

İDRARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERE OFLOKSASİNİN İN VİTRO AKTİVİTESİNDE İNOKULUM MİKTARININ, ORTAMIN pH, KALSİYUM VE MAGNEZYUM KONSANTRASYONUNUN ETKİSİ

Nilgün YILBAZ, Kurtuluş TÖRECI

ÖZET

İdrar yolu infeksiyonlarının bir kısmı, üreyi parçalayan mikro-organizmalarla meydana gelir. Bakteriler üreyi parçaladıkları zaman idrar pH'sını yükseltirler. Yüksek pH, yüksek kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonu ile yüksek inokulum miktarı bir çok antibakteriyel ajanın aktivitesini azaltmaktadır.

Bu çalışmada, pH, inokulum miktarları, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarındaki değişikliklerin, ofloksasinin aktivitesini ne yönde etkilediği araştırılmıştır. Yüksek pH ve inokulum miktarları ofloksasinin aktivitesini fazla etkilemediği halde, düşük pH değerleri ile yüksek kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarında MIC değerlerinde (her dilüsyon iki kat artışı göstermek üzere) 1-5 dilüsyonluk artış gözlenmiştir.

SUMMARY

The effects of inoculum size and pH, calcium and magnesium concentrations of the medium on the in vitro activity of ofloxacin on bacteria isolated from urine.

Some of the urinary tract infections caused by urea splitting microorganisms. The bacteria increase the urinary pH during the process of urea splitting. High pH, high calcium and magnesium concentrations and high inoculum size inhibit the antibacterial activity.

In this study, we examined the effects of different pH, inoculum sizes, calcium and magnesium concentrations on the antibacterial activity of ofloxacin.

High pH and high inoculum sizes did not significantly effect the activity of ofloxacin. However, low pH, high calcium and magnesium concentrations increased the MIC values of ofloxacin by 1-5 dilutions, each dilution showing a two-fold increase.

GİRİŞ

Üre parçalayıcı mikroorganizmalar ciddi üriner infeksiyonlara sebep olurlar. Bakteriler üreyi parçaladıkları zaman idrar pH'sını yükseltirler. Yüksek pH çoğunlukla nötral pH'de aktif olan birçok kemoterapötik ajanın antibakteriyel aktivitesini inhibe eder. Diğer yandan idrar yolu infeksiyonlarında etken olan mikroorganizmalar yüksek konsantrasyonda bulunabilirler. Bu nedenle in vitro duyarlık deneylerinde yüksek bakteri inokulumu önerilir (7). Bu tür infeksiyonlarda pH ve inokulum etkisi yanında, idrardaki kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarının da bu antagonizmaya sebep oldukları bilinmektedir (5, 6). Bu etkenler dolayısıyla bu tür infeksiyonların tedavisi güçleşebileceğinden, bu faktörlerin ofloksasinin idrardan izole edilen bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitesini etkileyip etkilemediği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

