

Attività di rokitamicina vs altri macrolidi a 14, 15 e 16 atomi nell'anello lattonico su batteri Gram-positivi isolati a Parma

P. Somenzi, P. Mozzoni, M. Benecchi, MG. Menozzi, C. Chezzi

Istituto di Microbiologia, Università degli Studi di Parma

Riassunto: L'attività *in vitro* di rokitamicina vs altri macrolidi a 14, 15 e 16 atomi è stata saggiata nei confronti di 200 ceppi batterici Gram-positivi (60 *Streptococcus pyogenes*, 10 *Streptococcus agalactiae*, 30 *Streptococcus pneumoniae*, 50 *Staphylococcus aureus*, 50 *Staphylococcus* spp. coagulasi-negativi) isolati presso l'Istituto di Microbiologia di Parma nel corso dell'anno 1998 da campioni di pazienti ambulatoriali e/o ricoverati nell'Azienda ospedaliera.

Rokitamicina si è dimostrata più attiva di eritromicina, claritromicina e azitromicina su tutte le diverse specie esaminate. Nell'ambito dei macrolidi a 16 atomi messi a confronto rokitamicina, nei saggi *in vitro*, è risultata più attiva di josamicina su *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *Staphylococcus* spp. coagulasi-negativi (16,6%, 20%, 28% di ceppi resistenti) e ugualmente attiva su *S.agalactiae* e *S.aureus* (10%, 40% di ceppi resistenti). Spiramicina ha mostrato un'alta percentuale di ceppi con resistenza intermedia, tale da renderla poco efficace *in vitro* su tutte le diverse specie saggiate fatta eccezione per i ceppi di *S.agalactiae*.

È stata rilevata una maggior diffusione del fenotipo di resistenza, caratterizzato da una resistenza crociata tra eritromicina, claritromicina ed azitromicina non condivisa dai macrolidi a 16 atomi saggiati. Pertanto risulterebbe opportuno inserire rokitamicina o josamicina nei saggi *in vitro* routinari, non potendo considerare la resistenza ad eritromicina predittiva di una resistenza nei loro confronti. Per l'attività *in vitro* dimostrata e per le sue peculiari caratteristiche farmacocinetiche rokitamicina rappresenta dunque un importante strumento nella terapia delle infezioni da Gram-positivi delle alte vie respiratorie, nonché di infezioni miste delle basse vie respiratorie, di infezioni otorinolaringoiatriche ed odontostomatologiche.

Abstract: *In vitro* activity of rokitamycin vs other 14-, 15- and 16-membered macrolides has been evaluated against 200 Gram-positive bacterial strains (60 *Streptococcus pyogenes*, 10 *Streptococcus agalactiae*, 50 *Staphylococcus aureus*, 30 *Streptococcus pneumoniae*, 50 coagulase-negative *Staphylococcus* spp.) isolated during 1998 at the Institute of Microbiology in Parma from clinical samples of outpatients and inpatients of the general hospital.

Rokitamycin has revealed to be more active than erythromycin, clarithromycin and azithromycin against all the bacterial species investigated. Among the 16-membered macrolides compared, rokitamycin was shown to be more active than josamycin against *S.pneumoniae*, *S.pyogenes* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp. (16.6%, 20% and 28% resistant strains to josamycin, respectively) and equally active against *S.agalactiae* and *S.aureus* (10% and 40% resistant strains to josamycin). Moreover, a high percentage of strains with an intermediate resistance to spiramycin has been found. Overall, spiramycin seems to exert a low *in vitro* activity against all the bacterial species examined, with the exception of *S.agalactiae* strains.

Our results have shown a higher prevalence of a resistant phenotype, that exhibits cross-resistance among erythromycin, clarithromycin and azithromycin, not shared by the 16-membered derivatives tested. This finding suggests the opportunity to evaluate routinely rokitamycin (or josamycin) in a *in vitro* assay, since a resistance to these compounds is not predictable from a determined resistance to erythromycin. Besides that, due to its peculiar pharmacokinetic properties, rokitamycin may be a valuable tool for the treatment of the respiratory tract infections and of the otorinolaryngological and odontological mixed infections, in which Gram-positive bacteria are involved.

