

Avaliação da atividade *in vitro* dos novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenens contra 569 amostras clínicas de bactérias gram-negativas

A.C. GALES, A.C. PIGNATARI, R.N. JONES, M. BARETTA, H.S. SADER

Laboratório Especial de Microbiologia Clínica, Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal de São Paulo — Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

RESUMO — OBJETIVO. A proposta deste estudo foi a avaliação da atividade *in vitro* de novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, das cefalosporinas e dos carbapenens contra bactérias gram-negativas.

MATERIAL E MÉTODO. Foram avaliadas 569 amostras clínicas isoladas no Hospital São Paulo — UNIFESP/EPM, no período compreendido entre junho e julho de 1992. A distribuição das espécies foi: *Enterobacter* sp. (62), *Escherichia coli* (308), *Klebsiella pneumoniae* (27), *Klebsiella* sp. (9), *Proteus mirabilis* (23), *Pseudomonas aeruginosa* (88), *Pseudomonas* sp. (4), *Serratia* sp. (30) e outros gram-negativos (7). Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos avaliados (ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, grepafloxacina, DU 6859-a, ceftazidima, cefepima, FK 037, imipenem, meropenem e biapenem) foram realizados pela técnica de microdiluição em caldo.

RESULTADOS. A fluoroquinolona mais potente foi a DU 6859-a; em algumas amostras, apresentou po-

tência duas a quatro vezes superior àquela apresentada pela ciprofloxacina. As novas cefalosporinas de 4ª geração apresentaram potência e espectro de ação semelhantes nas amostras de *Enterobacteriaceae*, com exceção das amostras de *Enterobacter* sp., para as quais a cefepima foi mais ativa, e das amostras de *P. aeruginosa*, para as quais a cefalosporina mais potente e com maior percentagem de suscetibilidade foi a ceftazidima. O meropenem foi o carbapenem mais potente e com maior percentagem de suscetibilidade nas amostras estudadas.

CONCLUSÃO. As novas drogas apresentaram, em geral, melhor atividade *in vitro* do que drogas da mesma classe já utilizadas na prática clínica. Porém, mais estudos serão necessários para avaliar a atividade *in vivo* desses agentes e sua real utilidade clínica.

UNITERMOS: Atividade *in vitro*. Bactérias gram-negativas. Fluoroquinolonas. Cefalosporinas. Carbapenens.

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana tem emergido como um problema mundialmente importante, fazendo com que muitas classes de antimicrobianos tenham se tornado menos efetiva nos últimos anos. Algumas vezes, parte da emergência de resistência está relacionada ao uso intensivo ou inadequado desses compostos, ocasionando a seleção de patógenos resistentes¹. Pacientes infectados por bactérias resistentes necessitam de maior tempo de hospitalização, apresentam risco aumentado de mortalidade e utilizam antimicrobianos mais potentes, que normalmente são mais caros e/ou mais tóxicos². Esses fatores têm motivado a busca por drogas cada vez mais potentes e estáveis aos mecanismos de resistência bacteriana. Muitas vezes, modificações estruturais são realizadas nas moléculas de antimicrobianos já utilizados na prática clínica para que esse objetivo seja alcançado.

No final dos anos 80, as fluoroquinolonas tornaram-se uma excelente opção para o tratamento de infecções causadas por bactérias aeróbias gram-negativas, pois, além de potentes, essas drogas permitiam a continuação do tratamento por via oral^{3,4}.

Atualmente, com o aumento da importância das infecções por cocos gram-positivos como os enterococos e estreptococos, para os quais as fluoroquinolonas têm potência limitada⁵, e com a emergência de bactérias gram-negativas resistentes a essa classe de antimicrobianos^{6,7}, tem sido incentivada a pesquisa por novos compostos dessa classe.

A grepafloxacina (anteriormente designada OPC 17116) é uma fluoroquinolona que mantém potente ação contra gram-negativos e maior potência contra gram-positivos, quando comparada com as fluoroquinolonas já disponíveis comercialmente no Brasil. Como essa droga parece apresentar excelente penetração tecidual, principalmente pulmonar, e possuir melhor atividade bactericida contra *Staphylococcus*

aureus, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*, ela poderá representar uma opção para o tratamento de infecções pulmonares^{3,8}. Uma das mais recentes fluoroquinolonas, a DU 6859-a, possui estrutura similar à ciprofloxacina, administração oral, e tem demonstrado excelente atividade *in vitro* contra bactérias gram-negativas, cocos gram-positivos e anaeróbios^{5,9}.