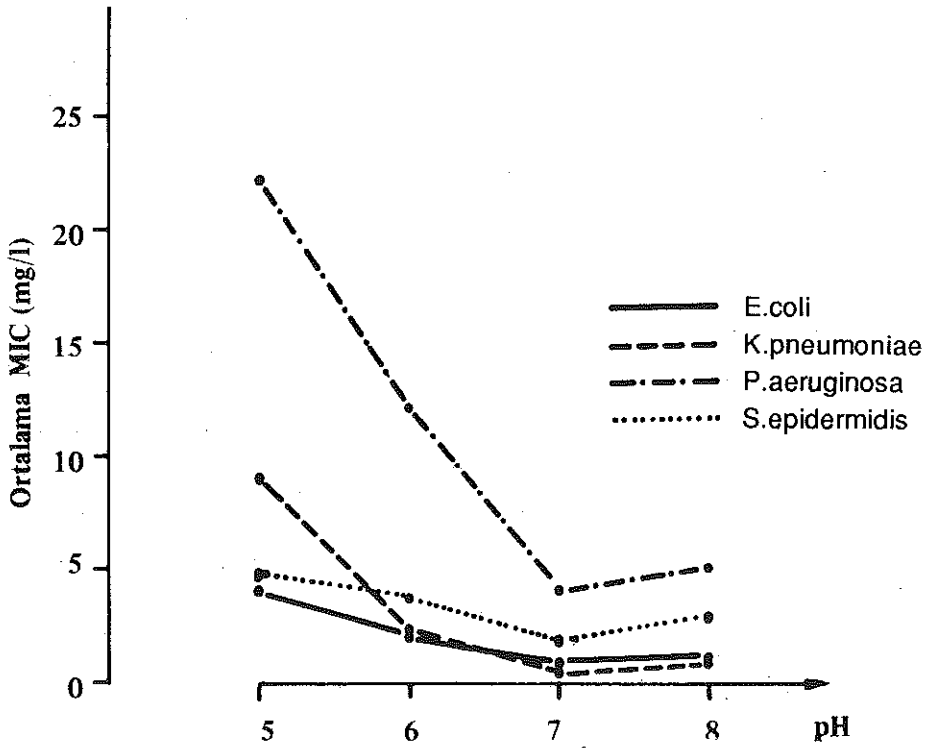
Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında, idrardan izole edilen 20 *E.coli*, 20 *K.pneumoniae*, 20 *P.aeruginosa* ve 20 *S.epidermidis* suşuna ofloksasinin in vitro etkinliğinde besiyeri pH'sının, besiyerindeki kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonları ile inokulum miktarının etkisi Mueller-Hinton jelozunda dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Çalışmada dört farklı pH (pH 5, 6, 7, 8), üç farklı inokulum miktarı (10^4 , 10^5 , 10^6 bakteri/ml), üç farklı kalsiyum konsantrasyonu (12, 50 400 mg/l) ve üç farklı magnezyum konsantrasyonunda (6.24, 200, 400 mg/l) ofloksasinin MIC değerleri belirlenmiştir. Herbir dilüsyon farkı MIC değerinde iki kat artışı göstermiştir (3 dilüsyon artış MIC'de $2^3=8$ kat artış). Besiyeri esasen litrede 12 mg kalsiyum ve 6.24 mg magnezyum içerdiğinden, bu miktarlar ilk konsantrasyonu oluşturmuş, diğer konsantrasyonlar besiyerine gerekli miktarda $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ilavesi ile sağlanmıştır.

BULGULAR

1. pH'in etkisi:

Ofloksasinin MIC değerleri pH 7'ye göre pH 5'de suşların tamamı için 1-5 dilüsyon, pH 6'da suşların 61'inde 1-4 dilüsyon artmıştır. Bunun yanında pH 7'ye göre pH 8'de 80 suştan 30'u için ofloksasinin MIC değerleri 1-2 dilüsyon artmıştır (Şekil 1).



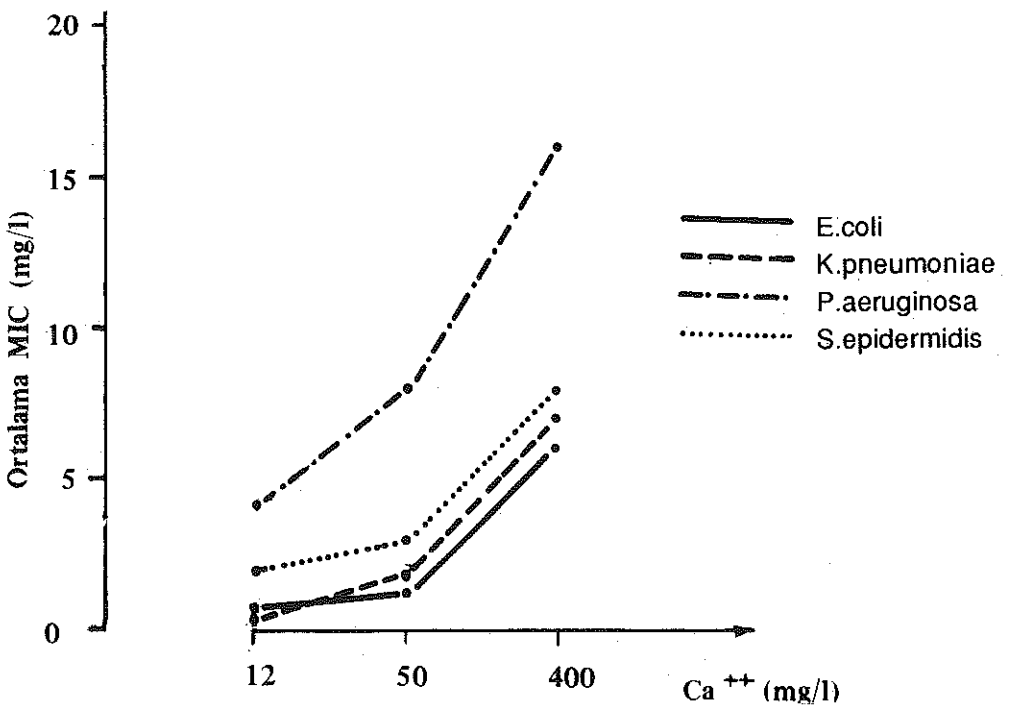
Şekil 1. Ofloksasinin in vitro aktivitesinde pH değışikliklerinin etkisi.