Introduzione

I macrolidi rappresentano un gruppo di farmaci antibatterici omogenei per struttura chimica, spettro e

meccanismo d'azione, ma con differenti caratteristiche farmacocinetiche (16). Dopo la scoperta dei composti naturali, quali ad es. eritromicina, josamicina e spiramicina (con 14 e 16 atomi nell'anello lat-

tonico, rispettivamente), sono state prodotte delle molecole semisintetiche, ugualmente a 14, 15 e 16 atomi, allo scopo di migliorare le caratteristiche sopracitate. Claritromicina, 6-O-metileritromicina (a 14 atomi), risulta infatti più stabile in condizione di acidità; azitromicina (a 15 atomi) possiede uno spettro d'azione ampliato verso specie Gram-negative e rokitamicina (a 16 atomi) presenta dei vantaggi farmacocinetici e microbiologici, in particolare di spettro d'azione, che include ceppi eritromicino-resistenti di *Streptococchi* (11).

Dalla letteratura viene segnalato un consistente aumento delle resistenze a eritromicina nei microrganismi Gram-positivi, che costituisce attualmente un vero problema nell'approccio terapeutico "ragionato" delle infezioni su esclusive basi epidemiologiche. Inoltre, la presenza di ceppi eritromicino-resistenti sembra essere una concausa nel mantenere alto il livello circolante di diversi tipi di *S. pyogenes* e della ricomparsa pertanto di complicanze gravi suppurative e non a livello nazionale ed internazionale (1, 3-6, 9-11, 13, 15, 18-20).

L'obiettivo del nostro lavoro scaturisce dalla necessità di possedere dati epidemiologici locali e di sorvegliare nel nostro ambiente le resistenze ai macrolidi di recente sintesi, quale ad esempio rokitamicina, al fine di prevenire una rapida selezione di stipti resistenti già presenti nell'ambiente stesso.

Materiali e Metodi

Ceppi batterici

Sono stati complessivamente saggiati 200 ceppi Gram-positivi isolati da materiale patologico, che includono *S. pyogenes* (n° 60), *S. agalactiae* (n° 10), *S. pneumoniae* (n° 30), *S. aureus* (n° 50) e *Staphylococcus* spp. coagulasi-negativi (n° 50).

I ceppi batterici sono stati isolati presso l'Istituto di Microbiologia- Università degli Studi di Parma nel corso dell'anno 1998 da campioni di pazienti ambulatoriali e/o ricoverati nell'Azienda ospedaliera di Parma. I materiali patologici esaminati provenivano dalle alte vie respiratorie (48 *S. pyogenes*, 16 *S. pneumoniae*, 2 *S. aureus*), dalle basse vie respiratorie (2 *S. pyogenes*, 9 *S. pneumoniae*, 2 *S. agalactiae*, 10 *S. aureus*), dal sangue (1 *S. pneumoniae*, 11 *S. aureus* e 16 Stafilococchi coagulasi-negativi) e da altri materiali patologici, quali liquido cefalorachidiano, ascitico, sinoviale, addominale, pus e tamponi da ferita chirurgica, punte catetere (10 *S. pyogenes*, 8 *S. agalactiae*, 5 *S. pneumoniae*, 27 *S. aureus* e 34 Stafilococchi coagulasi-negativi).

Antibiotici

Eritromicina, claritromicina, azitromicina, spiramicina, josamicina e rokitamicina sono stati saggiati con il metodo di Kirby-Bauer su Mueller Hinton addizionato e non con sangue defibrinato di montone (5%), secondo le indicazioni del NCCLS (17).

Come controllo è stato usato il ceppo di *S. aureus* ATCC 29213.

