

Kinopristin/ Dalfopristin ve Diğer Sekiz Antimikrobiyal Ajanın Gram Pozitif Koklar Üzerine in Vitro Etkinliği

Veysel DOĞANAY¹
Ahmet KIZIRGİL²

¹ Tunceli Devlet Hastanesi,
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Bölümü
Tunceli-TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Elazığ-TÜRKİYE

Kinopristin/dalfopristin streptogramin grubundan parenteral uygulanabilen ilk antibiyotiktir. Bu çalışmada kinopristin/dalfopristin ve yaygın olarak kullanılan, diğer sekiz antimikrobiyal ilacın Gram pozitif koklar üzerine in vitro etkinliğinin saptanması amaçlandı.

Klasik bakteriyolojik yöntemler kullanılarak tür düzeyinde tanımlanan 71 Staphylococcus aureus (S. aureus), 97 koagülaz negatif stafilokok (KNS), 74 enterokok ve 58 streptokok türü çalışmaya alındı. Bu suşların kinopristin/dalfopristin ve diğer antibiyotiklere karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı.

S. aureus ve KNS'ların tamamı, E. faecalis suşlarının %13.6'sı ve E. faecium suşlarının %72.7'si kinopristin/dalfopristine duyarlı bulundu. Diğer antibiyotikler içerisinde Gram pozitif koklar üzerine en etkili antibiyotiklerin vankomisin ve teikoplanin olduğu gözlemlendi. Kinopristin/dalfopristin kombinasyonunun dirençli Gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kinopristin/dalfopristin, Gram pozitif kok, in vitro antibiyotik duyarlılığı, disk difüzyon yöntemi.

In Vitro Activities of Quinopristin/Dalfopristin and Eight Other Antimicrobial Agents against Gram Positive Cocci

Quinopristin/dalfopristin is the first parenteral streptogramin antibiotic. In this study, we aimed to investigate in vitro activity of quinopristin/dalfopristin and the other widely used eight antibiotics against Gram positive cocci.

Seventy-one Staphylococcus aureus, 97 coagulase negative staphylococci, 74 enterococci and 58 streptococci which were identified species level using standard bacteriologic method, were included in the study. Antibiotic susceptibility of these strain against Quinopristin/dalfopristin and other antimicrobial agents were investigated using disc diffusion method.

The all of S. aureus and coagulase negative staphylococci, 13.6% of E. faecalis strains and 72.7% of E. faecium strains were detected as susceptible to quinopristin/dalfopristin. Vancomycin and teikoplanin were detected most active antibiotic against Gram positive cocci amongst other antimicrobial agents. Quinopristin/dalfopristin combination might be as an alternative agent for treatment of infections due to resistant Gram positive bacteriae.

Key Words: In Vitro Activities of Quinopristin/Dalfopristin and Eight Other Antimicrobial Agents against Gram Positive Cocci.

Giriş

Son yıllarda, antibakteriyel tedavideki gelişmelere karşın, çok ilaca dirençli Gram pozitif kokların neden oldukları enfeksiyonların sıklığında artış gözlenmektedir (1, 2). En sık sorun oluşturan patojenler arasında; metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), penisiline dirençli Streptococcus pneumoniae ve vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) yer almaktadır (3). Bu mikroorganizmaların genellikle makrolidler, florokinolonlar ve aminoglikozidler gibi sık kullanılan diğer antibiyotiklere karşı dirençli olmaları tedavi sorunlarını beraberinde getirmektedir (4). Bu tür enfeksiyonların tedavisinde vankomisin ve teikoplanin gibi son seçenek ilaçların daha fazla kullanılması bu ilaçlara karşı direnç gelişiminin artmasına neden olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çok ilaca dirençli patojenlere karşı yeni ve etkin ilaçların kullanılması zorunluluk haline gelmiştir (5).

Kinopristin/dalfopristin; semisentetik streptograminler olan kinopristin ve dalfopristininin 30:70 oranında kombinasyonundan oluşan, suda eriyebilen, parenteral uygulanan bir antibiyotiktir. 50S ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini inhibe ederek etkisini gösterir (6). Gram pozitif aeroplara çoğuna, önemli Gram negatif anaeroplara, Gram pozitif anaeroplara ve hücre içi bakterilere etkilidir (3).