2. Kalsiyum konsantrasyonunun etkisi:

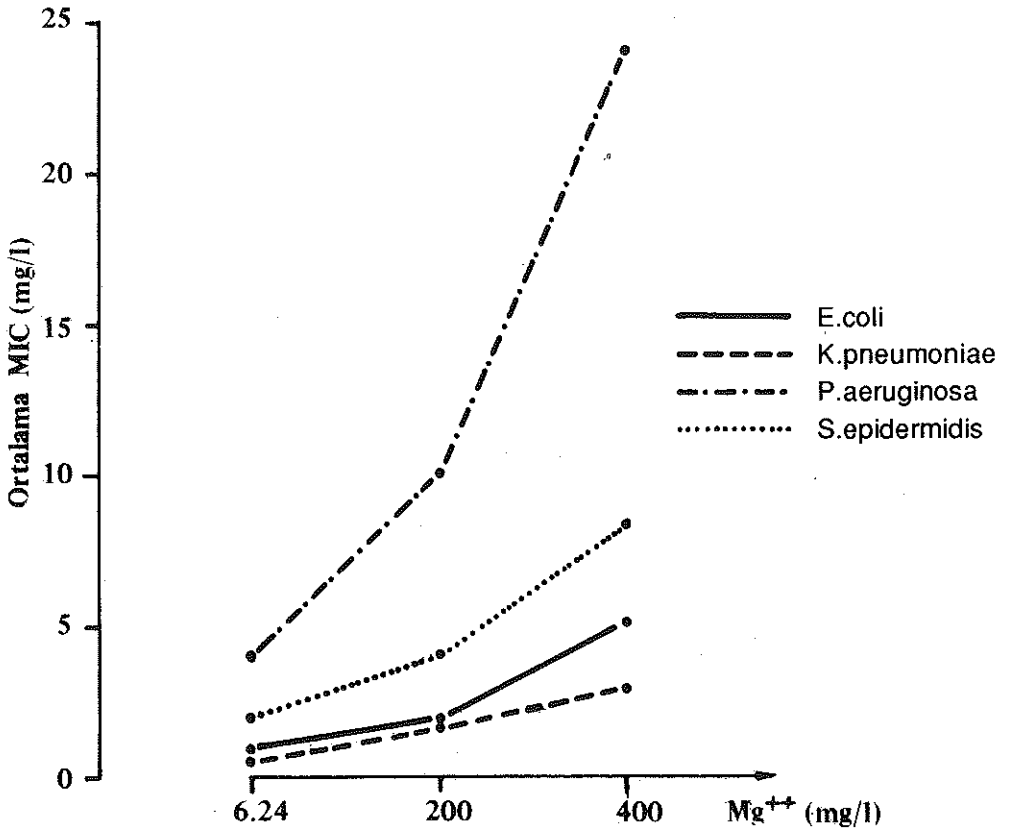
Ofloksasinin MIC değeri 12 mg/l kalsiyum konsantrasyonuna göre 50 mg/l kalsiyum konsantrasyonunda suşların 72'si için 1-3 dilüsyon artmış, 400 mg/l kalsiyum konsantrasyonunda ise suşların tamamı için 1-5 dilüsyon artmıştır (Şekil 2).

