

STAPHYLOCOCCUS AUREUS KÖKENLERİNDE FLOROKİNOLONLARLA KARŞILAŞMA SONRASINDA YÜKSEK DÜZEY OKSASİLİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF HIGH-LEVEL OXACILLIN RESISTANCE IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS AS A RESULT OF EXPOSURE TO FLUOROQUINOLONES

Şafak ERMERTCAN Mine HOŞGÖR LİMONCU Güner COŞAR

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Anahtar Sözcükler: *Staphylococcus aureus*, florokinolon, oksasilin direnci

Key Words: *Staphylococcus aureus*, fluoroquinolone, oxacillin resistance

ÖZET

Bu çalışmada, *Staphylococcus aureus* kökenlerinde florokinolonlarla karşılaşmanın metisilin direncine etkisi araştırıldı. Kökenlerin oksasilin ve florokinolonlara karşı duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards'ın önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Florokinolonlara duyarlı bulunan dört heterorezistan *S. aureus* ve *S. aureus* ATCC 29213 kökenleri ile çalışıldı. Kökenlerin, 0.5 x MİK florokinolon konsantrasyonu ile karşılaşma sonrası oksasilin direncini belirlemek için popülasyon analiz profili yapıldı. Kökenlerin popülasyon analiz profili hesaplandığında, heterorezistan kökenler arasında siprofloksasin ve levofloksasin ile karşılaşma sonrası kontrolle kıyaslandığında direnç oranlarında ortalama 100 kat artış olduğu görüldü. Kökenlerin florokinolonsuz ve 0.5 x MİK konsantrasyonda florokinolon içeren tüplerdeki enkübyasyonunun sekiz ve 20. saatlerinde oksasilinsiz ve oksasilinli Tryptic Soy Agar'a yapılan ekimlerinden üreme eğrisi elde edildi. Siprofloksasinle karşılaşma sonrasında heterorezistan kökenlerin rezistan indeksinde 8. saatte 1-10 kat, 20. saatte ise 0.6-100 kat artış saptandı. Levofloksasinle karşılaşma sonrasında ise heterorezistan kökenlerde bu artış 8. saatte 1-200, 20. saatte ise 17.5-3000 kat idi. Kökenlerin siprofloksasinin değişer konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında heterorezistan kökenlerde direnç geliştirme oranının siprofloksasin konsantrasyonuna paralel olarak arttığı ve 1 µg/mL'de en üst düzeye ulaştığı görüldü. Levofloksasinin değişer konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında rezistan indeksin 0.01'e kadar yükseldiği gözlemlendi. Bu çalışmada *S. aureus* kökenlerinin florokinolonlarla değişer süre ve dozlarda karşılaşma sonrasında oksasilin dirençlerinde artış olduğu saptandı.

SUMMARY

In this study, the effect of fluoroquinolones on the expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains was investigated. Oxacillin and fluoroquinolone susceptibility of the strains was determined using microdilution method recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards. The study was performed by four heteroresistant *S. aureus* and *S. aureus* ATCC 29213 strain, all of which are fluoroquinolone susceptible. Population analysis profiling was performed to determine the oxacillin resistance of the strains after their exposure to 0.5 x MIC of the fluoroquinolones. After the ciprofloxacin and levofloxacin exposure among the heteroresistant strains, it was seen that there was about 100-fold enhancement in their resistance rates compared with the control. Growth curve was obtained by plating onto Tryptic Soy Agar with and without oxacillin, from the incubation of the strains with and without 0.5 x MIC of the fluoroquinolones at various time points (8 h and 20 h). After the exposure to ciprofloxacin, the levels of increase detected in the resistance index of the heteroresistant strains was 1-10 fold at 8 h, and 0.6-100 fold at 20 h. After the exposure to levofloxacin, the levels of increase found in the resistance index of the

heteroresistant strains at 8 h were 1-200 fold and at 20 h were 17.5-3000 fold. After the exposure of heterosistant strains to various concentrations of ciprofloxacin, the levels of oxacillin resistance increased in parallel to the increasing concentration of ciprofloxacin and it reached the highest level in 1 µg/mL. The resistance index rises up to 0.01 after the exposure to various levels of levofloxacin. This study showed that various periods and levels of fluoroquinolone exposure seemed to increase the oxacillin resistance in *S. aureus* strains.