O sucesso das cefalosporinas de 3ª geração tem sido limitado pela rápida evolução das β -lactamases. Modificações sintéticas têm sido realizadas com o objetivo de propiciar um espectro de ação mais balanceado e com maior estabilidade contra a ação das β -lactamases. O resultado dessas pesquisas foi o surgimento de uma nova geração de cefalosporinas, as cefalosporinas de 4ª geração¹⁰. A cefepima é uma representante dessa nova geração de cefalosporinas. Essa droga é de uso parenteral e possui boa atividade contra bactérias gram-negativas aeróbias (inclusive *Pseudomonas aeruginosa*) e cocos gram-positivos (*Staphylococcus aureus* suscetíveis à oxacilina e estreptococos)^{11,12}. Com estrutura química e espectro de ação semelhantes, o FK 037 também faz parte dessa nova geração de cefalosporinas^{13,14}.

No final da década de 70, a descoberta do *Streptomyces cattleya* e de seus produtos deu origem a uma nova classe de antimicrobianos β -lactâmicos, os carbapenens¹⁵. Essa classe de antimicrobianos agrupa compostos que variam na estrutura química, resistência à ação de β -lactamases, espectro de ação e na habilidade em inibir ou induzir a produção de β -lactamases¹⁵. O imipenem e, mais recentemente, o meropenem são os compostos representantes dessa classe disponíveis comercialmente nos EUA e na Europa; porém, no Brasil, só dispomos comercialmente do imipenem. O biapenem é um novo carbapenem que possui amplo e potente espectro de ação contra bacilos gram-negativos, cocos gram-positivos e anaeróbios. Porém, de maneira semelhante aos outros compostos dessa classe, apresenta pouca atividade contra amostras de *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *S. aureus* resistentes à oxacilina^{15,16}. Além disso, o biapenem tem demonstrado excelente estabilidade em relação a maioria das β -lactamases produzidas por bactérias gram-negativas e, provavelmente, não será necessária a sua co-administração com a cilastatina, pois essa droga não é degradada pela deidrogenase renal I¹⁶.

O presente estudo tem como objetivo comparar a atividade *in vitro* de agentes já utilizados na prática clínica, com novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, das cefalosporinas e dos carbapenens contra 569 amostras clínicas de bactérias gram-negativas isoladas no Hospital São Paulo.

Algumas dessas drogas já foram avaliadas em estudos *in vitro* realizados nos EUA e em países da Europa. Porém, o estudo de amostras isoladas em nosso meio se faz importante, uma vez que o padrão de sensibilidade pode ter ampla variação de uma região para outra.

MATERIAL E MÉTODO

Foram avaliadas 569 amostras clínicas isoladas de pacientes internados no Hospital São Paulo — Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) / Escola Paulista de Medicina, no período de junho a julho de 1992. A distribuição das espécies foi: *Enterobacter* sp. (62), *Escherichia coli* (308), *Klebsiella pneumoniae* (27), *Klebsiella* sp. (9), *Proteus mirabilis* (23), *Pseudomonas aeruginosa* (88), *Pseudomonas* sp. (4), *Serratia* sp. (30) e outros gram-negativos (7). Todos os microrganismos foram identificados em nível de espécie pela metodologia padrão. Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados no Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC) da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNIFESP, São Paulo, por meio da técnica de microdiluição em caldo e utilizando os procedimentos padronizados pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS)¹⁷. As placas de microdiluição foram produzidas por *PML Microbiological* (Tualatin, Oregon, EUA), enviadas e mantidas a -70°C no LEMC. O caldo de cultura utilizado foi o meio de Muller-Hinton (*Difco Laboratories*, EUA), suplementado com NaCl a uma concentração final de 2%.

Os antimicrobianos testados foram fornecidos pelas respectivas companhias farmacêuticas: ciprofloxacina (*Miles Pharmaceuticals*), ofloxacina (*Ortho Pharmaceuticals*), levofloxacina (*R.W. Johnson Pharmaceutical Research Institute*), grepafloxacina (*Otsuka Pharmaceuticals*), DU 6859-a (*Daiichi Pharmaceutical Co.*), ceftazidima (*Glaxo Laboratories*), cefepima (*Bristol Myers Squibb*), FK 037 (*Ortho Pharmaceuticals*), imipenem (*Merck Sharp & Dohme*), meropenem (*ICI Pharmaceuticals*) e biapenem (*Lederle Laboratories*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela sumaria os resultados deste estudo. O aumento da prevalência de resistência às fluoroquinolonas entre espécies inicialmente suscetíveis e a emergência de espécies intrinsecamente resistentes a compostos dessa classe criaram a necessidade por drogas mais ativas desse grupo. A droga DU 6859-a, uma recente fluoroquinolona que ainda

