



## IN VITRO UČINKOVITOST TOPIKALNIH ANTIMIKROBNIH LIJEKOVA

KRISTINA ZURAK<sup>1</sup>, MARIJA TONKIĆ<sup>2</sup>

**Cilj istraživanja:** Cilj ovoga rada je utvrditi osjetljivost bakterija koje najčešće izazivaju lokalizirane infekcije u KBC Split tijekom 2020. godine na pojedine topikalne antimikrobne lijekove kako bi se ustanovilo koji od testiranih antibiotika je najbolji izbor za empirijsko liječenje ovih infekcija.

**Materijali i metode:** Retrospektivnim istraživanjem analizirani su podatci o osjetljivosti na topikalne antimikrobne lijekove (aminoglikozide, fluorokinolone, kloramfenikol, kolistin te mupirocin) pojedinih vrsta bakterija koje su najčešći uzročnici lokaliziranih infekcija: *Escherichia coli* i ESBL *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (uključujući i ESBL sojeve), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* te *Staphylococcus aureus* (uključujući MRSA). Osjetljivost je ispitivana metodom disk difuzije, a za kolistin metodom dilucije u bujonu.

**Rezultati:** Rezultati pokazuju visoku rezistenciju bakterije *Escherichia coli* na antibiotike ciprofloksacin i levofloksacin, a nisku na kloramfenikol i kolistin. U usporedbi s *Escherichia coli*, ESBL producirajući soj *Escherichia coli* pokazuje znatno visoku rezistenciju na sve ispitivane antibiotike osim na kolistin i kloramfenikol. Sojevi *Klebsiella pneumoniae* su bili visoko rezistentni na antibiotik tobramicin, a nisko rezistentni na kloramfenikol i kolistin. ESBL producirajući sojevi ove bakterije su imali znatno visoku rezistenciju na sve ispitivane antibiotike osim na kloramfenikol i kolistin. *Pseudomonas aeruginosa* je bio visoko rezistentan na ciprofloksacin i levofloksacin, a nisko na kolistin. Sojevi *Acinetobacter baumannii* su bili visoko rezistentni na levofloksacin, a nisko na kolistin. Izolati *Staphylococcus aureus* su bili visoko rezistentni na levofloksacin, a dobro osjetljivi na kloramfenikol i norfloksacin. MRSA sojevi su bili visoko rezistentni na levofloksacin, u značajno većim postotcima od MSSA sojeva, a dobru osjetljivost pokazali su na mupirocin.

**Zaključak:** Podatci ove studije pokazuju visoke stope rezistencije ispitivanih bakterija na pojedine topikalne antimikrobne lijekove, što je u skladu s trendovima porasta rezistencije bakterija u svijetu, te možemo pretpostaviti da će se ta rezistencija u budućnosti još povećavati.

Ključne riječi: KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT, REZISTENCIJA, TOPIKALNI ANTIMIKROBNI LIJEKOVI

### UVOD

Terapija topikalnim pripravcima je široko rasprostranjen i učinkovit način prevencije i liječenja lokalnih infekcija kada se uporaba sistemskih lijekova ne može opravdati i kada njihova uporaba nije sigurna zbog sistemskog djelovanja (1). Prednosti lokalne primjene antimikrobnih lijekova u odnosu na sustavnu primjenu su visoke i trajne koncentracije lijeka prisutne direktno na inficiranom

području, mala količina antibiotika koja je potrebna za liječenje, manje sistemskih nuspojava, bolja suradljivost i potencijalno manji rizik za razvoj antimikrobne rezistencije. Različiti farmaceutski oblici topikalnih pripravaka su: čvrsti topikalni oblici: antibiotski praškovi; polučvrsti topikalni oblici: kreme, masti, gelovi, paste; tekući topikalni oblici: nisko do srednje viskozni pripravci za primjenu na neoštećenoj koži (2). Mehanizmi djelovanja antimikrobnih lijekova su: inhibicija sinteze stanične stijenke, inhibicija funkcije stanične membrane, inhibicija sinteze proteina te inhibicija sinteze nukleinske kiseline bakterija.

Aminoglikozidi su skupina lijekova čiji su predstavnici streptomycin, neomi-

cin, gentamicin, tobramicin i drugi. Propisuju se za ozbiljne gram-negativne infekcije, posebno za *Pseudomonas aeruginosa*. Mehanizam djelovanja je inhibicija sinteze proteina u bakterijskoj stanici vezivanjem na 30S podjedinicu bakterijskog ribosoma i inhibicijom njene funkcije. Kloramfenikol je potentni inhibitor sinteze proteina bakterija, a mehanizam djelovanja je blokiranje vezivanja amino-kiselina za peptidni lanac na 50S jedinici ribosoma. To je bakteriostatski lijek koji se primjenjuje za liječenje mnogih vrsta infekcija, ali više nije lijek izbora ni za jednu infekciju. Polimiksini djeluju baktericidno na mnoge gram-negativne aerobne bacile, uključujući *Pseudomonas* i seraciju. Vežu se za staničnu membranu bogatu fosfatidiletanolaminom i ome-

taju njenu funkciju aktivnog prijenosa i permeabilne barijere. Polimiksin E (kolistin) je postao alternativni lijek za liječenje infekcija uzrokovanih multirezistentnim *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* te kao „terapija spasa“ u slučaju infekcije koju uzrokuje karbapenem rezistentna *Klebsiella pneumoniae*. Kinoloni su sintetski analozi nalidiksične kiseline, a mehanizam djelovanja je inhibicija sinteze bakterijske DNA blokiranjem DNA giraze, koja ima ključnu ulogu u replikaciji i popravku DNA. Mupirocin je antibiotik koji se sve više koristi za liječenje infekcija koje uzrokuje *Staphylococcus aureus* osjetljiv na meticilin (engl. Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA) i *Staphylococcus aureus* rezistentan na meticilin (engl. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) (3). To je antibiotik koji proizvodi bakterija *Pseudomonas fluorescens* koja se nalazi u tlu, a inhibira bakterijsku izoleucil t-RNA sintetazu.