GİRİŞ

Staphylococcus aureus kökenleri hem hastanede hem de toplumda infeksiyon etkenleri arasında oldukça önemli bir yer almaktadırlar ve bu kökenlerin antibiyotik direnci gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) kökenlerinin diğer antibiyotiklere karşı daha kolay direnç geliştirdikleri belirtilmektedir (1-4). Metisilin bir beta-laktam antibiyotiktir ve bakteri hücre duvarındaki penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak etki gösterir. Metisiline düşük afinite gösteren PBP 2a'nın sentezi ile *S. aureus* kökenleri metisiline direnç kazanırlar. PBP 2a'yı kodlayan gen olan *mec A* geni bakteri kromozomunda *mec* bölgesinde bulunur. Bu bölge diğer antibiyotiklere karşı da direnç genleri taşımaktadır (5-8). *Staphylococcus aureus* kökenlerinde metisilin direnci homojen ve heterojen olarak ortaya çıkabilmektedir. *Mec A* geni ve onun ürünü olan PBP 2a metisilin direncinden tek başına sorumlu değildir. Metisilin direncinin derecesini *mec* genleri ile diğer kromozomal regülatör genlerin etkileşimi belirlemektedir. Bir kökendeki altpopülasyonlar değişik derecelerde direnç sergileyebildikleri için metisilin direnci sıklıkla heterojen olarak saptanabilir (5, 6, 9).

Kinolonların klinikte kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra başta MRSA olmak üzere bir çok kökende bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiği saptanmıştır. Bu kökenlerde farklı antibiyotiklere karşı direnç gelişimine neden olan çoklu direnç determinantları bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* kökenlerinde florokinolon direnci sıklıkla DNA giraz ve topoizomeras IV genlerinde nokta mutasyonlar sonucu kromozomal olarak, nadiren de aktif eflüks pompası regülasyonu ile ortaya çıkar (2, 5, 9-13). Bakterilerde florokinolonlardan özellikle siprofloksasinin subinhibitör konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında yapısal olarak farklı olan antimikrobiyal ajanlara karşı artan oranda dirençle karşılaşmaktadır. Kinolonlar bu etkiyi bakterideki mutasyon sıklığını ve error-prone SOS yanıtını değiştirerek oluşturmaktadır (5, 14).

Son yıllarda florokinolon kullanımının artması ile birlikte MRSA kökenlerinin neden olduğu infeksiyonlarda da bir artış gözlenmektedir. Metisilin direnci ile kinolon direnci arasında birliktelik olabileceği çeşitli makalelerde belirtilmektedir (2, 5, 10, 15). Bu ilişkinin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, *S. aureus* kökenlerinde kinolonlarla karşılaşmanın metisilin direnci üzerine etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* kökenleri çalışmaya alındı. Kökenlerin oksasilin ve florokinolonlara karşı duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'in önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi (16). Ayrıca 10⁸ cfu/mL konsantrasyonda hazırlanan kökenler 1 µg oksasilin diski kullanılarak Mannitol Salt Agar'da 24 saat 30° C'de inkübe edildi. Florokinolonlara (siprofloksasin ve levofloksasin) duyarlı bulunan, oksasilin diski etrafında 10-13 mm zon çapı oluşturan ve mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) 2-8 µg/mL arasında olan dört köken heterorezistan olarak kabul edilerek çalışmaya alındı (9). Kontrol kökeni olarak *S. aureus* ATCC 29213 kullanıldı.

