

Strokovni prispevek/Professional article

DELEŽ PROTI CIPROFLOKSACINU ODPORNIH KLIC CITROBACTER FREUNDII PRI BOLNIKIHZ AKUTNO LEVKEMIJO, KI PREJEMAJOCIPROFLOKSACIN ZARADI PREPREČEVANJABAKTERIJSKIH OKUŽB

PERCENTAGE OF CIPROFLOXACIN-RESISTANT STRAINS OF CITROBACTER FREUNDII IN ACUTE LEUKAEMIA PATIENTS WITH CIPROFLOXACIN PROPHYLAXIS

Rika Strauch¹, Alenka Andlovic², Peter Černelč¹

¹ Klinični oddelek za hematologijo, SPS Interna klinika, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, Ljubljana

Prispelo 2004-03-01, sprejeto 2004-03-11; ZDRAV VESTN 2004; 73: Suppl. I: 179-82

Ključne besede: nadzorne bakterijske kužnine; enterobakterije; odpornost klic proti številnim antibiotikom; laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja

Izvleček – Izhodišča. Avtorji so preverili učinkovitost preprečevanja okužb s ciprofloksacinom pri bolnikih z akutno levkemijo (AL) med zdravljenjem s citostatiki na Kliničnem oddelku za hematologijo (KOH). V zadnjih letih so opazili večjo pogostnost klice *Citrobacter freundii* (*C. freundii*), ki je bila odporna proti ciprofloksacinu. Z raziskavo so želeli ugotoviti, kako pogosto se ta klica pojavlja, saj je to pomembno pri odločitvi za nadaljnjo preventivno rabo ciprofloksacina. Predvidevajo, da je delež klic *C. freundii* majhen in da je ciprofloksacin pri večini bolnikov učinkovit.

Bolniki in metode. V obdobju od 01. 08. 2001 do 01. 08. 2002 smo zdravili s citostatiki 45 bolnikov z AL. Vsi so profilaktično prejeli ciprofloksacin 2 × 500 mg na dan. V retrospektivno raziskavo smo zajeli vse bolnike, pri katerih smo iz nadzornih kužnin osamili *C. freundii* (*n* = 11) ter preverili občutljivost klice na antibiotike. Občutljivost smo določali po navodilih National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) z difuzijskim načinom na diskih in z določitvijo minimalne zaviralne koncentracije (MIK).

Rezultati. *C. freundii* smo osamili pri 11 bolnikih, ki se zdravijo zaradi AL. *C. freundii*, ki izdeluje laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja, smo osamili pri šestih bolnikih (54,5%). Proti ciprofloksacinu odporni *C. freundii* smo osamili pri šestih bolnikih (54,5%). Pri šestih bolnikih (54,5%) smo osamili klico, ki je odporna proti ciprofloksacinu in izdeluje laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja. Pri bolnikih s *C. freundii* (*n* = 11) so skoraj polovico izoliranih klic predstavljali po Gramu negativni bacili (45,2%, *n* = 292), predvsem iz družine enterobakterij. Proti ciprofloksacinu je bilo odpornih več kot polovica enterobakterij, tretjina enterobakterij pa je izdelovala laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja. Med 131 enterobakterijami so *C. freundii* osamili sedemintridesetkrat (28,2%).

Key words: surveillance bacterial cultures; enterobacteria, multi-resistant strains; extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)

Abstract – Background. Authors tried to determine an efficiency of ciprofloxacin as infection prophylaxis in patients with acute leukaemia treated at the Department of Haematology in Clinical Center of Ljubljana. Due to cytotoxic chemotherapy, aplasia of bone marrow is inevitable. Therefore, these patients are at high risk for bacterial and fungal infection. The authors have noticed a rise in the number of ciprofloxacin-resistant strains of *Citrobacter freundii* and decided to find out if ciprofloxacin is still usable in this setting.

Patients and methods. 45 patients with acute leukaemia were admitted to the Department of Haematology in the Clinical Center of Ljubljana during the year 2001 and 2002. All the patients received ciprofloxacin 2 × 500 mg on a daily basis. *Citrobacter freundii* was isolated in 11 patients, to whom we determined the proportion of ciprofloxacin-resistant strains of *Citrobacter freundii* and other Enterobacteriaceae. Susceptibility testing was done by the NCCCLS standards by the disc diffusion method and minimal inhibitory concentration.

