

SEFALOSPORİNLERDE PARADOKSAL ANTİBİYOTİK ETKİSİ ARANMASI VE SEFMENOKSİMİN ÇEŞİTLİ BAKTERİLERE ETKİSİ

A. Suat SARIBAŞ, Kurtuluş TÖRECİ

İstanbul'da klinik materyalden izole edilen *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Enterobacter*, *S. marcescens* ve *P. aeruginosa* suşlarına sefazolin, sefoksitin, sefotaksim, seftriakson, sefopeazon, seftazidim ve sefmenoksimin paradoksal etki gösterip göstermediği tüp-te dilüsyon yöntemi ile, sefmenoksım için ayrıca disk difüzyon ve 3 suş için iki farklı konsantrasyonda değişik zamanlarda ölüm oranı saptanarak araştırılmış ve denenen suşlar için bir paradoksal etki saptanmamıştır.

Çalışmamızda sefmenoksimin ülkemizde izole edilen suşlara etkisi ilk defa denenmiş ve diğer sefalosporinlerin etkisi ile karşılaştırılmıştır.

SUMMARY

Search for paradoxical antibiotic activity of cephalosporins and the activity of cefmenoxime on bacteria.

Paradoxical antibacterial activity of cefazolin, cefoxitin, cefotaxime, ceftriaxone, cefoperazone, ceftazidime and cefmenoxime on *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Enterobacter*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa* strains isolated in İstanbul was searched by tube dilution technique and additionally by disk diffusion and for three strains by killing rate experiments in various concentrations for cefmenoxime. No paradoxical activity was observed. The activity of cefmenoxime on bacteria was determined for the first time in this country and the results were compared with those obtained with other cephalosporins.

GİRİŞ

Bir bakterinin inhibe olmaya başladığı antibiyotik konsantrasyonunun birçok katı konsantrasyonda tekrar üremeye başlaması ya da yüksek antibiyotik konsantrasyonunda, daha düşük antibiyotik konsantrasyonunkinden, daha düşük oranda öldürülmesi paradoksal etki olarak bilinir.

Paradoksal etkiye çeşitli araştırmacılar birbirinden farklı antibiyotik ve bakteri çiftleri arasında rastlamışlardır. Ampisilin ve *E. faecalis*, penisilin G ve *S. aureus*, karbenisilin ve *P. mirabilis*, sefotaksim ve *S. aureus*, sefmenoksım ve *P. vulgaris*, mesillinam ve *P. stuartii*, sefotaksim ve *P. aeruginosa*, aminoglikozid grubu antibiyotikler ve çeşitli Gram negatif bakteriler arasında paradoksal etki bildirilmiştir (13). Bu etki için çeşitli araştırmacılar "Eagle effect", "anomalous", "paradoxical effect", "window", "target", "self-reversal", "skipped tube" terimlerini kullanmışlardır (1). Ikeda ve ark (5,6,7) da *P. vulgaris* ile sefmenoksım ve diğer beta-laktam antibiyotikler arasında paradoksal etkileşim gözlemişlerdir.

Çalışmamızın amacı sefalosporinlerin, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve bazı *Enterobacteriaceae* suşlarına paradoksal bir etki gösterip göstermediğini araştırmaktır. Bu amaca ek olarak Türkiye'de daha önce yukarıdaki bakterilere karşı denenmemiş olan sefmenoksimin in-vitro antibakteriyel etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Sefazolin, seftazidim, seftriakson, sefoksitin, sefotaksim, sefoperazon ve sefmenoksimin tablo 1'de gösterilen sayıda çeşitli muayene maddelerinden etken olarak izole edilmiş bakteri suşlarına paradoksal etki gösterip gösteremedikleri sıvı besiyerinde minimal inhibitör konsantrasyon (MIC)'un çok üstündeki konsantrasyonlara kadar sulandırma, sefmenoksim için toplam 50 suşta ayrıca agarda disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Ülkemizde bulunmayan sefmenoksim Takeda Chemical Industries Ltd (Osaka)'dan sağlanmış ve 30 µg, 60 µg, 100 µg, 300 µg sefmenoksim içeren diskler tarafımızdan hazırlanmıştır. Suşların 18-20 saatlik buyyon kültürleri 0.5 No'lu McFarland tüpü bulanıklığında sulandırılarak kullanılmış ve duyarlık deneyleri Mueller-Hinton besiyerinde yapılmıştır. Ayrıca birer *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşunun 2xMIC ve 4xMIC konsantrasyonlarda, bir *P. vulgaris* suşunun 5xMIC ve 10xMIC konsantrasyonlarda sefmenoksim bulunan besiyerlerinde, yüksek konsantrasyonda canlı bakteri kalmayana kadar değişik araklıklarla, zamana göre ölüm hızları belirlenmiş ve bakterinin daha yüksek konsantrasyonda antibiyotikle daha yavaş ölmesi şeklinde bir paradoksal etki olup olmadığı araştırılmıştır.