Popülasyon analiz profili

Her bir kökeni antibiyotiksiz, diğeri 0.5 x MİK konsantrasyonda florokinolon içeren Tryptic Soy Broth'lara (TSB) (Difco) ekildi. Tüpler 37° C'lik su banyosunda çalkalanarak 20 saat inkübe edildi. Bakteri yoğunluğunun 10⁹ cfu/mL olması sağlandı. Daha sonra her bir tüpten biri 128 µg/mL oksasilin içeren diğeri oksasilin içermeyen % 2 NaCl'li Tryptic Soy Agar'a (TSA) (Difco) ekim yapıldı. Plaklar 37° C'de inkübe edilerek 24 ve 48. saatlerde koloni sayacı ile bakteri kolonileri sayıldı. Oksasilinli besiyerinde üreyen koloni sayısı oksasilinsiz besiyerinde üreyen kolonilerin sayısına bölünerek rezistans indeksi hesaplandı.

Üreme eğrisi

Bu yöntemle bakteri üremesine florokinolonların 0.5 x MİK konsantrasyonunun etkisi araştırıldı. 10⁵ cfu/mL bakteri süspansiyonu antibiyotiksiz ve 0.5 x MİK konsantrasyonda florokinolon içeren 10 mL TSB'ye ekildi. Tüpler 37° C'lik su banyosunda çalkalanarak 20 saat inkübe edildi. Tüplerden belirli saatlerde alınan örneklerden biri 128 µg/mL oksasilin içeren diğeri oksasilin içermeyen % 2 NaCl'li TSA'ya ekildi. Plaklar 37° C'de inkübe edilerek 24 ve 48. saatlerde koloni sayacı ile bakteri kolonileri sayıldı. Oksasilinli besiyerinde üreyen koloni sayısı oksasilinsiz besiyerinde üreyen kolonilerin sayısına bölünerek rezistans indeksi hesaplandı.

Doza bağlı yanıt

Bu yöntemle kökenlerin oksasilin direncine florokinolonların değişik konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı. Kökenler

antibiyotiksiz ve 0.03-1 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda florokinolon içeren 5 mL TSB'ye 5×10^5 cfu/mL yoğunlukta ekildi. Tüpler 37° C'lik su banyosunda çalkalanarak 20 saat inkübe edildi. Tüplerden alınan örneklerden biri 128 µg/mL oksasilin içeren diğeri oksasilin içermeyen % 2 NaCl'li TSA'ya ekildi. Plaklar 37° C'de inkübe edildi ve 24 ve 48. saatlerde koloni sayacı ile bakteri kolonileri sayılarak rezistans indeksi hesaplandı.

BULGULAR

Tablo 1'de görüldüğü gibi, kökenlerin popülasyon analiz profili hesaplandığında, heterorezistan kökenler arasında

siprofloksasin ve levofloksasin ile karşılaşma sonrası kontrolle kıyaslandığında direnç oranlarında ortalama 100 kat artış olduğu görüldü. Kontrol olarak kullanılan *S. aureus* ATCC 29213 kökeninde direnç gelişmedi.

Kökenlerin florokinolonsuz ve 0.5 x MİK konsantrasyonda florokinolon içeren tüplerdeki inkübasyonunun 8. ve 20. saatlerinde oksasilinsiz ve oksasilinli besiyerlerine yapılan ekimlerinden üreme eğrisi elde edildi. Siprofloksasinle karşılaşma sonrasında heterorezistan kökenlerin rezistans indeksinde 8. saatte 1-10 kat, 20. saatte ise 0.6-100 kat artış saptandı (Tablo 2). Levofloksasinle karşılaşma sonrasında ise heterorezistan kökenlerde bu artış 8. saatte 1-200, 20. saatte ise 17.5-3000 kat idi (Tablo 3).