Risultati

Nell'ambito dei ceppi di *S. pyogenes* saggiati (Fig.1) 11,6% è risultato resistente a rokitamicina, 16,6% a josamicina. Significativamente elevata è la percen-

Figura 1. Resistenza a Rokitamicina e ad altri macrolidi in *Streptococcus pyogenes*

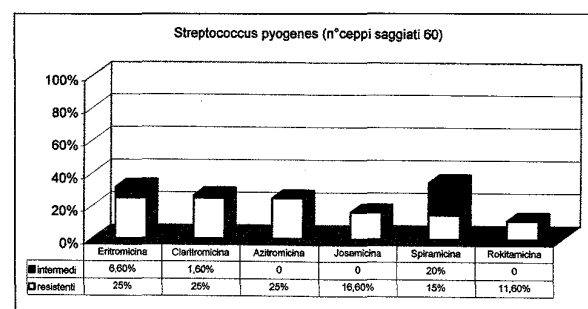
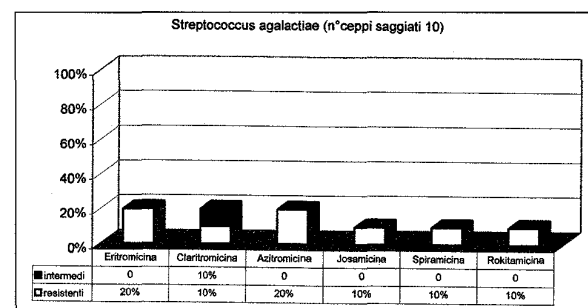
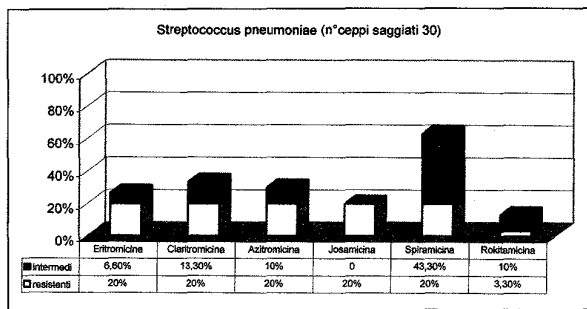
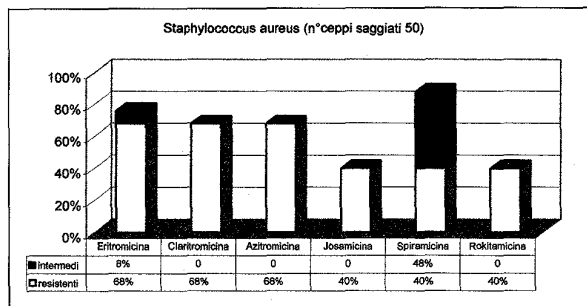
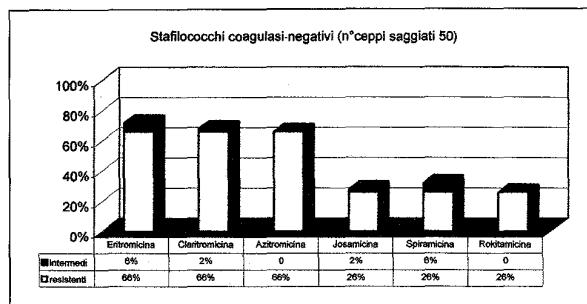


Figura 2. Resistenza a Rokitamicina e ad altri macrolidi in *Streptococcus agalactiae*



tuale di ceppi, che presenta resistenza intermedia a spiramicina (20%), che eleva il numero complessivo dei resistenti a 35%. Eritromicina, claritromicina ed azitromicina sono risultati inefficaci sul 31,6%, 26,6% e 25% di *S. pyogenes* saggiati, rispettivamente. *S. agalactiae* ha mostrato una uguale sensibilità (Fig. 2) a rokitamicina, spiramicina e josamicina (10% di resistenti a tutti e tre i farmaci). Il numero di ceppi resistenti a eritromicina, claritromicina ed azitromicina è risultato raddoppiato (20%), anche se

Figura 3. Resistenza a Rokitamicina e ad altri macrolidi in *Streptococcus pneumoniae***Figura 4. Resistenza a Rokitamicina e ad altri macrolidi in *Staphylococcus aureus*****Figura 5. Resistenza a Rokitamicina e ad altri macrolidi in Stafilococchi coagulasi-negativi**

nei confronti di claritromicina il 10% circa presentava una resistenza intermedia.