Tabela — Atividade *in vitro* de novos antimicrobianos contra 569 bactérias gram-negativas

Organismo (n)		MICs (µg/mL)			Porcentagem suscetível ^a (%)
		MIC50	MIC90	Varição	
<i>Enterobacter</i> sp. (62) ^b	Ciprofloxacina	0,12	>2	0,015 - >2	71
	Levofloxacina	0,25	4	0,03 - >4	87
	Grepafloxacina	0,12	4	0,03 - >4	81
	Ofloxacina	1	>4	0,06 - >4	73
	DU 6859-a	0,06	0,50	0,03 - 2	100
	Ceftazidima	2	>16	0,12 - >16	61
	Cefepima	2	>16	0,12 - >16	74
	FK 037	4	>16	0,12 - >16	66
	Imipenem	2	4	0,12 - >8	97
	Meropenem	0,12	1	0,12 - 4	100
	Biapenem	0,25	2	0,06 - 8	97
<i>Escherichia coli</i> (308)	Ciprofloxacina	0,03	0,5	≤0,15 - >2	97
	Levofloxacina	0,06	1	≤0,03 - >4	98
	Grepafloxacina	≤0,03	0,25	≤0,03 - >4	98
	Ofloxacina	0,12	2	≤0,03 - >4	97
	DU 6859-a	≤0,03	0,06	≤0,03 - >2	100
	Ceftazidima	0,25	4	≤0,12 - >16	93
	Cefepima	≤0,12	8	≤0,12 - >16	91
	FK 037	≤0,12	16	≤0,12 - >16	90
	Imipenem	0,25	4	≤0,12 - >8	92
	Meropenem	≤0,12	1	≤0,12 - >8	99,7
	Biapenem	≤0,06	2	≤0,06 - 8	99
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (27)	Ciprofloxacina	0,06	1	0,03 - 2	93
	Levofloxacina	0,12	2	0,06 - 2	100
	Grepafloxacina	0,12	1	0,06 - 2	100
	Ofloxacina	0,25	2	0,12 - 4	93
	DU 6859-a	0,03	0,12	≤0,03 - 0,5	100
	Ceftazidima	0,25	>16	≤0,12 - >16	71
	Cefepima	≤0,12	>16	≤0,12 - >16	74
	FK 037	≤0,12	>16	≤0,12 - >16	68
	Imipenem	0,5	8	0,25 - 8	89
	Meropenem	≤0,12	1	≤0,12 - 2	100
	Biapenem	0,25	8	≤0,06 - >8	89
<i>Klebsiella</i> sp. (9) ^c	Ciprofloxacina	0,12	-	0,015 - 0,25	100
	Levofloxacina	0,12	-	0,03 - 0,5	100
	Grepafloxacina	0,12	-	0,03 - 0,25	100
	Ofloxacina	0,25	-	0,06 - 1	100
	DU 6859-a	0,03	-	0,03 - 0,12	100
	Ceftazidima	0,25	-	0,12 - 4	100
	Cefepima	0,12	-	0,12 - >16	89
	FK 037	0,12	-	0,12 - >16	89
	Imipenem	1	-	0,12 - 8	89
	Meropenem	0,12	-	0,12 - 2	100
	Biapenem	0,5	-	0,06 - 4	100
<i>Morganella morganii</i> (11)	Ciprofloxacina	0,03	0,5	0,015 - 1	100
	Levofloxacina	0,06	1	0,03 - 1	100
	Grepafloxacina	0,25	0,25	0,03 - 1	100
	Ofloxacina	0,12	2	0,12 - 1	100
	DU 6859-a	0,03	0,12	0,03 - 0,5	100
	Ceftazidima	0,25	4	≤0,12 - >16	91
	Cefepima	≤0,12	16	≤0,12 - 16	82
	FK 037	≤0,12	<16	≤0,12 - >16	82
	Imipenem	8	8	1 - 8	36
	Meropenem	0,5	2	≤0,12 - 4	100
	Biapenem	2	4	0,12 - 8	91