Tablo 1. *Staphylococcus aureus* kökenlerinin florokinolonlarla 20 saat karşılaşma sonrasında oksasiline karşı hesaplanan rezistans indeksleri*

Kökenler	Kontrol	Siprofloksasin	Levofloksasin
Heterorezistan 1	1×10^7	1×10^4	3×10^5
Heterorezistan 2	1×10^7	7×10^5	4×10^5
Heterorezistan 3	5×10^6	2.5×10^4	3×10^4
Heterorezistan 4	1.3×10^5	3×10^5	1.5×10^4
ATCC 29213	0	0	0

* Oksasilinli besiyerinde üreyen koloni sayısı oksasilinsiz besiyerinde üreyen kolonilerin sayısına bölünerek rezistans indeksi hesaplanmıştır.

Tablo 2. *Staphylococcus aureus* kökenlerinin siprofloksasin ile değişen sürelerde karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksleri ve artış oranları

Kökenler	Kontrol RI*		Siprofloksasin			
	8 saat	20 saat	8 saat		20 saat	
			RI	Artış	RI	Artış
Heterorezistan 1	1×10^6	4×10^6	1×10^6	1	6×10^6	0.6
Heterorezistan 2	1×10^7	1×10^7	1×10^6	10	1×10^5	100
Heterorezistan 3	1×10^6	6×10^6	1×10^6	1	2×10^4	33
Heterorezistan 4	1×10^7	4×10^6	1×10^6	10	1×10^6	0.25
ATCC 29213	0	0	0	0	0	0

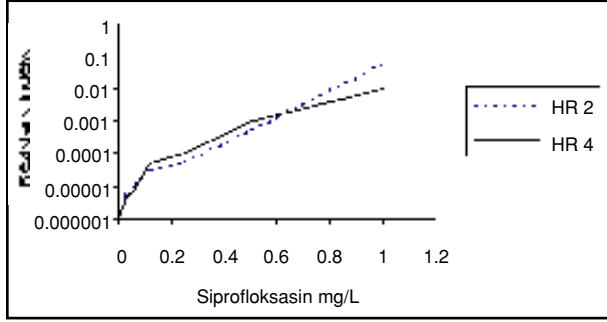
* Rezistans indeks

Tablo 3. *Staphylococcus aureus* kökenlerinin levofloksasin ile değişen sürelerde karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksleri ve artış oranları

Kökenler	Kontrol RI*		Levofloksasin			
	8 saat	20 saat	8 saat		20 saat	
			RI	Artış	RI	Artış
Heterorezistan 1	1×10^6	4×10^6	1×10^5	10	3×10^4	75
Heterorezistan 2	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1	3×10^4	3000
Heterorezistan 3	1×10^6	6×10^6	2×10^4	200	2×10^4	33
Heterorezistan 4	1×10^7	4×10^6	1×10^7	1	7×10^5	17.5
ATCC 29213	0	0	0		0	

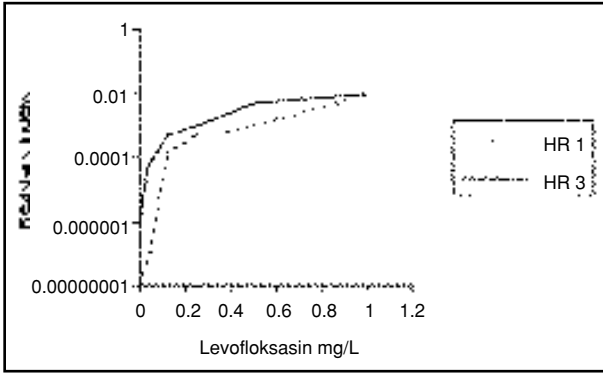
* Rezistans indeks

Kökenlerin siprofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksi göz önüne alındığında, heterorezistan kökenlerde direnç geliştirme oranının siprofloksasin konsantrasyonuna paralel olarak arttığı ve 1 µg/mL'de en üst düzeye ulaştığı görüldü (Şekil 1). Levofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında rezistans indeksin 0.01'e kadar yükseldiği gözlemlendi (Şekil 2).



HR: Heterorezistan

Şekil 1. *Staphylococcus aureus* kökenlerinin siprofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksi.



HR: Heterorezistan

Şekil 2. *Staphylococcus aureus* kökenlerinin levofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksi.