Poteškoće u praćenju doze lijeka i procjena trajanja terapije su bitni faktori koji limitiraju djelovanje topikalnih antimikrobnih lijekova. Stvarne koncentracije lijeka na mjestu primjene je teško izmjeriti. Topikalna terapija se većinom primjenjuje na mjesta s već postojećom bakterijskom florom, tako da je teško kontrolirati štetan učinak antibiotika na korisne bakterije. Izlaganje postojeće mikroflore visokoj razini lijeka stvara fenotipove bakterija rezistentne na lijekove (2).

### Bakterije koje najčešće izazivaju infekcije za koje se koriste topikalni antimikrobni lijekovi

*Staphylococcus aureus* je gram-pozitivna, kuglasta bakterija koja pripada rodu *Staphylococcus* (4). Uobičajeno je dio mikrobiote čovjeka te se nalazi na sluznicama i koži te uzrokuje teže infekcije kada prođe u krvotok i unutarnja tkiva. MRSA je soj *S. aureus* koji nosi gen mec na bakterijskom kromosomu, što za posljedicu ima otpornost na mnoge vrste antibiotika kao što su meticilin, nafcilin, oksacilin i cefalosporine, odnosno sve beta-laktamske antibiotike (5). Vodeći je uzrok ozbiljnih bolničkih

infekcija te često uzrokuje epidemije (6). Porodica Enterobacteriaceae je velika heterogena skupina gram-negativnih bacila. Porodici pripada velik broj rodova među kojima su *Escherichia* i *Klebsiella* (4). *Escherichia coli* je najčešći komenzalni stanovnik gastrointestinalnog trakta i živi na obostranu korist s domaćinom te rijetko izaziva bolest u zdravih ljudi. Unatoč tome, patogeni sojevi su najčešći uzročnici mokraćnih infekcija i dijarealnih bolesti (4, 7). ESBL (Extended-spectrum  $\beta$ lactamases) su enzimi koji imaju sposobnost hidrolize  $\beta$ -laktamskog prstena  $\beta$ -laktama širokog spektra, a najčešće ih proizvode upravo enterobakterije. Ovi enzimi omogućuju otpornost na peniciline i cefalosporine i često su uzrok višestruke rezistencije gram-negativnih bakterija (8). *Klebsiella pneumoniae* je bakterija koja spada među deset najčešćih uzročnika bolničkih infekcija. Smatra se oportunističkim patogenom budući da tipično uzrokuje infekcije u hospitaliziranih ili na neki drugi način imunološki oslabljenih osoba (9). *Pseudomonas aeruginosa* je invazivni, gram-negativni, aerobni bacil mikroorganizam koji stvara toksine, izazivajući infekcije u bolesnika s poremećajima imunološkog sustava te je glavni uzročnik bolničkih infekcija (4). *Acinetobacter baumannii* je oportunistički patogen u ljudi koji pretežno izaziva infekcije u teško bolesnih pacijenata. Uzrokuje infekcije kože, mokraćnog sustava, mekih tkiva te sepsu (10).

### MATERIJALI I METODE

#### Ustroj i protokol istraživanja

Studija je retrospektivna. Iz baze podataka Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split za razdoblje od 1. siječnja 2020. do 31. prosinca 2020. godine prikupljeni su podatci o sojevima bakterija koje su najčešći uzročnici lokaliziranih infekcija i za koje postoje interpretativni kriteriji kada se testira njihova osjetljivost na topikalne antimikrobne lijekove: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* (uključujući MRSA sojeve) te *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli* (uključujući sojeve koji luče ESBL). Za navedene sojeve su

analizirani rezultati ispitivanja osjetljivosti na sljedeća topikalna antimikrobna sredstva: gentamicin, tobramicin, ciprofloksacin, norfloksacin, levofloksacin, kloramfenikol, kolistin te mupirocin. Istraživanje je započeto prikupljanjem podataka o vrstama gore spomenutih bakterija koje su izolirane u zadanom razdoblju iz uzoraka bolničkih i vanbolničkih pacijenata te pretraživanjem rezultata njihove osjetljivosti na topikalna antimikrobna sredstva. Podatci su prikazani grafikonom, za svaku pojedinačnu vrstu, i to ukupan broj izolata testiranih na određeni topikalni antimikrobni lijek, broj osjetljivih te broj rezistentnih izolata. Rezultati su prikazani grafički te je napravljena završna statistička analiza i izneseno tumačenje rezultata.