Organismo (n)		MICs (µg/mL)			Porcentagem suscetível ^a (%)
		MIC50	MIC90	Varição	
<i>Proteus mirabilis</i> (23)	Ciprofloxacina	0,06	1	≤0,015 - 2	96
	Levofloxacina	0,06	1	≤0,03 - 1	100
	Grepafloxacina	0,25	0,5	0,12 - 2	100
	Ofloxacina	0,12	2	0,12 - 4	96
	DU 6859-a	≤0,03	0,12	≤0,03 - 0,12	100
	Ceftazidima	≤0,12	>16	≤0,12 - >16	87
	Cefepima	0,25	>16	≤0,12 - >16	83
	FK 037	≤0,12	16	≤0,12 - >16	87
	Imipenem	4	8	0,25 - 8	65
	Meropenem	≤0,12	2	≤0,12 - 4	100
Biapenem	2	8	≤0,06 - >8	74	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (88)	Ciprofloxacina	0,5	>2	0,06 - >2	69
	Levofloxacina	1	>4	≤0,06 - >4	71
	Grepafloxacina	0,5	>4	≤0,03 - >4	71
	Ofloxacina	2	>4	0,12 - >4	53
	DU 6859-a	0,25	>4	≤0,03 - >4	78
	Ceftazidima	4	>16	1 - >16	73
	Cefepima	8	>16	1 - >16	59
	FK 037	8	>16	1 - >16	62
	Imipenem	4	>8	≤0,12 - >8	66
	Meropenem	1	8	≤0,12 - >8	89
	Biapenem	1	8	≤0,06 - >8	83
	<i>Pseudomonas sp.</i> (4) ^d	Ciprofloxacina	0,25	-	0,12 - >2
Levofloxacina		0,5	-	0,05 - >4	75
Grepafloxacina		0,5	-	0,25 - >4	75
Ofloxacina		1	-	1 - >4	50
DU 6859-a		0,12	-	0,12 - >2	100
Ceftazidima		4	-	2 - 16	75
Cefepima		2	-	2 - 16	75
FK 037		8	-	2 - 16	50
Imipenem		2	-	2 - 8	75
Meropenem		0,25	-	0,25 - 4	75
Biapenem	1	-	0,5 - 1	100	
<i>Serratia sp.</i> (30) ^e	Ciprofloxacina	0,25	>2	0,015 - >2	60
	Levofloxacina	0,25	4	0,015 - >4	77
	Grepafloxacina	0,25	>4	0,03 - >4	77
	Ofloxacina	0,50	>4	0,06 - >4	63
	DU 6859-a	0,06	0,50	0,03 - 2	100
	Ceftazidima	0,50	>16	0,12 - >16	80
	Cefepima	0,12	16	0,12 - 16	83
	FK 037	0,25	>16	0,12 - >16	80
	Imipenem	1	2	0,12 - 4	100
	Meropenem	0,12	1	0,12 - 8	97
Biapenem	0,25	2	0,06 - 8	97	
Outros organismos gram-negativos (7) ^f	Ciprofloxacina	0,25	-	0,03 - 2	71
	Levofloxacina	0,25	-	0,06 - >4	86
	Grepafloxacina	0,5	-	0,060 - >4	86
	Ofloxacina	0,5	-	0,12 - >4	71
	DU 6859-a	0,03	-	0,03 - 2	100
	Ceftazidima	16	-	0,12 - >16	43
	Cefepima	8	-	0,12 - >16	57
	FK 037	1	-	0,12 - >16	71
	Imipenem	2	-	0,12 - 4	71
	Meropenem	0,5	-	0,12 - 4	100
Biapenem	1	-	0,12 - >16	71	

^a Suscetibilidade definida como MIC ≤ 2µg/mL para grepafloxacina e DU 6859-a, MIC ≤ 8µg/mL para FK 037, MIC ≤ 4µg/mL para biapenem. Demais limites definidos segundo critérios do NCCLS¹⁷. ^b Incluindo *E. cloacae* (21), *E. aerogenes* (9), *E. sakazakii* (5), *E. agglomerans* (2), *E. gerrgoviae* (2) e *Enterobacter sp.* (23). ^c Incluindo *Klebsiella oxytoca* (4), *K. ozoenae* (2) e *Klebsiella sp.* (3). ^d Incluindo *Burkoldeira putrefaciens* (1) e *Pseudomonas sp.* (3). ^e Incluindo *S. liquefaciens* (21), *S. odorifera* (5) e *Serratia sp.* (1). ^f Incluindo *A. calcoaceticus* variedade anitratus (3), *Citrobacter amalonaticus* (1), *Citrobacter sp.* (1), *Proteus vulgaris* (1) e *Providencia rettgeri* (1).

