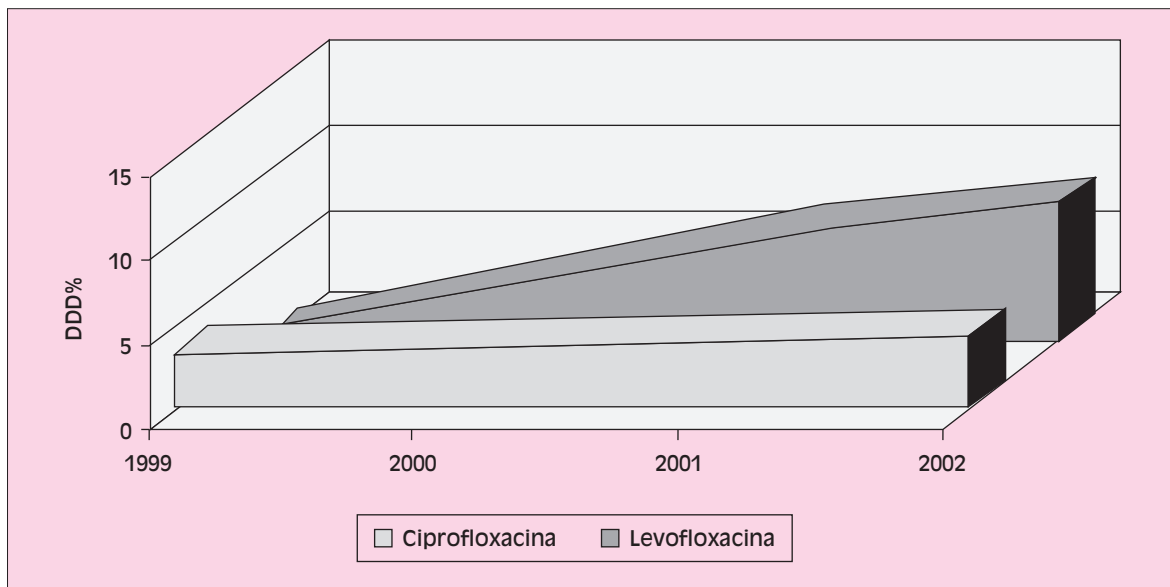


Figura 2 - Consumo di ciprofloxacina e levofloxacina espresso come DDD% (vedi testo) nel periodo 1999-2002.

avvenivano con minore frequenza. Questo quadro era confermato dal fatto che i reparti in cui veniva maggiormente isolato *P. aeruginosa* erano la rianimazione (13%) e la pneumologia (8%).

La sensibilità di *P. aeruginosa* a ciprofloxacina e levofloxacina nel periodo considerato è illustrata in Figura 1, dove è riportato il numero di isolati resistenti ai due antibiotici in misura percentuale. I dati indicano come, nel periodo considerato, non si sia verificato un aumento significativo dei livelli di resistenza a ciprofloxacina e levofloxacina. Infatti, la frequenza di isolati resistenti a levofloxacina, che nel 1999 risultava pari al 28%, è stata del 27% nel 2002, mentre quella dei ceppi resistenti a ciprofloxacina ha subito alcune variazioni passando dal 29% nel 1998 al 31% nel 2002, con un picco del 34% nel 2000.

La Figura 2 riporta il consumo medio di ciprofloxacina e levofloxacina registrato nella nostra Azienda Ospedaliera nel periodo 1999-2002. I dati sono espressi come percentuale media di pazienti al giorno sottoposti a trattamento con ciprofloxacina o con levofloxacina. Nel periodo oggetto del presente studio si è assistito a un incremento progressivo dell'impiego dei fluorochinoloni. In particolare, per levofloxacina si è passati dallo 0.5 % nel 1999 all'8.3% nel 2002, mentre per ciprofloxacina si è avuto un leggero aumento dei consumi, passando dal 3.4 % nel 1999 al 4.3% nel 2002.