S. pneumoniae è risultato complessivamente resistente (Fig. 3) a rokitamicina nel 13,3% degli stipti saggiati, nella maggior parte dei quali la resistenza svelata era a bassi livelli (10%). Alti livelli di resistenza a josamicina sono stati ritrovati nel 20% dei ceppi così come a spiramicina, nei confronti della quale tuttavia *S. pneumoniae* ha mostrato una ulteriore percentuale di stipti con resistenza intermedia (43,3%). Spiramicina pertanto è risultata inefficace *in vitro* sul 63,3% degli *S. pneumoniae* saggiati.

Eritromicina, claritromicina ed azitromicina sono risultati inefficaci complessivamente nel 26,6%, 33,3% e 30%, rispettivamente, valori che includono bassi livelli di resistenza (6,6% a eritromicina, 13,3% a claritromicina e 10% ad azitromicina).

Tutti i macrolidi messi a confronto hanno dimostrato una modesta attività su *S. aureus* (Fig. 4). Rokitamicina e josamicina sono risultate inefficaci sul 40% dei ceppi analogamente a spiramicina, che ancora una volta ha presentato un ulteriore 48% di ceppi con bassi livelli di resistenza tanto da risultare inefficace sull' 88% dei ceppi saggiati. Eritromicina, claritromicina ed azitromicina sono risultati inefficaci sul 68% dei ceppi con resistenze ad alti livelli, valore che si eleva a 74% per eritromicina se si includono i ceppi con resistenza intermedia. Considerazioni analoghe possono venire fatte nell'ambito degli stipti di *Staphylococcus* spp. coagulasi-negativi saggiati (Fig.5): 26% dei ceppi resistenti a rokitamicina ed a josamicina e 32% a spiramicina; molto più elevato è il numero di Stafilococchi coagulasi-negativi resistenti ad eritromicina, claritromicina ed azitromicina (72%, 68% e 66%, rispettivamente).

I risultati ottenuti sono infine stati analizzati, suddividendo i ceppi clinici saggiati in base alla sede di provenienza del campione: ceppi isolati dalle basse e dalle alte vie respiratorie ed ancora isolati da altri liquidi organici provenienti da sedi diverse rispetto all'apparato respiratorio. Limitatamente alla popolazione batterica studiata per nessuna delle diverse specie saggiate è stato possibile rilevare una differenza percentuale delle resistenze nei confronti dei farmaci oggetto dello studio. Analogamente, analizzando infine il comportamento dei ceppi di *S. pyogenes* e di *S. pneumoniae*, isolati rispettivamente da pazienti ambulatoriali o ricoverati, non è stata rilevata alcuna differenza significativa nella distribuzione delle resistenze rilevate.

Discussione e conclusioni

I risultati ottenuti confermano che l'epidemiologia delle resistenze ai macrolidi nel nostro ambiente si colloca complessivamente nella media nazionale recentemente riportata in letteratura, che ha altresì segnalato una ampia variabilità loco-regionale, motivando pertanto la necessità di una sorveglianza allo scopo di consentire una scelta terapeutica ragionata su basi locali (3-6, 9, 19-20, 23).

La percentuale di ceppi resistenti a eritromicina, claritromicina ed azitromicina riscontrata nell'ambito di *Streptococcus pyogenes* (31,6%, 26,6% e 25%, rispettivamente), di *S. agalactiae* (20%) e di *S. pneumoniae* (26,6%, 33,3% e 30%) inducono a ritenere

necessaria una verifica *in vitro* della loro attività per condurre a termine una terapia eventualmente instaurata su basi presuntive. Considerazioni analoghe e con maggiore enfasi possono essere fatte tenendo conto della loro attività dimostrata nei confronti di *S. aureus* e di Stafilococchi coagulasi-negativi (percentuale di resistenti uguale o maggiore del 68% dei ceppi saggiati).