TARTIŞMA

Kromozomal haritada *mec A* geninin lokalizasyonunun protein A ile DNA giraz genleri arasında olduğu bildirilmiştir. Metisilin duyarlı kökenlerde florokinolon direncine düşük oranda rastlanması, florokinolonlara direnç gelişimi ile *mec A* aracılı oksasilin direnci arasında bir birliktelik olabileceğini akla getirmektedir (5).

Yapılan çalışmalar florokinolonların metisilin direncini arttırdığını göstermiştir. Fakat bu direncin mutasyon aracılı olmadığı düşünülmektedir. Özellikle siprofloksasin bir mutajen olarak aktivasyon göstermez fakat daha çok

popülasyondaki florokinolonlara dirençli kökenlerle oksasiline dirençli kökenleri seçebilir (2, 5, 10, 14).

Metisiline dirençli *S. aureus* kökenlerinde siprofloksasin ile sub-MİK düzeylerinde karşılaşma sonrasında yapısal olarak farklı antibiyotiklere karşı direnç gelişebildiği de gösterilmiştir (17).

Bu çalışmada, heterorezistan kökenlerin siprofloksasin ve levofloksasinin sub-MİK konsantrasyonu ile karşılaşma sonrasında oksasiline karşı direnç gelişiminde artış gözlemlendi. Bu artış oranı siprofloksasin ve levofloksasinde benzer olup ortalama 100 kat idi.

Venezia ve ark. (5) yaptıkları çalışmada, oksasiline karşı en fazla direnç gelişimini siprofloksasinin 0.5 MİK konsantrasyonu ile karşılaşma sonrasında saptamışlar ve artışın 100 katın üzerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Florokinolonlar MRSA kökenlerinde DNA replikasyonunu inhibe ettiklerinden dolayı uzamış bir lag faza neden olurlar. Bu antibiyotikler beta-laktam antibiyotiklerin aksine *S. aureus* kökenlerini 1-3 saatte inhibe ederler. Bu inhibisyon florokinolonların sub-MİK düzeylerinde 7 saate kadar uzar. Hızlı bakterisidal aktivite ise ilk 4-6 saatte meydana gelir. Bu sürede florokinolonlara duyarlı popülasyonlar ölümlenirken, dirençli popülasyonlar üremeye devam eder (5, 18, 19).

Bu çalışmada florokinolonlarla belirli süre karşılaşma sonrasında rezistans indeksteki artışı saptamak için florokinolonlu tüplerden yapılan ekimlerden hesaplanan rezistans indeksi, florokinolonsuz tüplerden yapılan ekimlerdeki ile kıyaslandı. Siprofloksasin ve levofloksasin ile 20 saatlik inkübasyon sonrasında sekiz saatlik inkübasyona göre rezistans indekste daha yüksek oranda artış saptandı. Bu artış oranının siprofloksasinde 100 katı bulurken, levofloksasinde 3000 kata ulaştığı görüldü.

2001 yılında yayınlanan bir çalışmada (5), levofloksasinle inkübasyonun 8. saatinde yapılan ekimlerde rezistans indekste 500 kat, siprofloksasinde ise 3000 kat artış saptamışlardır.

Bu çalışmada kökenlerin siprofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında hesaplanan oksasiline karşı direnç geliştirme indeksi göz önüne alındığında: heterorezistan kökenlerde direnç geliştirme oranının siprofloksasin konsantrasyonuna paralel olarak arttığı ve 1 µg/mL'de en üst düzeye ulaştığı görüldü. Levofloksasinin değişen konsantrasyonları ile karşılaşma sonrasında rezistans indeksin 0.01'e kadar yükseldiği gözlemlendi. Kökenlerin rezistans indeksi siprofloksasinin 0.5 µg/mL konsantrasyonunun üzerinde en üst düzeye ulaşırken, levofloksasinin 0.12 µg/mL konsantrasyonundan itibaren 10^{-3} - 10^{-2} seviyelerinde kaldığı gözlemlendi.