Geliş Tarihi : 19.03.2007
Kabul Tarihi : 18.04.2007

Yazışma Adresi Correspondence

Ahmet KIZIRGİL
Fırat Üniversitesi
Tıp Fakültesi,

Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Elazığ-TÜRKİYE

ahmetkizirgil@hotmail.com

Özellikle çoklu ilaç direncine sahip mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılması önerilmektedir (4). Bu çalışmada Türkiye'de henüz kullanıma girmemiş, ancak yakın gelecekte kullanılması olası Kinopristin/dalfopristin'in Gram pozitif koklara karşı invitro etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bakteri Suşları: Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi polikliniklerine başvuran veya çeşitli nedenlerden dolayı yatarak tedavi gören hastaların çeşitli klinik örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan 300 Gram pozitif kok çalışmaya alındı. Klinik örnekler uygun besiyerlerine ekildikten sonra 35oC'de 18- 24 saat inkübe edildi. Geleneksel bakteriyolojik yöntemler ve gerektiğinde API ID Staph (Bio-Mérieux/France) ve API ID Strep (Bio-Mérieux/France) tanı kitleri kullanılarak üreyen bakteriler tür düzeyinde tanımlandı (7).

Duyarlılık Testi: Tür düzeyinde tanımlanan bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Taze bakteri kültürlerinden steril fizyolojik tuzlu su içerisinde 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlanarak Mueller Hinton agar (Oxoid) yüzeyine yayıldı. Daha sonra agar plağı yüzeyine stafilkok türleri için penisilin (P-10ünite), oksasilin (OX-1µg), azitromisin (AZM-15µg), siprofloksasin (CIP-5µg), klindamisin (DA-2µg), rifampin (RD-5µg), vankomisin (VA-30µg), teikoplanin (TEC-30µg), ve kinopristin/dalfopristin (K/D-15µg) diskleri; enterokok ve streptokok türleri için penisilin (P-10ünite), kloramfenikol (C-30µg), gentamisin (CN-10µg), siprofloksasin (CIP-5µg), vankomisin (VA-30µg), teikoplanin (TEC-30µg), ve kinopristin/dalfopristin (K/D-15µg) diskleri (OXOID) yerleştirilerek 35oC'de 18- 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek bakterilerin duyarlılık durumları saptandı (8).

Disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zonları vankomisin ≤15mm ve teikoplanin ≤14mm olan stafilkoklar ile vankomisin ≤17mm ve teikoplanin ≤14mm ölçülen enterokokların vankomisin ve teikoplanin direncini doğrulamak için E-test yöntemi (AB- Biodisk,

Solna, Sweden) ile minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) araştırıldı. E-test şeritleri üretici firma önerileri doğrultusunda kullanıldı. Disk difüzyon deneylerinde kalite kontrol suşu olarak S. aureus ATCC 25923 suşu kullanıldı.

Bulgular

Çalışmaya alınan suşların; 71'i (%23.6) S. aureus, 97'si (%32.3) KNS, 74'ü (%24.6) enterokok türleri ve 58'i (%19.3) diğer streptokok türleri olarak tanımlandı. Çalışmaya alınan bakterilerin tür düzeyinde dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerin tür düzeyinde dağılımı

Bakterinin adı	Sayı	%
Staphylococcus aureus	71	23.6
Staphylococcus epidermidis	52	17.3
Staphylococcus saprophyticus	17	5.6
Staphylococcus hominis	16	5.3
Staphylococcus haemolyticus	5	1.6
Staphylococcus warneri	3	1.0
Staphylococcus schleiferi	2	0.6
Staphylococcus caprae	2	1.6
Enterococcus faecalis	44	14.6
Enterococcus faecium	22	7.3
Enterococcus avium	5	1.6
Enterococcus hirae	3	1.0
Streptococcus spp.	27	9.0
D grubu streptokok	16	5.3
A grubu streptokok	6	2.0
B grubu streptokok	6	2.0
Streptococcus pneumonia	3	1.0
Toplam	300	100.0

Metisilin direnci S. aureus suşları arasında %23.9, koagülaz negatif stafilkoklar arasında ise %38.8 olarak bulunmuştur. Stafilkokların tümünün penisiline karşı dirençli olduğu gözlenmiş olup, sadece S. schleiferi suşlarının tümü penisiline duyarlı bulunmuştur. Kinopristin/dalfopristin'in stafilkokların tümüne etkili olduğu gözlenmiştir. Stafilkok suşlarının çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Stafilkok suşlarının antibiyotiklere duyarlılık oranları (%)

Bakterinin adı	OX	E	AZM	CIP	DA	RD	VA	TEC	K/D
S. aureus (71)	76.1	62.5	62.5	65.9	90.4	92.2	100.0	100.0	100.0
S. epidermidis (52)	34.6	25.3	25.3	55.4	51.3	82.3	100.0	100.0	100.0
S. saprophyticus (17)	70.5	50.0	50.0	63.3	83.3	90.2	100.0	100.0	100.0
S. hominis (16)	50.0	37.5	37.5	43.4	87.5	87.5	100.0	100.0	100.0
S. haemolyticus (5)	40.0	41.6	41.6	41.6	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
S. warneri (3)	33.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
S. schleiferi (2)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
S. caprae (2)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