#### Metode određivanja osjetljivosti bakterija na antimikrobna sredstva

Za gore navedene sojeve bakterija određivana je in vitro osjetljivost na topikalna antimikrobna sredstva, osim kolistina, standardiziranom metodom disk difuzije na Müller Hinton agaru. Za testiranje osjetljivosti na kolistin korištena je metoda dilucije u bujonu. Disk difuzija je metoda kod koje se papirnati diskovi natopljeni određenom količinom antibiotika postavljaju na površinu čvrste standardizirane podloge za izradu antibiograma (Müller-Hinton agar). Prema veličini promjera zone inhibicije izražene u milimetrima, testirani soj se prema europskim standardima (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST; dostupno na: [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)) svrstava u jednu od tri kategorije:

- osjetljiv (susceptible; oznaka S) - soj je podložan terapijskom učinku antibiotika u srednjim ili prosječnim dozama u cijelom organizmu;
- umjereno osjetljiv (intermediate; oznaka I) - soj je podložan terapijskom učinku antibiotika u prosječnim dozama samo na mjestima izlučivanja na kojima se koncentrira;
- rezistentan (resistant; oznaka R) - antibiotik primijenjen u mogućim netoksičnim dozama ne djeluje na soj (11).

<sup>1</sup>Ljekarna "Mario Vrebčević", Zagreb<sup>2</sup>Klinički Bolnički Centar Split

Adresa za dopisivanje:

Kristina Zurak, mag. pharm.  
23000 Zadar, Ulica Ive Mašine 3  
E-mail: kristina.zurak4@gmail.com

Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije kolistina (MIK) napravljeno je metodom dilucije u bujonu na mikrotitar pločicama. Rezultat je najniža koncentracija antimikrobnog sredstva, tj. kolistina, koja inhibira vidljiv rast mikroorganizama i izražena je kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIK), u mg/L ili µg/mL. Za dokaz lučenja ESBL enterobakterija korišten je test s diskom amoksicilina u kombinaciji s klavulanskom kiselinom i diskovi koji sadrže samo cefalosporin (cefotaksim, ceftazidim). Pojava proširenja zone inhibicije u području između diska amoksicilina s klavulanskom kiselinom i diska cefalosporina 3. generacije, smatra se dokazom da testirana bakterija luči ESBL. Otpornost na meticilin sojeva *Staphylococcus aureus* može se fenotipski otkriti metodom disk difuzije korištenjem diska cefoksitina (30 µg) (11).

#### Statistička analiza

Podatci su uneseni u programski paket Microsoft Office Excel za izradu tabličnog prikaza te obrađeni u programu Med Calc za Windows, verzija 19.3. Korištene su deskriptivne statističke metode, a kategorijske varijable su izražene apsolutnim brojevima i postotcima.

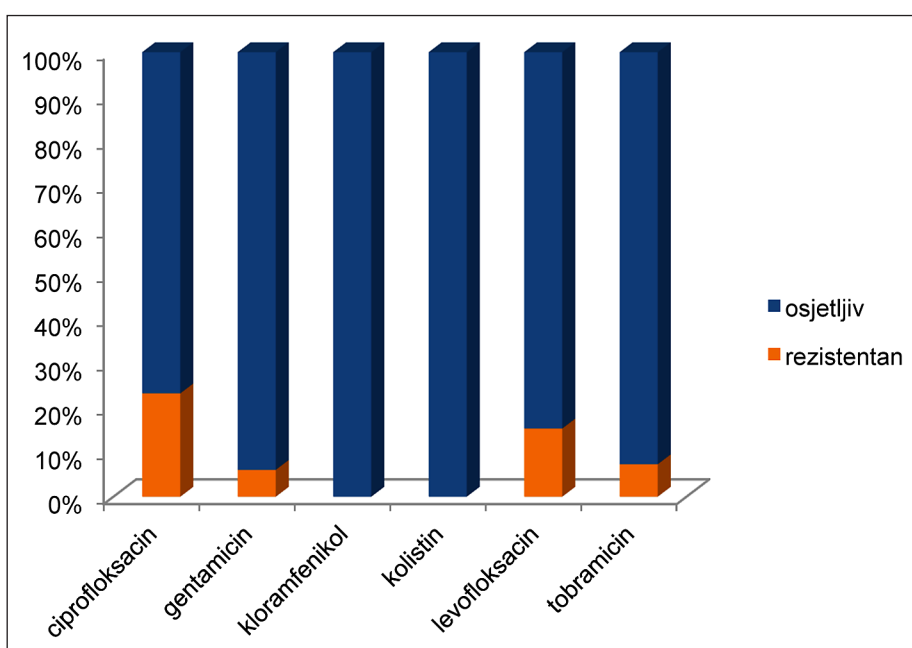
#### REZULTATI

##### Osjetljivost gram-negativnih bakterija na antibiotike

###### *Escherichia coli*

U istraživanju su sojevi *Escherichia coli* testirani na sljedeće topikalne antibiotike: ciprofloksacin, gentamicin, kloramfenikol, kolistin, levofloksacin te tobramicin. Rezultati testiranja osjetljivosti na antimikrobna sredstva prikazani su na Slici 1.

Na te iste antibiotike su testirani i sojevi bakterije *Escherichia coli* koji su producirali β-laktamaze proširenog spektra (ESBL). Rezultati osjetljivosti bakterija na ciprofloksacin su bili 10,39% (od 337 testiranih sojeva), gentamicin 56,97% (od 337 sojeva), kloramfenikol 100% (1 ispitana soj) i kolistin 100% (3 ispitana soja), levofloksacin 13,06% (od 337 sojeva) te tobramicin 30,3% (od 33 soja).