Venezia ve ark. (5) yaptıkları çalışmada, heterorezistan bir kökende 0.45 µg/mL siprofloksasin konsantrasyonunun üzerinde rezistans indeksi 10⁻¹ olarak saptamışlar, diğer kökenler ve farklı kinolonlarla da benzer sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir.

Kromozomal yerleşim olarak *mec A* geni ile DNA giraz geninin birbirine yakın olması bu antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin birbirlerini etkileyebildiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, *mec A* geninin heterojen ekspresyondan homojen ekspresyona dönüşüm mekanizması bilinmemektedir. *Mec A* transkripsiyonunun düzenlenmesi metisilin direncinin ortaya çıkışına neden olabilir (7,

8). Florokinolonlar DNA replikasyonunu geciktirerek, transkripsiyonu ve baskılayıcı protein üretimini etkileyebilir. Bunun sonucunda oksasilin direnç düzeyinde artış meydana gelebilir. Bununla birlikte, florokinolonlar ortamın pH'sını, ozmolaritesini ve ısısını değiştirmek yoluyla metabolik etkiyle MRSA altpopülasyonlarında bir artışa neden olabilir (5).

Bu çalışmada *S. aureus* kökenlerinin florokinolonlarla değişen süre ve dozlarda karşılaşma sonrasında oksasilin dirençlerinde artış olduğu saptandı. Elde edilen bu sonuçlar, yukarıdaki mekanizmalarla açıklanabilir. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Ayliffe GAJ. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): 74-9.
2. Pegues DA, Colby C, Hibberd PL, et al. The epidemiology of resistance to ofloxacin and oxacillin among clinical coagulase-negative staphylococcal isolates: analysis of risk factors and strain types. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 72-9.
3. Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1449-58.
4. Shopsis B, Mathema B, Martinez J, et al. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Dis* 2000; 182: 359-62.
5. Venezia RA, Domaracki BE, Evans AM, Preston KE, Graffunder EM. Selection of high-level oxacillin resistance in heterorezistant *Staphylococcus aureus* by fluoroquinolone exposure. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 375-81.
6. Gustafson JE, Berger-Bachi B, Strassle A, Wilkinson BJ. Autolysis of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 566-72.
7. Berger-Bachi B, Strassle A, Gustafson JE, Kayser FH. Mapping and characterization of multiple chromosomal factors involved in methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1367-73.
8. Ryffel C, Kayser FH, Berger-Bachi B. Correlation between regulation of *mec A* transcription and expression of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 25-31.
9. Swenson JM, Hindler JA, Peterson LR. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, DC: ASM Press, 1999: 1563-77.
10. Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. Induction of fibronectin binding proteins and increased adhesion of quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1428-37.
11. Schmitz FJ, Fluit AC, Hafner D, et al. Development of resistance to ciprofloxacin, rifampin, and mupirocin in methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3229-31.
12. Schmitz FJ, Fluit AC, Beeck A, Perdikouli M, von Eiff C. Development of chromosomally encoded resistance mutations in small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 113-24.
13. Fung-Tomc J, Kolek B, Bonner DP. Ciprofloxacin-induced, low level resistance to structurally unrelated antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1289-96.
14. Mamber SW, Kolek B, Brookshire KW, Bonner DP, Fung-Tomc J. Activity of quinolones in the Ames salmonella ta102 mutagenicity test and other bacterial genotoxicity assays. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 213-7.
15. Evans ME, Titlow WB. Selection of fluoroquinolone-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with ciprofloxacin and trovafloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 727.
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Approved Standard M7-A4. Villanova, PA: NCCLS, 1997.
17. Acar JF, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): 567-73.
18. Fung-Tomc JC, Gradeliski E, Valera L, Kolek B, Bonner DP. Comparative killing rates of fluoroquinolone and cell wall-active agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1377-80.
19. Guan L, Blumenthal RM, Burnham JC. Analysis of macromolecular biosynthesis to define the quinolone-induced postantibiotic effect in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2118-24.