Results. *C. freundii* was isolated in 11 patients with AL. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) *C. freundii* was isolated in 6 patients (54.5%). Ciprofloxacin-resistant *C. freundii* was isolated in 6 patients (54.5%). Six patients (54.5%) had ciprofloxacin-resistant *C. freundii* which was ESBL positive at the same time. In AL patients with *C. freundii* (*n* = 11) almost half of isolated bacteria were Gram negative bacilli (45.2%, *n* = 292), mostly from the family of Enterobacteriaceae. More than half of enterobacteria were ciprofloxacin-resistant, one third of them were also ESBL positive. Out of 131 enterobacteria, *C. freundii* was isolated 37 times. (28.2%).

Conclusions. *C. freundii* was isolated in one fourth of AL patients. Half of the isolates were ciprofloxacin-resistant. The same was true for isolated enterobacteria. Almost all of cipro-

Zaključki. *C. freundii*, ki smo ga osamili pri četrtni bolnikov z AL, je bil v polovici primerov odporen proti ciprofloksacinu. Enterobakterije, ki smo jih osamili pri teh bolnikih, so bile prav tako v polovici primerov odporne proti ciprofloksacinu. Skoraj vse proti ciprofloksacinu odporne klice so izločale laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja (ESBL). Tako se postavlja vprašanje, če je uporaba ciprofloksacina za preprečevanje bakterijskih okužb še upravičena.

Uvod

Pri bolnikih z akutno levkemijo (AL) je velika nevarnost za okužbo huda nevtropenija s številom nevtrofilcev pod $0,5 \times 10^9/L$ (1). Preprečevanje in zdravljenje okužb pri nevtropeničnih bolnikih se je izkazalo za pomembno, ko so ugotovili, da so okužbe v več kot polovici primerov smrti pri bolnikih z AL (2).

Okužbe potekajo pri bolnikih z AL in hudo nevtropenijo hitro in z veliko smrtnostjo (3). Najpogostejši povzročitelji okužb pri nevtropeničnih bolnikih so po Gramu pozitivne bakterije, okužbe s po Gramu negativnimi bakterijami pa se večkrat končajo s smrtjo. Izkušveno zdravljenje z antibiotiki širokega spektra je uperjeno predvsem proti bacilom, negativnim po Gramu (4), saj sta najpogostejši povzročiteljici *E. coli* in *K. pneumoniae*, včasih pa tudi *Citrobacter* spp (5).

Najbolj razširjeni način za preprečevanje okužb so kinoloni. Pri samostojnem zdravljenju s kinoloni poročajo o hudih streptokoknih okužbah (6), pojavljajo pa se tudi odporni sevi stafilokokov in enterokokov (7), zato jih najpogosteje uporabljamo v kombinaciji z drugimi antibiotiki. Trimetoprim/sulfametoksazol redkeje uporabljamo za preprečevanje okužb pri nevtropeničnih, ker zavirata obnovitev kostnega mozga (8).

Preprečevanje in zmanjševanje okužb skušamo doseči tudi z osamitvijo bolnikov in podpornim zdravljenjem, s katerim skrajšamo obdobje nevtropenije. Pomembno vlogo pri preprečevanju okužb imajo še osebna nega bolnika in higiena zdravstvenega osebja. Z nadzornimi kužninami, ki smo jih vzeli enkrat na teden, smo korak pred klicami v primeru okužbe, saj poznamo spekter občutljivosti osamljenih klic na antibiotike.

Bolniki in metode

V raziskavo smo vključili 45 bolnikov z AL, ki so se zdravili na KOH v obdobju od 01. 08. 2001 do 01. 08. 2002. Preučiti smo želeli pojavnost proti ciprofloksacinu odpornega *C. freundii* in drugih enterobakterij. Vsi bolniki so prejeli ciprofloksacin 2×500 mg na dan kot zaščito pred bakterijskimi okužbami.