Rokitamicina si è dimostrata molto più attiva dei macrolidi sopracitati (con 14 o 15 atomi nell'anello lattonico) su tutte le diverse specie esaminate nel saggio comparativo, essendo state rilevate complessivamente delle percentuali di resistenza pari a 11,6% in *S. pyogenes*, a 10% in *S. agalactiae*, a 13,3% in *S. pneumoniae* ed, infine, pari a 40% in *S. aureus* ed a 26% in Stafilococchi coagulasi-negativi. Nell'ambito dei macrolidi a 16 atomi messi a confronto è stato interessante verificare che rokitamicina nei saggi *in vitro* è risultata più attiva di josamicina nei confronti di *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, Stafilococchi coagulasi-negativi (16,6%, 20% e 28% di ceppi resistenti a josamicina, rispettivamente) ed ugualmente attiva su *S. agalactiae* e *S. aureus* (10% e 40% di ceppi resistenti, rispettivamente). Spiramicina, al contrario, ha mostrato una alta percentuale di ceppi con bassi livelli di resistenza tale da renderla poco efficace *in vitro* su tutte le diverse specie saggiate, fatta eccezione per i ceppi di *S. agalactiae*. La percentuale complessiva di ceppi resistenti è pertanto risultata generalmente superiore a tutti i diversi macrolidi messi a confronto, inclusi quelli con 14 o 15 atomi nel loro anello lattonico. Nel nostro saggio viene pertanto rilevata una minore efficacia *in vitro*, da 5 a 20 volte inferiore, di spiramicina nei confronti di eritromicina, dato concordemente riportato in letteratura (18, 22). Viene altresì segnalata una differenza marcata di comportamento di spiramicina *in vitro* ed *in vivo*, attribuita da alcuni Autori alla sua grande affinità per i tessuti, dove raggiunge una concentrazione molto più elevata che nel siero e al suo prolungato effetto post-antibiotico (18).

E' stata rilevata dai nostri risultati una maggiore diffusione del fenotipo di resistenza, caratterizzato dalla resistenza crociata segnalata in letteratura tra eritromicina, claritromicina ed azitromicina (3-4, 6, 11, 15) e che consente pertanto il saggio *in vitro* routinario della sola eritromicina sui batteri Gram-positivi. Al contrario, i macrolidi a 16 atomi sembrano non condividere questa resistenza crociata, rokitamicina e josamicina in particolare; di conseguenza potrebbe essere opportuno un loro inserimento nei saggi *in vitro* routinari non potendo considerare la resistenza ad eritromicina predittiva di una resistenza nei loro confronti.

Infine, insieme alla migliore attività *in vitro* dimostrata nel confronto, è opportuno ricordare che roki-

tamicina presenta caratteristiche peculiari, legate all'attività battericida, all'effetto post-antibiotico, alla sua farmacocinetica, alla capacità di accumularsi nei leucociti così da indurre a ritenerla un sicuro progresso nell'ambito dei macrolidi. Studi *in vivo* sembrano confermare una efficacia clinica nella terapia delle infezioni da Gram-positivi delle alte vie respiratorie, nonché di altre infezioni miste delle basse vie respiratorie, di infezioni otorinolaringoiatriche ed odontostomatologiche (2, 7-8, 12, 15, 21, 24).