Slika 1. Osjetljivost sojeva *Escherichia coli* na antibiotike.

###### *Klebsiella pneumoniae*

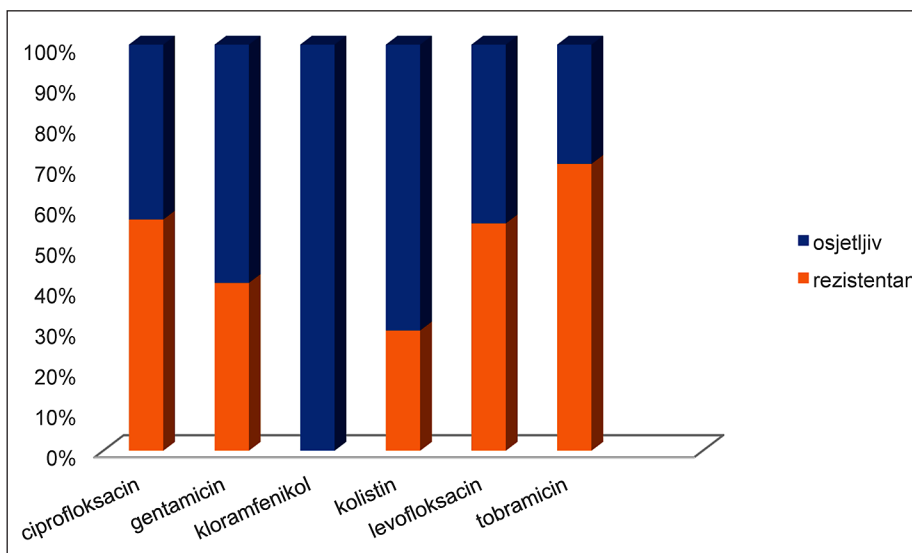
Tijekom ispitivanog perioda izolati *Klebsiella pneumoniae* su testirani na antibiotike ciprofloksacin, gentamicin, kloramfenikol, kolistin, levofloksacin te tobramicin (Slika 2).

Također je ispitivana i osjetljivost ESBL sojeva *Klebsiella pneumoniae* na navedene antibiotike. Osjetljivost na ciprofloksacin je bila 34,69% (493 testirana soja), gentamicin 30,16% (od 494

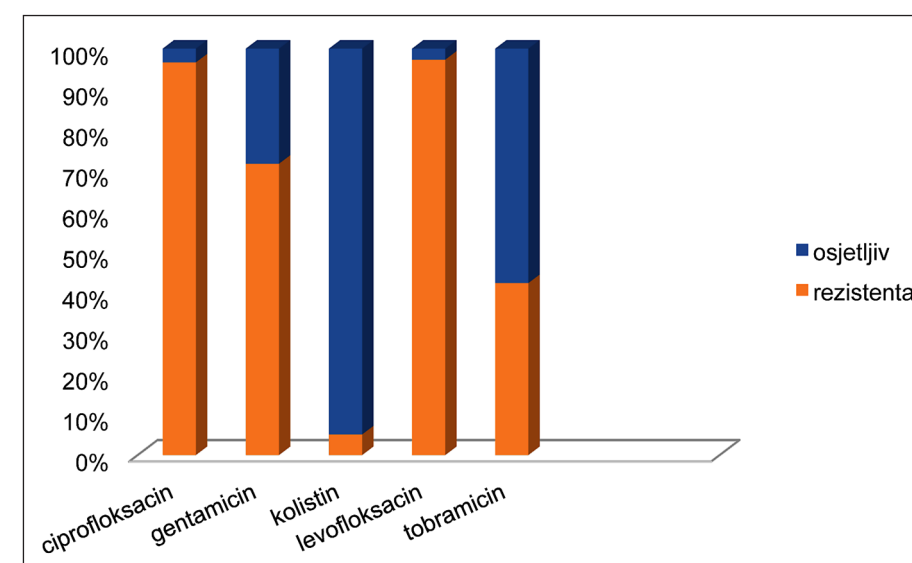
soja), kloramfenikol 100% (od 2 soja), kolistin 88,89% (od 9 sojeva), levofloksacin 39,31% (od 496 sojeva) te tobramicin 3,45% (od 29 ispitana soja).

###### *Pseudomonas aeruginosa*

Sojevi *Pseudomonas aeruginosa* testirani su na ciprofloksacin, gentamicin, kolistin, levofloksacin te tobramicin. Rezultati testiranja osjetljivosti tih sojeva prikazani su na Slici 3.



Slika 2. Osjetljivost *Klebsiella pneumoniae* na antibiotike.



Slika 3. Osjetljivost sojeva *Pseudomonas aeruginosa* na antibiotike.

###### *Acinetobacter baumannii*

Sojevi *Acinetobacter baumannii* su testirani na antibiotike ciprofloksacin, gentamicin, kolistin, levofloksacin te tobramicin, a rezultati su prikazani na Slici 4.