DISCUSSIONE

Sin dalla loro introduzione nella pratica clinica, soprattutto negli ultimi anni, i fluorochinoloni sono stati caratterizzati da un impiego crescente per il trattamento di una sempre più vasta varietà di infezioni, sia a livello ospedaliero che ambulatoriale. Le cause di questo successo sono da ricercarsi nelle favorevoli caratteristiche di tollerabilità, cinetica e biodisponibilità e, soprattutto, nella notevole attività nei confronti di uno svariato gruppo di microrganismi [16-19]. Il meccanismo d'azione di queste molecole prevede l'inibizione della sintesi di DNA mediante la formazione di un legame stabile tra l'antibiotico e le topoisomerasi batteriche [20].

Tuttavia, negli ultimi anni, alcuni studi a livello internazionale hanno evidenziato un costante e preoccupante aumento della resistenza a ciprofloxacina e levofloxacina nei batteri Gram-negativi, con differenze a volte significative in relazione alla localizzazione geografica dell'isolamento [6-8]. Sebbene non caratterizzate al meglio, queste differenze sono probabilmente dovute a due fattori principali: 1. un diverso utilizzo degli antibiotici; 2. differenze nei protocolli di controllo delle infezioni [7]. Tutto ciò è avvalorato dal fatto che un uso esteso di un antibiotico può essere in parte responsabile dell'insorgenza e della diffusione di isolati ad essi resistenti [14-15]. La presenza di differenze relative all'area geografica considerata è stata ri-

badita anche a livello nazionale. Uno studio dell'Osservatorio Epidemiologico Italiano sulla sensibilità di bacilli Gram-negativi a diversi antibiotici ha dimostrato una differenza di attività, talvolta considerevole, a seconda che vengano considerati il Nord, il Centro o il Sud Italia [21]. A causa della frequente multiresistenza mostrata da *P. aeruginosa*, la scelta sul piano clinico della migliore terapia empirica deve essere possibilmente orientata dalla sensibilità riscontrata a livello locale [6].

Per questi motivi abbiamo voluto valutare la diffusione della resistenza a levofloxacina e ciprofloxacina in isolati clinici di *P. aeruginosa*, verificando, inoltre, se questa resistenza risulta in qualche modo influenzata dalla diffusione dell'uso di questi antibiotici.

I risultati ottenuti in questo studio indicano che nel periodo considerato non si è assistito ad un aumento significativo della frequenza di isolamento di ceppi di *P. aeruginosa* resistenti a ciprofloxacina e levofloxacina. I dati ottenuti sono in parte comparabili a quella che è la situazione riportata dallo studio SENTRY per i paesi europei [6, 7]. Tuttavia, mentre nel corso degli anni il programma SENTRY sembrerebbe indicare un progressivo aumento della frequenza di ceppi di *P. aeruginosa* resistenti a levofloxacina, le cui percentuali di resistenza sono sovrapponibili a quelle osservate per ciprofloxacina, i risultati ottenuti nel presente studio sembrano evidenziare per *P. aeruginosa* una lieve differenza nella resistenza ai due fluorochinoloni, dove le percentuali di ceppi resistenti a levofloxacina appaiono leggermente in-

feriori a quelle osservate alla ciprofloxacina. Inoltre, nel nostro studio la frequenza di isolamento di ceppi resistenti a ciprofloxacina, evidenziata nel 2002, è molto simile a quella riportata da uno studio multicentrico sul territorio italiano (30.7%), mentre la quota di isolati presso il nostro laboratorio classificati come resistenti a levofloxacina risulta più bassa (27% vs 32.1%) [19]. Ciò potrebbe essere ascrivibile alle differenze a livello geografico già accennate in precedenza.