Tablo 1. Aralarında paradoksal etkileşim aranan sefalosporinler ve bakteriler.

| Bakteri | Sefazolin | Sefoksitin | Sefotaksim | Seftriakson | Sefoperazon | Seftazidim | Sefmenoksim |
|----------------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| <i>S. aureus</i> | 10 | | 140 | | 29 | 10 | 50 |
| <i>E. coli</i> | 10 | 10 | 25 | 10 | | 10 | 60 |
| <i>P. mirabilis</i> | 5 | 5 | 50 | 5 | 32 | 5 | 50 |
| <i>P. vulgaris</i> | 5 | 5 | | 5 | | 5 | 12 |
| <i>Enterobacter</i> | 10 | 10 | 10 | 10 | | 10 | 10 |
| <i>S. marcescens</i> | 8 | 8 | 8 | 8 | | 8 | 8 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 10 | 10 | 10 | 10 | | 10 | 60 |

BULGULAR

Tüpte dilüsyon deneylerinde, bu çalışmada kullanılan sefalosporinler ve bakteriler arasında bir paradoksal etki örneğine rastlanmamış, herhangi bir antibiyotik-bakteri çiftinde MIC'un üzerinde antibiyotik içeren bir tüpte üreme saptanmamıştır. Sefmenoksim dışında denenen sefalosporinler her türden az sayıda suşa denendiğinden ve çalışmanın amacı da bu olmadığından MIC'ları verilmemiştir. Nisbeten fazla sayıda denenen antibiyotik-bakteri çiftlerinde MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri, µg/ml olarak şu şekilde saptanmıştır: Sefotaksim için *S. aureus* suşlarına 12.5 ve 100, *E. coli* suşlarına 0.19 ve 50, *P. mirabilis* suşlarına 1.17 ve 75; sefoperazon için *S. aureus* suşlarına 3.12 ve 12.5, *P. mirabilis* suşlarına 3.12 ve 50.

Ülkemizde ilk defa denenen sefmenoksimin artan konsantrasyonlarında inhibe olan kümülatif suş sayıları ve MIC₅₀, MIC₉₀ değerleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Bu deneylerde de sefmenoksimin denendiği bakterilerden herhangi bir suş üzerine paradoksal etkisine rastlanmamıştır. Bunun üzerine 10'ar *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulga-*

ris, *P. aeruginosa* suşunun yayıldığı katı besiyerlerine 30 µg, 60 µg, 100 µg, 300 µg antibiyotik içeren sefmenoksim disklerinin uygulandığı deneyler yapılmış ve çift inhibisyon zonu (geniş inhibisyon zonu içinde bir üreme halkası) şeklinde belirecek paradoksal etki işareti aranmış fakat hiçbir suşa saptanmamıştır.

Tablo 2. Sefmenoksimin denenen suşlar için kümülatif MIC değerleri.

| Bakteri | Suş sayısı | Antibiyotik konsantrasyonu (mg/l) | | | | | | | | | | | | | | | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | | |
|----------------------|------------|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|-----|-------------------|-------------------|------|-----|
| | | 0.005 | 0.01 | 0.02 | 0.04 | 0.09 | 0.19 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 200 | | | 400 | |
| <i>S. aureus</i> | 50 | | | | | | | 9 | 9 | 20 | 23 | 26 | 35 | 40 | 42 | 45 | 50 | | 6.25 | 100 | |
| <i>E. coli</i> | 60 | | | 2 | 5 | 9 | 17 | 34 | 42 | 50 | 52 | 53 | 53 | 55 | 56 | 58 | 59 | 60 | | 0.39 | 25 |
| <i>P. mirabilis</i> | 50 | | | | | | 4 | 12 | 17 | 22 | 30 | 38 | 40 | 44 | 45 | 50 | | | 3.12 | 50 | |
| <i>P. vulgaris</i> | 12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 4 | 7 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 10 | 10 | 11 | 12 | | 0.39 | 100 | |
| <i>Enterobacter</i> | 10 | | | | | | | | | | | 1 | 2 | 2 | 6 | 8 | 10 | | 50 | 200 | |
| <i>S. marcescens</i> | 8 | | | | | | | | | | | 1 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | | 25 | | |
| <i>P. aeruginosa</i> | 60 | | | | | | | | | | | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 16 | 36 | 60 | 200 | 400 |