##### Osjetljivost gram-pozitivnih bakterija na antibiotike

###### *Staphylococcus aureus*

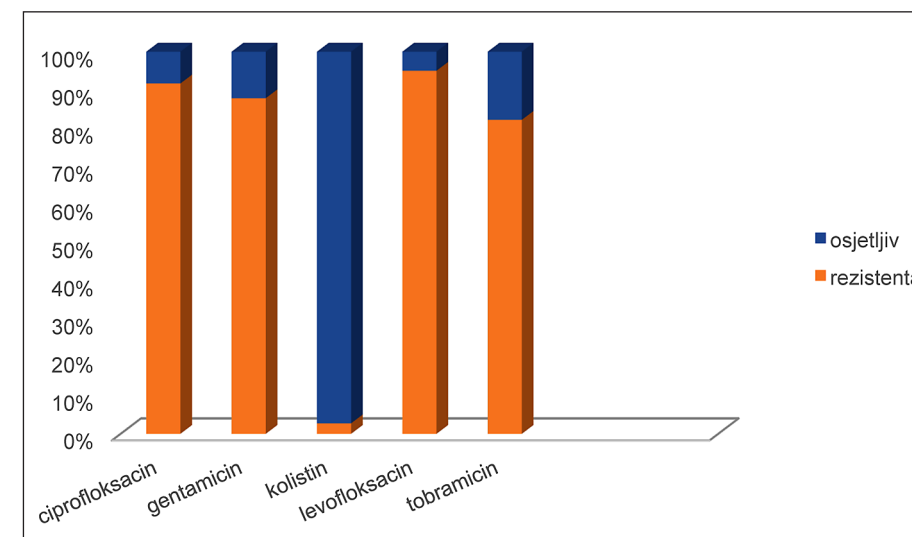
Izolati bakterije *Staphylococcus aureus* su testirani na ciprofloksacin, gentamicin, norfloksacin, levofloksacin,

kloramfenikol te mupirocin, a rezultati su prikazani na Slici 5.

Osjetljivost sojeva MRSA (Meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*) na testirane antibiotike je bila: 3,9% osjetljivo na ciprofloksacin (od 154 testirana soja), 77,22% na gentamicin (od 158 sojeva), 0% na levofloksacin (od 7 sojeva) i norfloksacin (od 12 sojeva) te 85,6% na mupirocin (od 125 testirana soja).

#### RASPRAVA

U ovom istraživanju proučavana je in vitro osjetljivost bakterija izoliranih

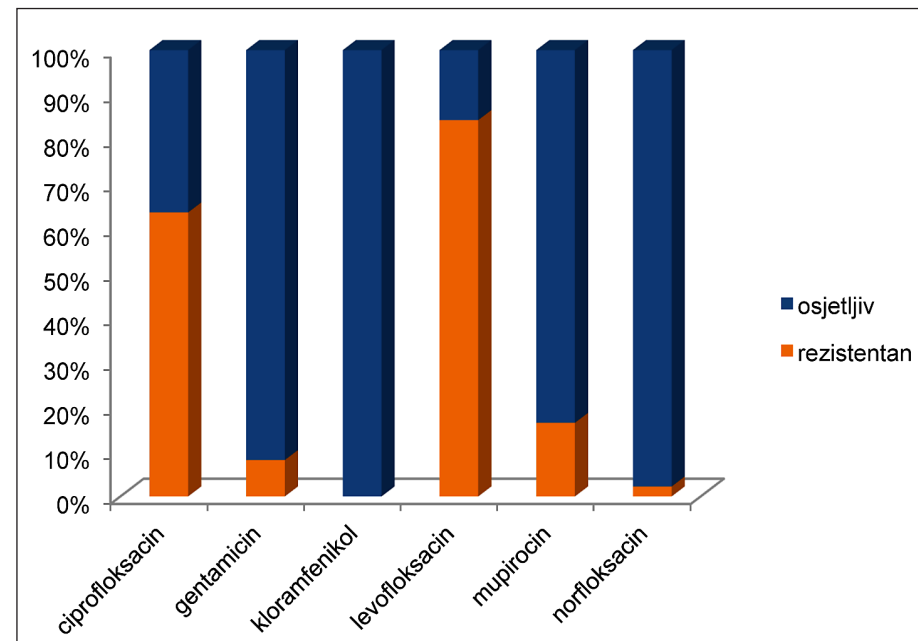


Slika 4. Osjetljivost *Acinetobacter baumannii* na antibiotike.

iz kliničkih uzoraka pacijenata u KBC Split koji su imali lokalizirane infekcije na topikalne antimikrobne lijekove u jednogodišnjem razdoblju. Velika upotreba antibiotika u posljednjih pedeset godina je selektivnim pritiskom potaknula preživljavanje sojeva rezistentnih na brojne antibiotike, a taj problem je danas sve izraženiji (12). Antimikrobna rezistencija (AMR) je prirodna pojava koja se javlja kada su mikroorganizmi izloženi antimikrobnim lijekovima. Djelovanjem selektivnog pritiska antibiotika, osjetljive bakterije se uništavaju ili inhibiraju, dok bakterije koje su prirodno rezistentne ili koje su postale rezistentne na antibiotike imaju veće šanse za preživljavanje i razmnožavanje. Nepotrebna i neodgovarajuća upotreba antibiotika doprinosi povećanju rezistencije na antibiotike (13).