Bibliografia

- Betriu C, Sanchez A, Gomez M, Cruceyra A, Picazo JJ. Antibiotic susceptibility of group A Streptococci: a 6-year follow-up study. *Antimicrob Agents Chemother* 37 (8), 1717-1719, 1993.
- Capobianco FS et al. Studio policentrico sull'efficacia e tollerabilità della Rokitamicina nelle infezioni ORL. *Otorinolaringol* 45, 213-222, 1995.
- Chelossi E, Platè M, De Leo C, Schito GC. Attività di alcuni antibiotici su *S. pyogenes* isolati recentemente in Italia. *Gimmoc I* (n°2), 7-21, 1997.
- Chelossi E, Platè M, De Leo C, Schito GC. Analisi genotipica di *Streptococcus pyogenes* eritromicino-resistenti isolati recentemente in Italia. *Gimmoc II* (n° 3), 9-20, 1998.
- Cipriani P, Debbia EA, Gesu GP, Menozzi MG, Nani E, Nicolosi V et al. Indagine policentrica AMCLI sull'incidenza di resistenza agli antibiotici in *Streptococcus pyogenes*. *Microbiol Med* 5 (10), 171-174, 1995.
- Cornaglia G, Fontana R. The italian surveillance group of antimicrobial resistance: macrolide resistant *Streptococcus pyogenes* in Italy. 20th International Congress Chemotherapy Abstr 4307, Sidney 29/06-03/07/1997.
- D'Amato G et al. Studio sull'efficacia e la tollerabilità della Rokitamicina nelle infezioni sostenute da *Haemophilus influenzae* ed altri patogeni respiratori. *Minerva Pneumol* 35, 105-112, 1996.
- De Campora et al. Studio clinico aperto sull'efficacia e tollerabilità della rokitamicina nel trattamento delle infezioni batteriche in ORL. *Otorinolaringologia* 39, 589-592, 1989.
- Esposito S, Noviello S, Ianello F, D'Errico G. Epidemiological survey of erythromycin (E) resistance in *Streptococcus pyogenes* in Italy. 37th ICAAC Abstr E-111, Toronto 29/09-01/10/1997.
- Gerber MA. Antibiotic resistance in group A streptococci. *Antimicrob Res Ped* 3, 539-551, 1995.
- Hardy DJ, Hensey DM, Beyer JM, Vojtko C, McDonald EJ, Fernandes PB. Comparative *in vitro* activities of new 14-, 15- and 16- membered macrolides. *Antimicrob Agents Chemother* Vol. 32, No 11, 1710-1719, 1988.
- Ito A et al. Clinical evaluation of TSM-19-Q in treating respiratory tract infections in internal medicine. *The Chemotherapy* 32 (S-6), 282-294, 1984.

13. Klugman KP, Capper T, Widdowson CA, Koornhof HJ, Moser W. Increased activity of 16-membered lactone ring macrolides against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of South African isolates. *J Antimicrob Chemother* 42, 729-734, 1998.
14. Magliano E. Osservatorio Epidemiologico Italiano: introduzione, metodi e scopo della ricerca. *Gimmoc II* (n° 2), 7-14, 1998.
15. Mantero E, Bottaro L, Cruciani M, Ferrando A, Ratto S, Bassetti M, Bassetti D. Erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* associated with pharyngitis in Genoa, Italy. 37th ICAAC Abstr. C 72, Toronto 28/09-01/10/1997.
16. Mazzei T, Mini E, Novelli A, Periti P. Chemistry and mode of action of macrolides. *J Antimicrob Chemother* 31 Suppl. C, 1-9, 1993.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards 1997. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M100-S6, Vol. 17, No 2 M7-A4, 1997.
18. Rolin O, Boanchoaud DH. Comparraison de l'effet post-antibiotique de macrolides en C14 (erythromycine et roxithromycine) et en C16 (josamycine et spiramycine) vis a vis de *Staphylococcus aureus*. *Pathol-Biol (Paris)*, vol. 37 (5), 375-377, 1989.
19. Schito GC, Mannelli S, Debbia EA, Pesce A, Marchese A. Osservatorio Epidemiologico Italiano: analisi del primo anno di monitoraggio delle resistenze agli antibiotici in *Streptococcus pneumoniae*. *Gimmoc II* (n° 2), 15-27, 1998.
20. Schito GC. L' Osservatorio Epidemiologico Italiano della Fondazione Smith Kline: obiettivi, risultati, prospettive. *Gimmoc II* (n° 2), 43-52, 1998.
21. Schito GC, Pesce A and Marchese A. The role of macrolides in *Streptococcus pyogenes* pharyngitis. *J Antimicrob Chemother* 39, 562-565, 1997.
22. Vacek V. Spiramycin. *Cas-Lek-Cesk*, vol. 133 (2), 56-60, 1994.
23. Varaldo PE, Facinelli B, Manso E. Roxithromycin versus erythromycin: cross-resistance or susceptibility? *J Antimicrob Chemother* 26, 705-706, 1990.
24. Zuccotti GV et al. La Rokitamicina nel trattamento delle infezioni respiratorie del bambino. *Riv Ped Prev Soc* 40, 137-143, 1990.