se encontra em fase de pesquisa, demonstrou ser o mais potente entre os compostos testados dessa classe. Na família das *Enterobacteriaceae*, 50% das amostras foram inibidas por uma concentração antimicrobiana mínima (MIC50) de $\leq 0,03$ a $0,06\mu\text{g}/\text{mL}$. Em algumas espécies, como *Serratia* sp., a DU 6859-a foi quatro vezes mais potente que a ciprofloxacina (MIC50 de $0,06\mu\text{g}/\text{mL}$ e $0,25\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente). Embora a DU 6859-a tenha mecanismo de ação semelhante a outras fluoroquinolonas (inibição da DNA girase bacteriana)⁵ e o principal mecanismo de resistência bacteriana às fluoroquinolonas seja alteração do sítio de ação por meio de mutações cromossômicas, esse estudo demonstrou que essa fluoroquinolona mantém potente ação mesmo contra bactérias resistentes à ciprofloxacina e outras fluoroquinolonas. Cem por cento das amostras testadas foram suscetíveis à DU 6859-a. Contra as amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, a DU 6859-a foi duas vezes mais potente que a ciprofloxacina (MIC50 de $0,25\mu\text{g}/\text{mL}$ e $0,50\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente), porém somente 77% das amostras foram suscetíveis. Essa diferença pode ser explicada, em parte, pela maior frequência de mutações levando à alteração da DNA girase entre as amostras de *P. aeruginosa* do que entre as amostras de *Escherichia coli* e outras enterobactérias, e, também, pela diminuição da permeabilidade da membrana externa dessas bactérias a essa classe de drogas, mediante a perda de porinas¹⁸.

Neste estudo, foram avaliadas cefalosporinas de 3ª (ceftazidima) e 4ª gerações (cefepima e FK 037) contra amostras de *Enterobacteriaceae* e *P. aeruginosa*. A potência e o espectro de ação foram semelhantes entre elas contra todas espécies testadas, com exceção do *Enterobacter* sp. Contra essa espécie, a cefepima apresentou potência superior àquela demonstrada tanto pela ceftazidima, quanto pelo FK 037. O espectro de ação da cefepima também foi superior ao das outras cefalosporinas, chegando a inibir 74% das amostras estudadas, enquanto que o FK 037 inibiu 66% e a ceftazidima, 61%. Estudo realizado em outros países demonstrou resultados semelhantes¹³. A maioria das amostras de *Enterobacter* sp. avaliadas era *Enterobacter cloacae*. Essa espécie tem demonstrado grande capacidade de desenvolver resistência aos β -lactâmicos, inclusive carbapenens¹⁹. Os mecanismos mais importantes de resistência desenvolvidos por essas bactérias incluem a produção de β -lactamases induzíveis (classe I) e a diminuição da permeabilidade da membrana externa mediante a perda de porinas, com esses mecanismos parecendo estar associados, na maioria dos casos de resistência, aos carbapenens¹⁹.

A resistência das *Enterobacteriaceae*, como *E. coli* e *Klebsiella* sp., a esses compostos é mediada por β -lactamases de espectro ampliado (*extended spectrum β -lactamases* ou ESBL)^{2,10,20,21}. Essas β -lactamases são mediadas por plasmídios, e apesar do isolamento de amostras de *E. coli* e *Klebsiella* sp. produtoras dessas β -lactamases estar aumentando nos últimos anos, elas ainda são relativamente raras nos centros americanos¹. As hipóteses para explicar a alta prevalência desse padrão de resistência nas amostras avaliadas neste estudo seriam as seguintes: a) a prevalência de β -lactamases de espectro ampliado seria mais elevada no Brasil, quando comparada com EUA e Europa; b) o mecanismo de resistência desenvolvido por essas espécies no Brasil poderia ser diferente daquele descrito nos EUA e Europa, ou seja, essas amostras isoladas no Brasil podem ser resistentes às cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações mediante produção de β -lactamases da classe I e/ou por alteração de permeabilidade, não tendo sido descrita, ainda, resistência a esses compostos por esses mecanismos, nessas espécies. A primeira hipótese parece ser a mais provável, pois, apesar de raramente encontrada em outros países, esse mecanismo de resistência é mediado por plasmídios, fator que pode facilitar sua disseminação. O fato de essas enzimas dificilmente serem detectadas até por testes de sensibilidade de referência, como o utilizado por nós, pode indicar que a prevalência de cepas de *E. coli* e *Klebsiella* sp. resistentes à maioria dos β -lactâmicos (com exceção dos carbapenens) seja ainda maior do que a relatada neste estudo^{20,22}.