3. Magnezyum konsantrasyonunun etkisi:

Ofloksasinin MIC değeri 6.24 mg/l magnezyum konsantrasyonuna göre 200 mg/l magnezyum konsantrasyonunda 80 suşun 79'u için 1-2 dilüsyon artmış, 400 mg/l magnezyum konsantrasyonunda ise suşların tamamı için 1-4 dilüsyon artış olmuştur (Şekil 3).



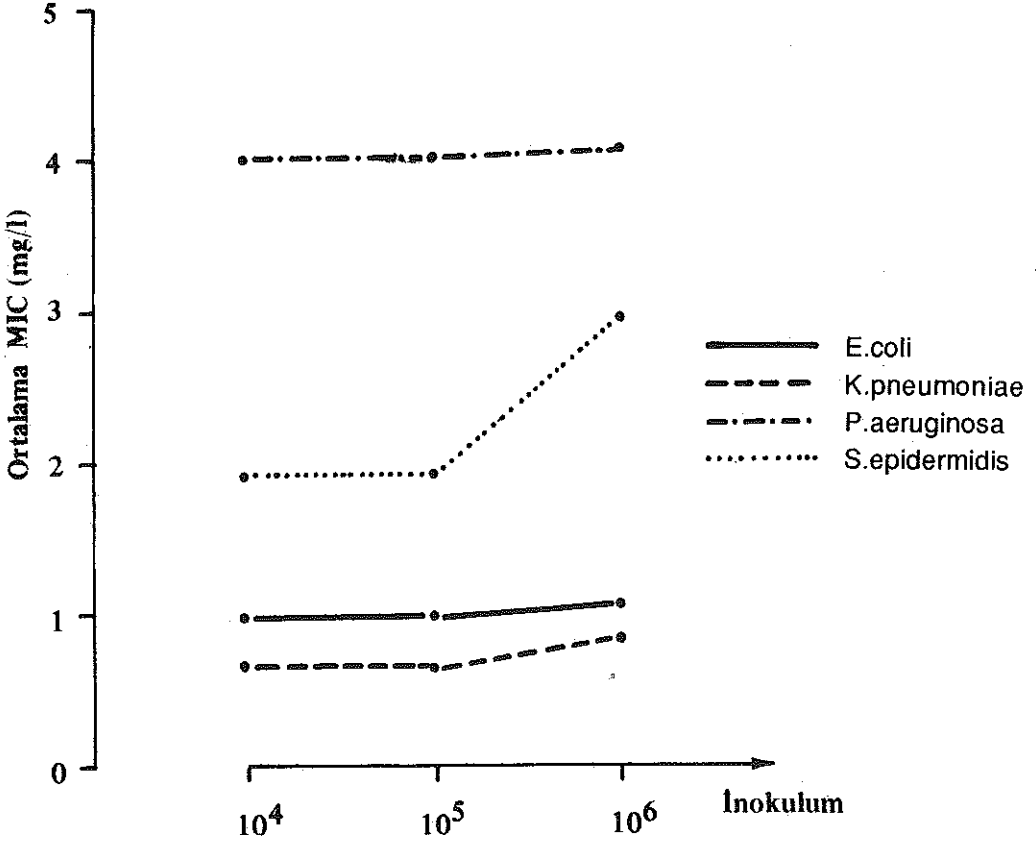
Şekil 2. Ofloksasinin in vitro aktivitesine kalsiyum konsantrasyonunun etkisi.



Şekil 3. Ofloksasinin in vitro aktivitesine magnezyum konsantrasyonunun etkisi.

4. İnokulumun etkisi:

Toplam 80 suşun ofloksasinin duyarlığında 10^4 inokulumu göre 10^5 inokulum kullanıldığında, ofloksasinin MIC değeri 5 suş için bir dilüsyon artmış, 10^6 inokulum kullanıldığında ise 20 suş için 1-3 dilüsyon artmıştır.



Şekil 4. Ofloksasinin in vitro aktivitesine inokulum miktarının etkisi.

TARTIŞMA

Ofloksasin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere geniş ve kalıcı etkisi nedeniyle, idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde de kullanılan yeni bir kinolondur.