I dati relativi al consumo dei due antibiotici, nel periodo preso in considerazione dal nostro studio hanno mostrato un incremento nell'uso di levofloxacina con un trend positivo pari a + 7.8% nel periodo 1999 - 2002, e un lieve aumento per il consumo di ciprofloxacina (+0.9 dal 1999 al 2002). Rapportando l'uso dei due fluorochinoloni alla loro frequenza di resistenza, si evidenzia che l'incremento progressivo della DDD% di levofloxacina non ha determinato una pressione selettiva su *P. aeruginosa* e, quindi, nessun aumento significativo della resistenza a tali molecole.

In ultima analisi, va anche sottolineato il fatto che i dati presentati in questo studio, seppur analizzando un congruo numero di isolati, si riferiscono ad un ambito ristretto come la nostra Azienda Ospedaliera, dove comunque un efficiente ed organizzato Comitato delle Infezioni Ospedaliere opera una attenta politica di controllo delle resistenze.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, levofloxacin, ciprofloxacina, bacterial resistance.

RIASSUNTO

Obiettivo di questo studio è stata la valutazione della resistenza a ciprofloxacina e levofloxacina di 1917 isolati di *Pseudomonas aeruginosa* presso il Laboratorio di Microbiologia dell'Ospedale L. Sacco di Milano, nel periodo gennaio 1998 - ottobre 2002.

Per quanto riguarda il materiale di isolamento, il 25% degli isolati clinici proveniva da escreato, il 18% da broncoaspirato, il 26% da materiali vari, il 10% da urino-colture, il 9% da tamponi auricolari e il 4,5% da emocolture.

I ceppi di *P.aeruginosa* risultati resistenti a ciprofloxacina sono stati 121/ 411 (29%) nel 1998, 158/ 526 (30%) nel 1999, 136/ 400 (34%) nel 2000, 129/ 390 (33%) nel 2001 e 53/ 190

(28%) nel 2002. I dati relativi alla resistenza di *P. aeruginosa* a levofloxacina erano: 132 su 472 (28%) nel 1999, 104 su 400 (26%) nel 2000, 101 su 390 (26 %) nel 2001 e 47 su 190 (25%) nel 2002.

I risultati ottenuti indicano come, nel periodo considerato, non si sia verificato un significativo aumento di resistenza ai fluorochinoloni oggetto dello studio, pur con qualche oscillazione per ciprofloxacina. Inoltre, diversamente da quanto riportato in alcuni studi, non si è osservato un livellamento della frequenza di resistenza a ciprofloxacina e a levofloxacina, con quest'ultima sempre inferiore alla prima.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate resistance rates to ciprofloxacin and levofloxacin of *Pseudomonas aeruginosa* (n=1917 strains) isolated at Laboratory of Microbiology at L. Sacco Teaching Hospital in Milan, Italy in the period between January 1998 and October 2002.

Twenty-five percent of tested strains were isolated from sputum, 18% from bronchial lavage, 10% from urine, 9% from ear, 4.5% from blood and 26% from other materials.

Ciprofloxacin-resistant strains were 121/ 411 (29%) in 1998, 158/ 526 (30%) in 1999, 136/

400 (34%) in 2000, 129/ 390 (33%) in 2001 and 53/ 190 (28%) in 2002. Resistance rates for levofloxacin were 132/472 (28%) in 1999, 104/ 400 (26%) in 2000, 101/ 390 (26 %) in 2001 and 47/ 190 (25%) in 2002.