Contra as amostras de *P. aeruginosa*, a ceftazidima apresentou potência pouco superior à cefepima e FK 037, com MICs50 iguais a $4\mu\text{g}/\text{mL}$, $8\mu\text{g}/\text{mL}$ e $8\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

Além disso, a ceftazidima foi ativa contra 79% das amostras, enquanto que 59% e 62% foram inibidas pela cefepima e FK 037, respectivamente. A cefepima e o FK 037 pertencem ao grupo das cefalosporinas de 4ª geração, mostrando que as alterações realizadas na estrutura química da molécula de cefalosporina foram eficazes. Além de ampliar o espectro de ação contra as *Enterobacteriaceae* (especialmente *Enterobacter* sp.) e contra gram-positivos, essas drogas mantêm espectro antimicrobiano para as bactérias gram-negativas não fermentadoras (*P. aeruginosa* e *Acinetobacter* sp.) em relação às cefalosporinas de 3ª geração. Porém, no presente estudo, a ceftazidima apresentou maior atividade e espectro de ação contra as amostras de *P. aeruginosa*.

Múltiplos fatores parecem ser responsáveis pelo amplo espectro de ação da cefepima, tais como penetração mais rápida pela membrana externa de bactérias gram-negativas, maior afinidade pelas proteí-

nas ligadoras de penicilina (PBPs) e aumento da resistência à hidrólise por β -lactamases^{10,11}. A droga FK 037 também demonstrou qualidades semelhantes à cefepima, porém seu valor clínico dependerá das suas propriedades farmacológicas em humanos, que, até o momento, não foram estabelecidas^{13,14}.

Novos compostos da classe dos carbapenens, tais como o meropenem e o biapenem (anteriormente designado L 627), também foram testados neste estudo. Os carbapenens apresentam ampla e potente atividade antimicrobiana contra gram-negativos, pois têm alta afinidade pelas PBPs, são hábeis em penetrar através da membrana externa de bacilos gram-negativos e são resistentes à grande maioria das β -lactamases¹⁶. Entre as enterobactérias, o meropenem foi o que apresentou melhor atividade, seguido pelo biapenem e, posteriormente, pelo imipenem. Em algumas espécies, como *Enterobacter* sp., o meropenem chegou a ser duas vezes mais potente que o biapenem e 16 vezes mais potente que o imipenem (MICs 50 0,12 μ g/mL, 0,25 μ g/mL e 2 μ g/mL, respectivamente). Porém, a mesma superioridade não foi observada quanto à percentagem de suscetíveis, já que 97% das amostras foram suscetíveis ao biapenem e imipenem *versus* 100% de suscetibilidade ao meropenem. Embora não tenha sido notada importante diferença na suscetibilidade dessa espécie aos carbapenens, Cornaglia *et al.*¹⁹ descreveram, recentemente, que mutantes de *Enterobacter cloacae* deficientes nas porinas OmpD e OmpF tinham o coeficiente de permeabilidade ao meropenem sete vezes menor do que ao imipenem, e essa virtual ausência de porinas causava um aumento de 8 a 16 vezes nos MICs do meropenem, enquanto que os MICs do imipenem não eram alterados. Porém, o meropenem não tinha sua atividade alterada contra cepas do estudo que passaram a produzir a CphA carbapenase, enquanto que o imipenem chegava a ser 16 vezes menos ativo, quando eram utilizadas altas densidades de inóculo¹⁹. Trabalhos como este mostram que atividade e espectro dos diferentes carbapenens podem variar bastante e que, uma vez disponíveis comercialmente, a suscetibilidade deve ser avaliada para cada uma das drogas, isto é, não poderemos assumir que uma bactéria resistente a um determinado carbapenem também o será a outro.