V retrospektivno raziskavo smo zajeli vse tiste bolnike, pri katerih smo iz kužnin osamili *C. freundii* vsaj v enem krogu zdravljenja s citostatiki ($n = 11$). Določili smo delež proti ciprofloksacinu odpornih sevov *C. freundii* in *C. freundii*, ki izločajo laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja (ESBL). V istih kužninah smo določili število in delež drugih klic iz družine enterobakterij ter njihovo odpornost proti ciprofloksacinu in beta laktamskim antibiotikom. Pri *C. freundii* smo določili odpornost proti vsem preskušanim antibiotikom. Občutljivost smo določali po navodilih National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) z difuzijskim načinom na diskih in z določitvijo minimalne zaviralne koncentracije (MIK) (9). Izločili smo vse bolnike, pri katerih iz kužnin nismo osamili *C. freundii* (33 bolnikov). Enega bolnika smo iz preiskave izključili, ker je umrl na začetku zdravljenja s citostatiki.

floxacin-resistant bacteria were ESBL positive. There is a question whether ciprofloxacin prophylaxis still remains an efficient method.

Rezultati

C. freundii smo osamili pri enajstih bolnikih, ki se zdravijo zaradi AL. *C. freundii*, ki izločajo ESBL, smo osamili pri šestih bolnikih (54,5%). Proti ciprofloksacinu odporni *C. freundii* smo osamili pri šestih bolnikih (54,5%). Pri šestih bolnikih (54,5%) smo osamili klico, ki je odporna proti ciprofloksacinu in izloča ESBC (Razpr. 1).

Razpr. 1. Število in delež bolnikov s *C. freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ in *C. freundii* + *C. freundii* ESBL⁺ pri 11 bolnikih z akutno levkemijo, pri katerih smo osamili *C. freundii*.

Table 1. Number and percentage of patients with *C. freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ and *C. freundii* + *C. freundii* ESBL⁺ in 11 patients with acute leukaemia with isolated *C. freundii*.

	Število Number	Delež Percentage
Št. bolnikov s <i>C. freundii</i> Number of patients with <i>C. freundii</i>	11	100,0
Št. bolnikov s <i>C. freundii</i> ESBL ⁺ Number of patients with <i>C. freundii</i> ESBL ⁺	6	54,5
Št. bolnikov s <i>C. freundii</i> CipR Number of patients with <i>C. freundii</i> CipR	6	54,5
Št. bolnikov s <i>C. freundii</i> CipR + <i>C. freundii</i> ESBL ⁺ Number of patients with <i>C. freundii</i> CipR + <i>C. freundii</i> ESBL ⁺	6	54,5

C. freundii - *Citrobacter freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ - *C. freundii*, ki izdeluje laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja, *C. freundii* CipR - proti ciprofloksacinu odporen *C. freundii*

C. freundii - *Citrobacter freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ - *C. freundii* with extended spectrum beta-lactamases, *C. freundii* CipR - ciprofloxacin-resistant *C. freundii*

Razpr. 2. Število in delež vseh izoliranih klic, po Gramu negativnih bacilov, enterobakterij in *C. freundii* pri 11 bolnikih z izolirano klico *C. freundii*.

Table 2. Number and percentage of isolated Gram-negative bacilli, Enterobacteriaceae and *C. freundii* in 11 patients with *C. freundii*.

n = 292	Število / Number	Delež / Percentage
Po Gramu negativni bacili <i>Gram-negative bacilli</i>	132	45,2
Enterobakterije <i>Enterobacteriaceae</i>	131	44,9
<i>C. freundii</i>	37	12,7

C. freundii - *Citrobacter freundii*

Pri bolnikih s *C. freundii* ($n = 11$) so bili v skoraj polovici primerov izolirane klice po Gramu negativni bacili (45,2%, $n = 292$), predvsem iz družine enterobakterij (Razpr. 2). Proti ciprofloksacinu je bilo odpornih več kot polovica enterobakterij, tretjina enterobakterij pa je izločala ESBC (Razpr. 3).

Med 131 enterobakterijami je bil *C. freundii* izoliran sedemdesetkrat (28,2%) (Razpr. 4). Njihova odpornost proti nekaterim antibiotikom je predstavljena v razporednici 5.

Razpr. 3. Število in delež proti ciprofloksacinu odpornih enterobakterij in enterobakterij ESBL⁺, izoliranih pri 11 bolnikih, ki so prejeli ciprofloksacin.

Table 3. Number and percentage of ciprofloxacin-resistant Enterobacteriaceae and Enterobacteriaceae ESBL⁺ in 11 patients on ciprofloxacin.

n = 131	Število / Number	Delež / Percentage
E. CipR	71	54,2
E. ESBL ⁺	36	27,5

E. ESBL⁺ - enterobakterije, ki izdeluje laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja, E. CipR - proti ciprofloksacinu odporne enterobakterije

E. ESBL⁺ - Enterobacteriaceae with extended-spectrum beta-lactamases, E. CipR - ciprofloxacin-resistant Enterobacteriaceae

Razpr. 4. Število in delež izoliranih klic *C. freundii* pri 131 izoliranih enterobakterijah pri 11 bolnikih z AL.