Our data highlight overall stability in resistance to ciprofloxacin and levofloxacin with minor variations for ciprofloxacin. Moreover, in contrast with international worldwide studies, resistance rates to ciprofloxacin remained higher than those related to levofloxacin throughout the period studied.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Hancock R.E.W. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin. Infect. Dis.* 27 (Suppl. 1), S93-S99, 1998.
- [2] Bonfiglio G., Laksai Y., Franchino L., Amicosante G., Nicoletti G. Mechanisms of b-lactam resistance amongst *Pseudomonas aeruginosa* isolated in an Italian survey. *J. Antimicrob. Chemother.* 42, 697-702, 1998.
- [3] Vahaboglu H., Coskun F., Tansel O., et al. Clinical importance of extended spectrum beta-lactamase (PER-1 type)-producing *Acinetobacter spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J. Med. Microbiol.* 50, 642-645, 2001.
- [4] Waterer G.W., Wunderink R.G. Increasing threat of Gram-negative bacteria. *Crit. Care Med.* 29 (Suppl.4), N75-N81, 2001.
- [5] Chastre J., Trouillet J.L. Problem pathogens (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*). *Sem. Resp. Infect.* 15, 287-298, 2000.
- [6] Jones R.N., Kirby J.T., Beach M.L., Biedenbach D.J., Pfaller M.A. Geographic variations in activity of broad spectrum β -lactams against *Pseudomonas aeruginosa*: summary of the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 43, 239-243, 2002.
- [7] Gales A.C., Jones R.N., Turnidge J., Rennie R., Ramphal R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. *Clin. Infect. Dis.* 32, (Suppl 2), S146-S155, 2001.
- [8] Jones R.N., Pfaller M.A. In vitro activity of newer fluoroquinolones for respiratory tract infections and emerging patterns of antimicrobial resistance: data from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin. Infect. Dis.* 31 (Suppl 2), S16-23, 2000.
- [9] Hurst M., Lamb H.M., Scott L.J., Figgitt D.P. Levofloxacin: an updated review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 62, 2127-2167, 2002.
- [10] Schaeffer A.J. The expanding role of fluoroquinolones. *Am. J. Med.* 113 (Suppl 1A), 45S-54S, 2002
- [11] Bonfiglio G. Is levofloxacin as active as ciprofloxacin against *P. aeruginosa*? *Chemotherapy* 47, 239-242, 2001.
- [12] Segatore B., Setacci D., Perilli M., et al. Italian survey on comparative levofloxacin susceptibility in 334 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 428-431, 1999.
- [13] Karlowsky J.A., Kelly L.J., Thornsberry C., et al. Susceptibility to fluoroquinolones among commonly isolated Gram-negative bacilli in 2000: TRUST and TSN data for the United States. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 19, 21-31, 2002.
- [14] Richard P., Delangle M.H., Raffi F., Espaze E., Richet H. Impact of fluoroquinolone administration on the emergence of fluoroquinolone-resistant gram-negative bacilli from gastrointestinal flora. *Clin. Infect. Dis.* 32, 162-166, 2001.
- [15] Kolar M., Latal T., Hajek V. Development of bacterial resistance to the third generation cephalosporins and their clinical use. *J. Chemother.* 11, 260-265, 1999.
- [16] Blondeau JM. A review of the comparative in-vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on five new "respiratory quinolones". *J. Antimicrob. Chemother.* 43 (Suppl B), 1-11, 1999.
- [17] Bauerfeind A. Comparison of the antibacterial activity of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.* 40, 639-651, 1997.
- [18] Aminimanizani A., Beringer P., Jelliffe R. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Clin. Pharmacokin.* 40, 169-187, 2001.
- [19] Gesu G.P., Marchetti F., Piccoli L., Cavallero A. Levofloxacin and ciprofloxacin in vitro activities against 4,003 clinical bacterial isolates collected in 24 Italian laboratories. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 816-819, 2003.
- [20] Shen L.L. Molecular mechanisms of DNA gyrase inhibition by quinolone antibacterials. *Adv. Pharmacol.* 29A, 285-304, 1994.
- [21] Spanu T., Ardito F., Velardi G., Siddu A., Fadda G. Attività in vitro di b-lattamici, aminoglicosidi e ciprofloxacin nei confronti di 515 ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* isolati dalle secrezioni respiratorie di pazienti ospedalizzati. *Microbiologia Medica* 14 (Suppl.1), S1-S11, 1999.