O meropenem também inibiu 100% das amostras de *Serratia* sp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *M. morgani*. Chama a atenção a menor suscetibilidade de algumas espécies, como *P. mirabilis* e *M. morgani*, ao imipenem. Respectivamente, 65% e 36% foram suscetíveis a esse carbapenem, valores muito abaixo dos relatados pela literatura^{15,16,19,24}. Apesar de ter sido utilizada a técnica de microdiluição em caldo de maneira padronizada

pelo NCCLS¹⁷, não pode ser descartada a possibilidade de alguma falha metodológica ser a responsável por esse resultado, uma vez que entre amostras de *P. mirabilis* é descrito um padrão de falsa-resistência ao imipenem, quando métodos automatizados são utilizados²³. Além disso, o melhor espectro de ação do meropenem sobre o imipenem poderia ser explicado pela melhor penetração do meropenem nas amostras estudadas (uma vez que esses carbapenens podem utilizar porinas diferentes para penetração na membrana externa), associado a um maior grau de estabilidade à ação das β -lactamases induzíveis da classe I¹⁹. Porém, esses mecanismos de resistência não têm sido descritos nessa espécie.

A *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno com importância clínica significativa, principalmente entre pacientes hospitalizados. Atualmente, poucos antimicrobianos, como os carbapenens, por exemplo, apresentam atividade contra amostras hospitalares isoladas, em nosso meio. O meropenem e o biapenem foram quatro vezes mais potentes do que o imipenem contra essa espécie, exibindo MICs 50 iguais a 1 μ g/mL e 4 μ g/mL, respectivamente. O espectro de ação foi semelhante entre o meropenem e o biapenem (89% *versus* 83%), sendo superior ao imipenem, que inibiu 66% das amostras. Trabalho multicêntrico de Hoban *et al.* confirmam esses resultados²⁴. Porém, o estudo de um número maior de amostras talvez seja necessário para uma avaliação mais precisa da taxa de resistência.

Um dos fatores que podem contribuir para a alta prevalência de bactérias com padrão de resistência semelhante, em um hospital universitário como o nosso, poderia ser a existência de cepas resistentes endêmicas ou epidêmicas em nosso meio^{20,25}. Outro fato que pode influenciar sobre as taxas de resistência obtidas seria a avaliação de mais de uma amostra proveniente de um mesmo paciente.

Em resumo, as principais conclusões do presente estudo são as seguintes:

- 1) A fluoroquinolona mais potente foi a DU 6859-a, chegando, em algumas amostras, a apresentar potência duas a quatro vezes superior àquela apresentada pela ciprofloxacina.
- 2) As novas cefalosporinas, cefepima e FK 037, apresentaram potência e espectros de ação semelhantes nas amostras de *Enterobacteriaceae*, com exceção das amostras de *Enterobacter* sp., para as quais a cefepima foi mais ativa, e das amostras de *P. aeruginosa*, para as quais a cefalosporina mais potente e com maior percentagem de suscetibilidade foi a ceftazidima.
- 3) O meropenem foi o carbapenem mais potente e com maior percentagem de suscetibilidade, tanto

nas amostras de *Enterobacteriaceae*, quanto nas de *P. aeruginosa*.

4) As novas drogas da classe das fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenems apresentaram, em geral, melhor atividade *in vitro* do que as drogas já utilizadas na prática clínica. Porém, mais estudos serão necessários para avaliar a atividade *in vivo* desses agentes e sua real utilidade clínica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Dr. Carlos A.P. Pereira pela valiosa contribuição na preparação e revisão do artigo.

SUMMARY

Evaluation of *in vitro* activity of new fluoroquinolones, cephalosporins and carbapenems against 569 gram-negative bacteria

OBJECTIVE. Evaluation of the *in vitro* activity of new fluoroquinolones, cephalosporins and carbapenems against gram-negative bacteria.

MATERIAL AND METHOD. A total of 569 clinical isolates were obtained from inpatients at São Paulo Hospital — UNIFESP/EPM in June and July of 1992. The species distribution was as follows: *Enterobacter sp.* (62), *Escherichia coli* (308), *Klebsiella pneumoniae* (27), *Klebsiella sp.* (9), *Proteus mirabilis* (23), *Pseudomonas aeruginosa* (88), *Pseudomonas sp.* (4), *Serratia sp.* (30) and other gram-negatives (7). Susceptibility tests were performed by broth microdilution. The antimicrobials agents tested were: ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, grepafloxacin, DU 6859-a, ceftazidime, cefepime, FK 037, imipenem, meropenem and biapenem.

RESULTS. DU 6859-a showed the highest antimicrobial activity among the fluoroquinolones. It was two- to four-fold more active than ciprofloxacin against some species. The potency and antimicrobial spectrum were similar between the fourth-generation cephalosporins against *Enterobacteriaceae*, except for *Enterobacter sp.* strains which were more susceptible to cefepime than they were to ceftazidime or FK 037. When testing *Pseudomonas aeruginosa*, ceftazidime was slightly more active than the other cephalosporins. Against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* strains, meropenem was more active than imipenem or biapenem. In addition, the percentage of strains, susceptible to meropenem was higher than the percentage susceptible to the other carbapenems against these species.