U 2019. godini, Europskom centru za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) najveći je postotak prijavljenih rezistentnih sojeva na određenu vrstu antibiotika bio za bakterije *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* (14). *Escherichia coli* je jedna od najviše proučavanih i najraširenijih bakterija današnjice kod koje je rezistencija sve više izražena (15, 16). Kako je prikazano u ovom istraživanju, rezistencija ove bakterije bila je visoka na ciprofloksacin (15,98% rezistentnih od 2240 testiranih sojeva) i levofloksacin (15,34% od 2236 sojeva), potom na gentamicin (6,04% od 2218 sojeva) i tobramicin (7,30% od 137 sojeva), a niska na kloramfenikol (0% od 2 ispitivana soja) i kolistin (0% na 7 ispitivanih sojeva). Podatci prikupljeni našim istraživanjem za 2020. godinu pokazuju manje stope rezistencije za fluorokinolone i aminoglikozide u odnosu na izvješće ECDC-a za razdoblje od 2015.-2019. godine. Sojevi *Escherichia coli* koji proizvode beta-laktamaze proširenog spektra (ESBL) su globalna prijetnja za javno zdravlje. Otporni su na brojne klase antibiotika, što rezultira ograničenim terapijskim mogućnostima za liječenje infekcija uzrokovanih tim patogenima. Horizontalni prijenos gena razmjenom plazmida između sojeva ove bakterije poznati je izvor brzog širenja rezistencije na antimikrobne lijekove (15). Sojevi *Escherichia coli* koji luče β-laktamaze prošire-





Slika 5. Osjetljivost *Staphylococcus aureus* na antibiotike

nog spektra, u ovom istraživanju također nisu bili rezistentni na kloramfenikol i kolistin, ali analiziran je vrlo mali broj sojeva. Visoka rezistencija je zabilježena na ciprofloksacin i na levofloksacin. Ako usporedimo sojeve *Escherichia coli* koji ne produciraju ESBL s ESBL *Escherichia coli* možemo uočiti značajno visoku rezistenciju ESBL sojeva *E. coli* na ciprofloksacin, levofloksacin, gentamicin te tobramicin. Nije bilo razlike u osjetljivosti na kolistin i kloramfenikol, ali na te antibiotike je testiran mali broj izolata. Ispitivani aminoglikozidi i kinoloni ne bi bili dobar terapijski izbor u liječenju infekcija koje uzrokuju sojevi ESBL *Escherichia coli*.

Klebsiella pneumoniae je uobičajena crijevna bakterija koja može uzrokovati infekcije opasne po život. Rezultati ove studije pokazali su da su sojevi *K. pneumoniae* visoko rezistentni na tobramicin (70,63% od testiranih 126 sojeva), zatim slijedi ciprofloksacin (56,94% od 929 sojeva) te levofloksacin (55,99% od 927 sojeva). Od 914 testiranih sojeva, 41% je bilo rezistentno na gentamicin, a na kolistin 29,62% od 314 ispitivanih sojeva. Podatci ECDC-a za razdoblje od 2015.-2019. godine pokazuju trend porasta rezistencije bakterije u Europi, kao i u Hrvatskoj, na fluorokinolone, a pad rezistencije na aminoglikozide. U ovom istraživanju je

pokazano da je ESBL *Klebsiella pneumoniae* visoko rezistentna na ispitivane antibiotike u odnosu na sojeve *Klebsiella pneumoniae* koji ne luči ESBL. Kolistin je danas posebno važan kao sredstvo za liječenje po život opasnih infekcija koje uzrokuju enterobakterije rezistentne na karbapeneme (17).

Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* koristi brojne mehanizme rezistencije na antibiotike kao što su smanjenje propusnosti vanjske membrane, ekspresija efluks pumpi koje izbacuju antibiotike iz stanice i proizvodnja enzima koji inaktiviraju antibiotike (18). Prema podacima ovog istraživanja, visoka rezistencija sojeva *P. aeruginosa* je zabilježena na fluorokinolone, levofloksacin (97,28 od testiranih 1287 sojeva) te ciprofloksacin (96,61% od 1297 sojeva). Na aminoglikozide je rezistencija iznosila: na gentamicin 71,10% (od testiranih 173 sojeva), a na tobramicin 42,32% (od testiranih 690 sojeva). Najbolju učinkovitost je pokazao kolistin s rezistencijom od samo 5,08% na 197 ispitivanih sojeva. Prema prikupljenim podacima ECDC-a za razdoblje od 2015. do 2019. godine, rezistencija *P. aeruginosa* na fluorokinolone i aminoglikozide je u Hrvatskoj bila u padu. Kolistin se koristi za liječenje infekcija koje uzrokuje *Pseudomonas aeruginosa* zbog multirezistentnih profila mnogih sojeva,

što znači da ne postoje alternativni antibiotici koji bi se mogli propisati (19).

*Acinetobacter baumannii*, multirezistentni patogen, prema rezultatima prikazanim u ovom radu, dobro je osjetljiv jedino na kolistin - stopa rezistencije je 2,76%. Rezistencija na kinolone je visoka, tako da je na ciprofloksacin rezistentno 91,68% od 709 testiranih sojeva, a na levofloksacin 95,01% od testirana 702 soja. Rezistencija na aminoglikozide je također visoka te je na gentamicin bilo rezistentno 87,83% od 690 testiranih sojeva, a na tobramicin 82,17% od testirana 572 soja. Izvješće ECDC-a za razdoblje od pet godina u Europi pokazuje pad rezistencije sojeva *A. baumannii* na fluorokinolone te blagi porast rezistencije na aminoglikozide. Kolistin i tigeciklin ostaju jedini antibiotici aktivni protiv bakterije i posljednje su utočište u liječenju *Acinetobacter baumannii* rezistentnog na više lijekova (MDR).