Table 4. Number and percentage of *C. freundii* in 131 Enterobacteriaceae in 11 patients with AL.

	Število / Number	Delež / Percentage
<i>C. freundii</i>	37	28,2
<i>C. freundii</i> CipR	22	16,8
<i>C. freundii</i> ESBL ⁺	21	16,0

C. freundii - *Citrobacter freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ - *C. freundii*, ki izdeluje laktamazo beta z razširjenim spektrom delovanja, *C. freundii* CipR - proti ciprofloksacinu odporen *C. freundii*, AL - akutna levkemija

C. freundii - *Citrobacter freundii*, *C. freundii* ESBL⁺ - *C. freundii* with extended-spectrum beta-lactamases, *C. freundii* CipR - ciprofloxacin-resistant *C. freundii*, AL - acute leukaemia

Razpr. 5. Antibiotiki, proti katerim so bile odporne izolirane klice *C. freundii*, so razvrščeni v zaporedju od učinkovitega do neučinkovitega.

Table 5. Resistance of *C. freundii* against antibiotics is listed from most to least effective antibiotic.

Antibiotiki Antibiotics	Število odpornih sevov Number of resistant strains	Delež Percentage
polimiksin B / polymyxin B	0	0
imipenem / imipenem	1	2,7
cefoksitin / cefoxitin	2	5,4
amikacin / amikacin	12	32,4
cefepim / cefepim	20	54,0
piperacilin/tazobaktam / piperacillin/tazobactam	21	56,7
aztreonam / aztreonam	21	56,8
ceftazidim / ceftazidim	22	59,5
ciprofloksacin / ciprofloxacin	22	59,5
cefotaksim / cefotaxime	23	62,2
netilmicin / netilmicin	23	62,2
piperacilin / piperacillin	24	64,9
cefoperazon / cefoperasone	25	67,6
cefuroksim / cefuroxime	25	67,6
gentamicin / gentamicin	25	67,6
trimetoprim/sulfametoksazol / trimethoprim/sulphamethoxazole	25	67,6
ampicilin/sulbaktam / ampicillin/sulbactam	27	73,0
amoksicilin/klavulonska kislina / amoxicillin/clavulanic acid	32	86,5
cefazolin / cephazolin	36	97
ampicilin / ampicillin	37	100

C. freundii - *Citrobacter freundii*

Razpravljanje

Odpornost klic iz družine Enterobacteriaceae proti ciprofloksacinu pri bolnikih z AL je pri nas večja, kot je opisana v literaturi (54% proti 14% (10)), čeprav uporabljamo enako zdravilo v enakih odmerkih. Razliko lahko razložimo z majhnim števi-

lom v raziskavo vključenih oseb. Podatke o odpornosti enterobakterij smo zbirali samo pri bolnikih z AL, pri katerih smo osamili *C. freundii*.

Ciprofloksacin ima svojo vlogo pri akutnih levkemijah in drugih stanjih, kjer se razvije huda nevtropenija, saj zmanjša nevarnost po Gramu negativnih okužb (11). Jemanje nadzornih kužnin postane v luči odpornih klic še pomembnejše, saj pri znakih okužbe uporabimo antibiotik, ki je vsaj in vitro učinkovit.

Težava pri prilaganju programa za preprečevanje okužb nastopi, ker med zdravili, ki delujejo na po Gramu negativne bacile, ne moremo izbirati. Omejeni smo na fluorokinolone, ki so v primerjavi z drugimi antibiotiki najučinkovitejši (12).

Odstotek klic iz družine Enterobacteriaceae, ki izločajo laktamaze (ESBL), je primerljiv z opisanimi v literaturi (27,5%, n = 131, p < 0,05) (19)). Prav tako je del proti ciprofloksacinu odpornih enterobakterij, ki izločajo ESBL, primerljiv s podatki iz literature (50% in 60%) (13). Avtorji omenjenega članka opozarjajo na močno povezanost med sevi, ki izločajo ESBL, in kasnejšim razvojem odpornosti proti ciprofloksacinu ob zdravljenju. V takšnih primerih se izbira učinkovitih antibiotikov skrči na dva ali tri, in v primeru sočasne odpornosti tudi proti tem, pa ostanemo brez zdravila.