OX: Oksasilin, **E:** Eritromisin, **AZM:** Azitromisin, **CIP:** Siprofloksasin, **DA:** Klindamisin, **RD:** Rifampisin, **VA:** Vankomisin, **TEC:** Teikoplanin, **K/P:** Kinopristin/dalfopristin

Kinopristin/dalfopristin'in streptokok türlerine karşı etkinlikleri incelendiğinde; B grubu streptokokların %16.7'sinin orta derecede duyarlı olduğu; D grubu streptokokların %25'inin orta derecede duyarlı, %56.3'ünün dirençli olduğu; E. faecalis suşlarının %39'unun orta derecede duyarlı, %47.4'ünün dirençli olduğu; E. faecium suşlarının %13.6'sının orta derecede duyarlı, %13.6'sının dirençli; E. avium suşlarının %40'inin orta derecede duyarlı ve E. hirae suşlarının tamamının orta derecede duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu bulgular ışığında; kinopristin/dalfopristin'e karşı en dirençli mikroorganizmanın E. faecalis ve D grubu streptokoklar olduğu gözlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemi ile glikopeptidlere dirençli olduğu gözlenen 8 E. faecalis suşunun E-test yöntemi ile MİK düzeylerine bakıldığında; iki suşun 8 µg/ml, beş suşun 6 µg/ml ve bir suşun ise 8 µg/ml MİK değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Sonuçta sekiz E. faecalis suşunun glikopeptidlere orta derecede duyarlı olduğu gözlenmiş ve enterokoklar arasında vankomisin direnci saptanmamıştır. Streptokok türlerinin çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Streptokok türlerinin antibiyotik duyarlılık oranları (%)

Bakterinin adı	P	E	C	CN	CIP	VA	TEC	K/D
A grubu streptokok (6)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
B grubu streptokok (6)	66.6	50.0	100.0	100.0	66.6	100.0	100.0	83.3
D grubu streptokok (16)	0.0	62.5	68.7	62.5	0.6	100.0	100.0	18.7
Streptococcus pneumonia (3)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Streptococcus spp. (27)	33.3	48.1	77.7	81.4	40.7	100.0	100.0	100.0
Enterococcus faecalis (44)	9.0	15.9	70.4	90.9	56.8	84.1	97.7	13.6
Enterococcus faecium (22)	0	31.8	45.4	63.6	4.5	100.0	100.0	72.7
Enterococcus avium (5)	0	80.0	100.0	100.0	40.0	100.0	100.0	60.0
Enterococcus hirae (3)	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0	0

P: Penisilin, **E:** Eritromisin, **C:** Kloramfenikol, **CN:** Gentamisin, **CIP:** Siprofloksasin, **VA:** Vankomisin, **TEC:** Teikoplanin, **K/P:** Kinopristin/dalfopristin

Tartışma

Kinopristin/dalfopristin ilk parenteral uygulanabilen streptogramin türevi antibiyotiktir ve Gram pozitif bakterilere karşı geniş oranda antimikrobiyal etkinlik gösterir (9). Günümüze kadar, kinopristin/dalfopristine karşı düşük oranda bakteriyel direnç bildirilmiştir. Ancak; bazı protein sentez inhibitörleri ile çapraz direnç tanımlanmıştır (10). Uzamış post-antibiyotik etkisi ve iyi hücre içi geçişi ve biyofilm tabaka üzerinde üreyen bakterilere etkili olması kinopristin/dalfopristinin antimikrobiyal etkinliğine katkıda bulunmaktadır. Kinopristin/dalfopristinin MRSA dahil çok ilaca dirençli stafilokoklara, penisilin dirençli S. pneumonia ve E. faecium'a karşı etkili olduğu, MRSA ve MRKNS'lerin tümüne düşük MİK düzeylerinde (0.5- 2µg/ml) etkili olduğu bildirilmiştir (3, 11-14).

İn vitro çalışmalar kinopristin/dalfopristinin tek başına ve diğer antibiyotiklerle kombine kullanımının ümit verici olduğunu göstermektedir (9). Aeschlimann ve ark. (15) kinopristin/dalfopristinin doksisisiklin ile kombinasyonunun kinopristin/dalfopristine direnci azalttığını bildirmişlerdir. Vouillamoz ve ark. (16) eritromisine dirençli MRSA'larda kinopristin/dalfopristinin sefamandol, sefuroksim, seftriakson, imipenem, sefepim ve amoksisilin ile kombinasyonunun sinerjik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yurt içinde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda metisiline dirençli ve duyarlı S. aureus ile KNS suşlarının tamamının kinopristin/dalfopristine duyarlı olduğu bildirilmiştir (4, 17, 18). Sunulan çalışmada metisiline dirençli ve duyarlı tüm stafilokokların kinopristin/ dalfop-

ristin'e duyarlı olduğu gözlendi. Bu durum kinopristin/dalfopristin etkinliğinin metisilin direncinden etkilenmediğini göstermektedir. Aynı zamanda kinopristin/dalfopristin etkinliği açısından koagülaz olumlu ve olumsuz türler arasında fark saptanmamıştır.