*Staphylococcus aureus*, prema rezultatima ovog istraživanja, bio je visoko rezistentan na kinolone i to na levofloksacin (84,31% rezistentnih sojeva od 51 testiranog) i ciprofloksacin (63,62% od 481 soja). Dosta niža stopa rezistencije je zabilježena na mupirocin (16,49% od 291 testiranog soja) te gentamicin (8,15% od 491 soja). Najbolja učinkovitost, s najmanjim postotkom rezistencije, bila je na norfloksacin (2,22% od 45 sojeva) te na kloramfenikol (0% od 37 sojeva). Antibiotik mupirocin se sve više koristi za dekolonizaciju *Staphylococcus aureus* radi sprječavanja hospitalnih infekcija, međutim, povećana upotreba je dovela do rasta stope rezistencije i smanjene učinkovitosti (3). *Staphylococcus aureus* otporan na meticilin je glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u cijelom svijetu te je smrtnost od MRSA infekcija dvostruko veća od smrtnosti sličnih infekcija uzrokovanih meticilin osjetljivim sojevima zbog odgođenog adekvatnog liječenja (12). Ovim istraživanjem utvrđena je visoka rezistencija MRSA na ciprofloksacin, levofloksacin te na norfloksacin, iz čega možemo zaključiti da kinoloni nisu lijekovi izbora za liječenje infekcija uzrokovanih ovom bakterijom. Testirani sojevi MRSA su pokazali nisku rezistenciju na gentamicin te mupirocin. Pri usporedbi MSSA i MRSA sojeva uočljiva

je značajno visoka rezistencija MRSA na sve ispitivane antibiotike, osim na mupirocin, gdje je vidljiv blagi pad stope rezistencije MRSA u odnosu na MSSA soj. Izvješće ECDC-a za razdoblje od pet godina u Europi pokazuje trend pada udjela prijavljenih MRSA izolata, što nam govori da nacionalne smjernice i preporuke koje su pojedine zemlje donijele protiv širenja MRSA sojeva imaju učinak (14).

Jednom nastali otporni mutanti lako se šire u zajednici, pogotovo ako genetski materijal koji kodira rezistenciju uđe u soj s velikim epidemijskim i virulentnim potencijalom. Dok su mjere kontaktne izolacije u bolničkoj sredini dobro definirane, mjere kontrole širenja rezistentnih sojeva u izvanbolničkoj sredini su manje jasne. Bolje definiranje epidemiološki bitnih sojeva te praćenje njihovih rezervoara i načina prijenosa pomoći će nam u ograničavanju širenja rezistencije i očuvanju djelotvornosti antibiotika (20).

#### ZAKLJUČAK

Rezultati testiranja osjetljivosti bakterija koje najčešće uzrokuju lokalizirane infekcije na topikalna antimikrobna sredstva, izoliranih tijekom 2020. godine u KBC Split, pokazali su sljedeće:

- Izolati *Escherichia coli* koji ne luče ESBL te ESBL *Escherichia coli* su pokazali najveću stopu rezistencije na antibiotike ciprofloksacin i levofloksacin, a najmanju na kloramfenikol i kolistin. Pri usporedbi sojeva *Escherichia coli* koji ne luče ESBL s ESBL producirajućim sojevima, rezultati pokazuju znatno visoku rezistenciju ESBL sojeva na sve ispitivane antibiotike osim na kolistin i kloramfenikol (testiran je mali broj sojeva).
- Sojevi *Klebsiella pneumoniae* te ESBL *Klebsiella pneumoniae* su bili visoko rezistentni na antibiotik tobramicin, a nisko rezistentni na kloramfenikol i kolistin. ESBL sojevi su bili visoko rezistentni na sve ispitivane antibiotike osim na kloramfenikol i kolistin (unatoč malom broju testiranih izolata) u odnosu na sojeve koji nisu lučili ESBL.

- Sojevi *Pseudomonas aeruginosa* su bili visoko rezistentni na kinolone, levofloksacin i ciprofloksacin. Zbog niske rezistencije na kolistin, ovaj antibiotik prednjači u liječenju infekcija uzrokovanih ovom bakterijom.
- Sojevi *Acinetobacter baumannii* su bili visoko rezistentni na sve ispitivane antibiotike (najveći postotak na levofloksacin), dok je najmanji postotak rezistencije zabilježen za kolistin.
- Izolati *Staphylococcus aureus* su bili visoko rezistentni na levofloksacin, kao i MRSA sojevi koji su na ovaj antibiotik bili rezistentniji u većem postotku od MSSA. MRSA sojevi su bili dobro osjetljiviji na mupirocin, a MSSA na kloramfenikol i norfloksacin. Mupirocin ostaje lijek izbora kod dekolonizacije *Staphylococcus aureus*.

#### NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

#### ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

#### SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na [www.icmje.org/doi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/doi_disclosure.pdf) (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/doi\_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

#### LITERATURA

1. Davey P, Wilcox M, Irving W, Thwaites G. Topical use of antimicrobial agents. Oxford University Press. 2015. doi:10.1093/med/9780199689774.003.0022.
2. Ray P, Singh S, Gupta S. Topical antimicrobial therapy: Current status and challenges. *Indian J Med Microbiol.* 2019; 37: 299-308.
3. Dadashi M, Hajikhani B, Darban-Sarokhalil D, van Belkum A, Goudarzi M. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020; 20: 238-47. doi:10.1016/j.jgar.2019.07.032. Epub 2019 Aug 20.
4. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, urednici. "Medicinska mikrobiologija (Jawetz, Melnick i Adelberg)". Dvadeset šesto američko izdanje/prvo hrvatsko izdanje. Split: Placebo d.o.o., 2015 (prijevod udžbenika). 2015; 199-250.
5. Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus Aureus*. (obnovljeno 2021 Jul 21). In: Stat Pearls (Internet). Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2021 Jan. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>.
6. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17 (4): 203-18. doi:10.1038/s41579-018-0147-4.
7. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, DiIlio C. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health.* 2013; 10 (12): 6235-54. doi:10.3390/ijerph10126235.
8. Kawamura K, Nagano N, Suzuki M, Wachino JI, Kimura K, Arakawa Y. ESBL-producing *Escherichia coli* and its rapid rise among healthy people. *Food Saf (Tokyo).* 2017; 5 (4): 122-50. doi:10.14252/foodsafetyfscj.20170111.
9. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8: 4. doi:10.3389/fcimb.2018.00004.
10. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7: 55. doi:10.3389/fcimb.2017.00055.
11. European committee on antimicrobial susceptibility testing (Internet). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance; 2021 Jan 6. Dostupno na: [https://eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://eucast.org/clinical_breakpoints/).
12. Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis.* 2014; 14: 13. doi:10.1186/1471-2334-14-13.
13. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog Glob Health.* 2015; 109 (7): 309-18. doi:10.1179/2047773215Y.0000000030. Epub 2015 Sep 7.
14. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019. Stockholm: ECDC; 2020.
15. Center for Disease Control and Prevention [Internet]. How antibiotic resistance happens. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about/how-resistance-happens.html>.

16. Galindo-Méndez M (July 17th 2020). Antimicrobial resistance in Escherichia coli, E. Coli infections - Importance of early diagnosis and efficient treatment, Rodrigo L, Intech Open, doi: 10.5772/intechopen.93115. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/72615>.
17. World Health Organization (Internet). Antimicrobial resistance; 2020 Oct 13. Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/antimicrobial-resistance>.
18. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnol Adv. 2019; 37 (1): 177-92. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013. Epub 2018 Nov 27.
19. Brzozowski M, Krukowska Ż, Galant K. et al. Genotypic characterisation and antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients of different hospitals and medical centres in Poland. BMC InfectDis 20, 693 (2020). doi: 10.1186/s12879-020-05404-w.
20. Tambić Andrašević A, Bukovac A, Jelić M, Šoprek S, Gužvinec M. Escherichia coli - od komezala do multiplorezistentnog uropatogena. Infektološki glasnik (Internet). 2014 (pristupljeno 15.10.2021.); 34 (4): 189-94. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/143362>.

## Summary

### IN VITRO EFFICACY OF TOPICAL ANTIMICROBIAL DRUGS

Kristina Zurak, Marija Tonkić

*Aim of the research: The main aim of this research was to determine the susceptibility of bacterial isolates which are the most frequent causative agents of localized infections in UHC Split in 2020 to certain topical antimicrobial drugs and to determine which of the antibiotics tested is the best choice for empirical treatment of these infections.*

*Material and methods: In this retrospective study the data of susceptibility to topical antimicrobial drugs (aminoglycosides, fluoroquinolones, chloramphenicol, colistin and mupirocin) of certain types of bacteria that are the most common causes of localized infections were analysed. Bacterial isolates included were Escherichia coli and ESBL E. coli, Klebsiella pneumoniae (including Klebsiella pneumoniae ESBL strains), Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, and Staphylococcus aureus (including MRSA). Sensitivity was examined by disk diffusion method, and for colistin by broth dilution method.*

*Results: The results showed high resistance rates of Escherichia coli to the antibiotics ciprofloxacin and levofloxacin, and the low rates to chloramphenicol and colistin. Compared with Escherichia coli, the ESBL-producing strain of Escherichia coli showed significantly high resistance to all tested antibiotics except colistin and chloramphenicol. Strains of Klebsiella pneumoniae showed high resistance to the antibiotic tobramycin, and low resistance to chloramphenicol and colistin. ESBL-producing strains of this bacterium showed significantly high resistance to all tested antibiotics except chloramphenicol and colistin. Pseudomonas aeruginosa showed high resistance to ciprofloxacin and levofloxacin, and low to colistin. Acinetobacter baumannii strains were highly resistant to levofloxacin and showed low resistance to colistin. Staphylococcus aureus isolates were highly resistant to levofloxacin and sensitive to chloramphenicol and norfloxacin. MRSA strains were highly resistant to levofloxacin in significantly higher percentages than MSSA strains and showed the good sensitivity to mupirocin.*

*Conclusion: The data from this study follow the global trends of increasing resistance and can be assumed that this number will increase in the future.*

Keywords: RESISTANCE, TOPICAL ANTIMICROBIAL DRUGS, UNIVERSITY HOSPITAL OF SPLIT

Primljeno/Received: 25. 9. 2022.

Prihvaćeno/Accepted: 4. 11. 2022.