İdrar pH'sındaki değişikliklerin, idrardaki çeşitli iyon konsantrasyonları ile etken mikroorganizmanın yüksek sayıda bulunmasının, idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan kinolonlar ve diğer kemoterapötik ajanların aktivitesine etkileri araştırılmıştır (1, 2, 3, 4).

Çalışmamızda ofloksasinin in vitro aktivitesinde nötr pH'dan asit pH'a gidildikçe MIC değerlerinde 1-5 dilüsyonluk artış gözlenmiştir. Yüksek pH'da ise önemli bir artış belirlenmemiştir. Torres ve ark. (7), çeşitli suşlara ofloksasinin MIC değerlerinde pH 7.4'den pH 8.5'e geçerken hafif bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

50 mg/l kalsiyum konsantrasyonunda ofloksasinin MIC değerleri 1-3 dilüsyon, bu oran 400 mg/l'ye çıkarıldığında ise 1-5 dilüsyon artmıştır. Benzer bir çalışmada besiyerine 10-20 mg/dl kalsiyum ilavesinde ofloksasinin MIC değerlerinde 2 kat, 40 mg/dl kalsiyum ilavesinde ise 4 kat artış olduğu bildirilmiştir.

200 mg/l magnezyum konsantrasyonunda ofloksasinin MIC değerleri 1-2 dilüsyon, 400 mg/l magnezyum konsantrasyonunda ise 1-4 dilüsyon artmıştır. Torres ve ark (7), besiyerine 10 mEq magnezyum ilavesinde ofloksasinin MIC değerlerinde 2 kat, 20 mEq magnezyum ilavesinde 2-4 kat artış olduğunu bildirmişlerdir.

Denediğimiz suşlar için *S.epidermidis* dışında inokulumun 10 ya da 100 kat artırılması, ofloksasinin MIC değerlerinde önemli bir değişiklik yapmamıştır. Torres ve ark. (7), 10^4 ve 10^6 cfu/ml inokulum kullanıldığında ofloksasinin MIC değerlerindeki artışın 2 kattan fazla olmadığını bildirmiştir.

Sonuç olarak yüksek pH değerleri ile yüksek inokulum miktarlarının ofloksasinin in vitro aktivitesinde önemli bir etkisi olmadığı, bunun yanında düşük pH değerleri ile, yüksek kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarının antagonistik etkisi olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Blaser J, Deflorin M, Borschberg U, Statzler A, Lüthy R: Effect of Ca^{++} , Mg^{++} and pH on the in vitro activity of quinolons and aminoglycosides against *P.aeruginosa*, *15th International Congress of Chemotherapy*, Istanbul, July 19-24 (1987).
- 2- Brumfitt W: Adjustment of urine pH in the chemotherapy of urinary tract infections, *Lancet* 2: 186 (1962).
- 3- D'Amato R F, Thornsberry C, Baker C N, Kirven L A: Effect of calcium and magnesium ions on the susceptibility of *Pseudomonas* species to tetracycline, gentamicin, polymyxin B and carbenicillin, *Antimicrob Agents Chemother* 7: 596 (1975).
- 4- Iravani A, Welty G S, Newton R, Richard G A: Effects of changes in pH, medium and inoculum size on the in vitro activity of amifloxacin against urinary isolates of *Staphylococcus saprophyticus* and *Escherichia coli*, *Antimicrob Agents Chemother* 27: 449 (1985).
- 5- Ratcliffe N T, Smith J T: Effect of magnesium on the activity of 4-quinolone antibacterial agents, *J Pharm Pharmacol* 35: 61 (1983).
- 6- Smith J T, Ratcliffe N T: Effect of pH on the in vitro activity of ciprofloxacin "Neu H C, Venta H (eds): *1st International Ciprofloxacin Workshop*, (Leverkusen 1985)", *Proceedings* s.12, Excerpta Medica, Amsterdam (1986).
- 7- Torres A, Fernandez-Roblas R, Mendez B, Soriano F: Comparative activity of ofloxacin and seven other antimicrobials against urea-splitting microorganisms, *Infection* 14: 233 (1986).