Enterokokların kinopristin/dalfopristin duyarlılıkları incelendiğinde; E. faecalis suşlarının E. faecium suşlarından daha dirençli olduğu bildirilmektedir (19). Barry ve ark (19) 359 E. faecalis suşunun %6'sının, 94 E. faecium suşunun %94'ünün kinopristin/dalfopristine duyarlı olduğunu; Tünger ve ark (3) 96 VREF suşunun %94.8'inin kinopristin/dalfopristine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ise kinopristin/dalfopristin duyarlılığının E. faecalis suşlarında %13.6, E. faecium suşlarında ise %72.7 olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak metisiline duyarlı ve metisiline dirençli stafilokok suşlarına karşı yüksek düzeyde in vitro etkinliğe sahip olması, intrinsik dirence sahip olan E. faecalis dışındaki tüm enterokok ve streptokoklara etkili olması nedeniyle kinopristin/dalfopristinin uygun endikasyonu olduğu durumlarda, özellikle çok ilaca dirençli Gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Linden PK. Clinical implications of nasocomial gram-positive bacteremia and superimposed antimicrobial resistance. *Am J Med* 1998; 104: 3-12.
2. Center for Disease Control. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin- United States, 1983-1993. *Mortality and Morbidity Weekly Report* 1993; 42: 597-599.
3. Tünger A, Aydemir Ş, Uluer S, Cilli F. In-vitro activity of linezolid & quinopristin/ dalfopristin against Gram-positive cocci. *Indian J Med Res* 2004;120: 546-552.
4. Baysallar M, Kilic A, Aydogan H, Cilli F, Doganci L. Linezolid and quinopristin/ dalfopristin resistance in vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prior to clinical use in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2004; 2: 510-512.
5. Klastersky J. Science and pragmatism in the treatment and prevention of neutropenic infection. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 13-24.
6. DH Bouanchaud. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of quinopristin/dalfopristin. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39(Suppl. A): 15-21.
7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th edition, Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1997: 539- 650.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute.. Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onbeşinci bilgi eki, Wayne, PA: CLSI, 2005, M100-S15.
9. Allington DR, Rivey MP. Quinopristin/dalfopristin: A Therapeutic review. *Clinical Therapeutics* 2001; 23: 24-44.
10. Hwang SH, Kim MN, Pai CH, Huh DH, Shin WS. In Vitro Activities of quinopristin/dalfopristin and Eight Other Antimicrobial Agents against 360 Clinical Isolates from Korea. *Yonsei Medical Journal* 2000; 41(5):563-569.
11. Rubinstein E, Bompert F. Activity of quinopristin/dalfopristin against Gram-positive bacteria: clinical applications and therapotic potential. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 139-143.
12. Klastersky J. Role of quinopristin/dalfopristin in the treatment of Gram-positive nasocomial infections in haemalogical or oncological patients. *Cancer Treatment Reviews* 2003; 29: 431-40.
13. Eliopoulos GM. Quinopristin-Dalfopristin and Linezolid: Evidence and Opinion. *Reviews of Anti-Infective Agents CID*, 2003; 36: 473-481.
14. Livermore DM. Quinopristin/ dalfopristin and linezolid: Where, when, which and Whether to Use? *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 347-350.
15. Aeschlimann JR, Zervos MJ, Rybak MY. Treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* RP 59500 (quinopristin/dalfopristin) administered by intermited or continuous infusion, alone or in combination with doxycycline, in an in vitro model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2710-2717.
16. Vouillomoz J, Entenza JM, Feger C, Glauser MP, Moreillon P. Quinopristin-dalfopristin combined with beta-lactams for treatment of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus* constitutively resistant to macrolide-lincosamide-streptogramin B antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(7):1789-1795.
17. Archer GL, Climo MW. Treatment of vancomycin-resistant staphylococcal infections. *Annals of Pharmacotherapy* 1996;30: 288-290.
18. Witte W. Antibiotic resistance in Gram-positive bacteria: epidemiological aspects. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 1-9.
19. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. Susceptibility to RPR 106972 quinopristin/dalfopristin and erythromycin among recent clinical isolates of enterococci, staphylococci and streptococci from North American Medical Centres. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 651-55.