CONCLUSION. The new antimicrobial agents demonstrated *in vitro* activity higher than that of agents

commercially available. However, more studies are necessary to further evaluate the *in vivo* activity and the clinical benefit of these compounds. [Rev Ass Med Brasil 1997; 43(2): 137-44.]

KEY-WORDS: *In vitro* activity. Gram-negative bacteria. Fluoroquinolones. Cephalosporins. Carbapenems

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jones RN, Kehrberg EN, Erwin EE, Anderson SC and the Fluoroquinolone Resistance Surveillance Group. Prevalence of important pathogens and antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States: I. Study on threat of emerging resistances: real or perceived? *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994;19: 203-15.
2. Jacoby GA, Archer GL. New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *N Engl J Med* 1991; 324: 601-12.
3. Sader HS, Erwin ME, Jones RN. *In vitro* activity of OPC-17116 compared to other broad-spectrum fluoroquinolones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 372-81.
4. Prosser BLT, Beskid G. Multicenter *in vitro* comparative study of fluoroquinolones against 25129 Gram-positive and Gram-negative clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 33-45.
5. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Cross-resistance analysis for DU-6859-a, a new fluoroquinolone compared to six structurally similar compounds (ciprofloxacin, clinafloxacin, fleroxacin, levofloxacin, ofloxacin and sparfloxacin). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 51-4.
6. Chin NX, Clynes N, Neu HC. New resistance to ciprofloxacin appearing during therapy. *Am J Med* 1989; 87: 28-31.
7. Jones RN. Fluoroquinolone resistance, an evolving national problem or just a problem for some physicians? *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15: 177-9.
8. Sader HS, Jones RN, Allen SD *et al.* *In vitro* comparison activity of OPC-17116, a new fluoroquinolone, against more than 5000 recent clinical isolates from five medical centers. *J Chemother* 1993; 5: 283-8.
9. Marshall SA, Jones RN. *In vitro* activity of DU-6859-a, a new fluorocyclopropyl quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 2.747-53.
10. Sader HS, Jones RN. Cefalosporinas: quatro gerações de evolução estrutural. *Rev Ass Med Brasil* 1995; 41(2): 144-50.
11. Sanders CC. Cefepime: the next generation? *Clin Infect Dis* 1993; 17: 369-79.
12. Fuchs PC, Jones RN, Barry AL, Thornsberry C. Evaluation of the *in vitro* activity of BMY 28142, a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27: 679-82.
13. Frei R, Jones RN, Pignatari AC *et al.* Antimicrobial activity of FK 037, a new broad-spectrum cephalosporin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 18: 167-73.
14. Sanchez ML, Jones RN. Antimicrobial activity of FK 037 against class I β -lactamase producing species resistant to ceftazidime a multi-laboratory clinical isolate sample. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 654-6.
15. Moellering Jr RC, Eliopoulos GM, Sentochnik DE. The carbapenems: new broad spectrum β -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1989; 24: 1-7.
16. Sader HS, Jones RN. Antimicrobial activity of the new carbapenem biapenem compared to imipenem and meropenem and other broad-spectrum beta-lactam drugs. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 384-91.

17. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*. Approved Standard, M7-A3. Villanova, PA, 1993.
18. Wolfson JS, Hooper DC. Bacterial resistance to quinolones: mechanisms and clinical importance. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 960-8.
19. Cornaglia G, Russel K, Satta G, Fontana R. Relative importance of outer membrane permeability and group 1 β -lactamase as determinants of meropenem and imipenem activities against *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 350-5.
20. Sader HS, Pfaller MA, Jones RN. Prevalence of important pathogens and antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States: II. Study of the intra- and inter-laboratory dissemination of extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 20: 203-8.
21. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-704.
22. Katsanis GP, Spargo G, Ferraro MJ, Suttan L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 691-6.
23. Biedenbach DJ, Jones RN. Interpretative errors using an automated system for the susceptibility testing of imipenem and aztreonam. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 57-60.
24. Hoban DJ, Jones RN, Pignatari AC et al. *In vitro* activity of three carbapenem antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993; 17: 299-305.
25. Sader HS, Pignatari AC, Hollis RJ, Jones RN. Evaluation of interhospital spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil, using pulsed-field gel electrophoresis of chromosomal DNA. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15: 320-3.