Slika je drugačna pri *C. freundii*. Pri nas so skoraj vse klice, ki so bile odporne proti ciprofloksacinu, hkrati izločale ESBL (n = 22). Na prvi pogled izgleda, da je uporaba ciprofloksacina za preprečevanje okužb pri nevtropeničnih bolnikih neupravičena. Skoraj vse proti ciprofloksacinu odporne klice so tudi izločale ESBL. Pri izsledkih moramo upoštevati, da nismo zajeli enterobakterij vseh bolnikov z AL, saj smo v našo raziskavo vključili samo tiste, pri katerih smo osamili *C. freundii*. Verjetno je odstotek enterobakterij, odpornih proti ciprofloksacinu, lažno višji, kot bi bil, če bi v raziskavo vključili vse bolnike z AL, zdravljene v obdobju raziskave.

Zaključki

1. Pri četrtini bolnikov z AL smo osamili klico *C. freundii*, od katerih je bila več kot polovica odporna proti ciprofloksacinu. Skoraj vse proti ciprofloksacinu odporne klice so izločale ESBL.
2. Enterobakterije so skoraj polovica izoliranih klic, od teh je bila več kot polovica proti ciprofloksacinu odpornih. Enterobakterij, ki so izločale ESBL, je bilo ena tretjina izoliranih klic; vse so bile odporne proti ciprofloksacinu. Skoraj vse po Gramu negativne bakterije so bile enterobakterije.

Literatura

1. Pizzo A. Considerations for the prevention of infectious complications in patients with cancer. Rev Infect Dis 1989; 11: Suppl 7: 1551-63.
2. Ambrosino DM, Molrine DC. Critical appraisal of immunisation strategies for preventions of infection in the compromised host. Hematol Oncol Clin North Am 1993; 7: 1027-7.
3. Elting LS. Outcomes of bacteremia in patients with cancer and neutropenia: Observations of two decades of epidemiological clinical trials. Clin J Infect Dis 1997; 25: 247-7.
4. Liassine N, Bille J, Breer C, Frei R, Wust J, Auckentaker R. In vitro activity of ceftipime against microorganisms isolated in haematology, oncology and intensive care units in Switzerland. Scand J Infect Dis 1997; 29 (6): 615-21.
5. Čížman M, Gubina M, Pokorn M, Tomič V. Monoterapija ali kombinacija antibiotikov v zdravljenju febrilne nevtropenije. Med Razgl 1996; 35 Suppl: 7: 71-85.
6. Martinez-Martinez L, Suarez AI, Carranza R, Perea EJ. Ciprofloxacin resistance in gram-negative bacilli. Epidemiologic aspects. Enferm Infecc Microbiol Clin 1993; 11 (9): 474-8.
7. Siroť J, Nicolas-Chanoine MH, Chardon H, Avril JL, Cattoen C, Coix JC. Susceptibility of Enterobacteriaceae to beta-lactam agents and fluoroquinolones: a 3-year survey in France. Clin Microbiol Infect 2002; 8 (4): 207-13.
8. Černelč P. Preprečevanje okužb pri bolnikih s hudo nevtropenijo. Med Razgl 1996; 35: Suppl 7: 101-8.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth informational supplement. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002: M100-S12.

10. Jacobson K, Rolston K, Elting L, LeBlanc B, Whimbey E, Ho DH. Susceptibility surveillance among gram-negative bacilli at a cancer center. *Chemother* 1999; 45 (5): 325-34.
 11. Lopez A, Soler JA, Julia A, Novo A, Bueno J. Prophylaxis with ciprofloxacin in postchemotherapy neutropenia in acute myeloid leukaemia. *Med Clin (Bar)* 1994; 102 (3): 81-5.
 12. Moriuchi Y, Kamihira S, Yamamura M, Mori H, Myazaki Y, Tokugana S. Comparison of ciprofloxacin with polymyxin B for infection prophylaxis in neutropenic patients with acute non-lymphocytic leukemia. *Rinsho Ketsu-eki* 1990; 31 (10): 1664-9.
 13. Patterson DL, Mulazimoglu I, Casellas JM, Ko WC, Gossens H, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolate causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000; 30 (3): 473-8.
-