Birer *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşunun 2xMIC ve 4xMIC, bir *P. mirabilis* suşunun 5xMIC ve 10xMIC sefmenoksim konsantrasyonlarında yapılan ölüm kinetiği çalışmalarında daha yüksek konsantrasyonda daha düşük ölüm oranı şeklinde paradoksal etkiye rastlanmıştır.

Bu şekilde bu çalışmada toplam 766 antibiyotik-bakteri eşleşmesinin hepsinde dilüsyon yöntemi ile, ayrıca bazılarında disk difüzyon ve birkaçında ölüm kinetiği yöntemleri ile araştırılan paradoksal etki, hiçbir antibiyotik bakteri eşleşmesinde saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Paradoksal etki konusundaki araştırmalar arasında da pek çok paradoks sonuç vardır. Bazı çalışmalarda kullanılan suşların pek çoğunda paradoksal etki gözlenirken bazılarında çok az oranda gözlenmiş, bazı çalışmalar ise tesadüfen saptanan bir suşu ele almıştır.

Örneğin Goldstein ve Rosdahl (3) 79 *E. coli* suşunu ampicilinle denemiş ve suşların 76'sında ampicilin paradoksal etkisini saptamıştır. Paradoksal etki saptanan suşlardan 7'si değişik ampicilin konsantrasyonlarıyla muamele edildiğinde 5'inde "Eagle effect" denilen düşük konsantrasyonların yüksek konsantrasyonlardan daha öldürücü olması gözlenmiştir. Odenholt ve arkadaşları (11) 7 *S. aureus* suşunun 5'inde kloksasinin, 4'ünde penisilin paradoksal etkili olduğunu saptamışlar ve bu suşlar MIC'un iki katı konsantrasyonda antibiyotik varlığında, 100 katı antibiyotiktekinden daha süratli ölmüşlerdir.

Yourassowsky ve arkadaşları (15) da penisilin herbirinden 10'ar tane olmak üzere 17 bakteri türünde toplam 170 suşa paradoksal etki gösterip göstermediğini üç tabakalı agar yöntemiyle araştırmışlar ve *S. aureus*, *S. faecalis*, *H. influenzae* türlerinde suşların tamamı için: A ve B gruplarından beta-hemolitik streptokok, alfa-hemolitik streptokok, *C. perfringens*, *Proteus* suşlarının 1-9'u için paradoksal etki saptamışlar; *S. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *P. aeruginosa*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* ve *B. fragilis* suşları için paradoksal etki saptamamışlardır. Bu çalışmada 170 suşun 53'ü için penisilin paradoksal etkisi gözlenmiştir.

Kerry ve arkadaşları (8) mesillinam *Enterobacteriaceae* ailesinden toplam 224 suşa denemişler. *P. stuartii* dışında hiçbir tür için paradoksal etki saptamamışlardır. 18 *P. stuartii* suşunun ise 17'si için mesillinam paradoksal etki göstermiş fakat bu türdeki hiçbir suşa denenen diğer beta-laktam antibiyotikler paradoksal etki göstermemişlerdir. Nishino ve Nakazawa (10) ise 7 beta-laktam antibiyotiği *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* suşlarına karşı denemişler, antibiyotikler *E. coli* ve *P. aeruginosa* suşları için hiçbir paradoksal etkisi göstermez-

ken, tamamı *S. aureus* için paradoksal etki göstermiştir.

Chattopadhyay (2) ise sefuroksimin bir *Bacillus* suşu için paradoksal etki gösterdiğini bildirdiği çalışmada 1000 kadar Gram pozitif ve Gram negatif bakterinin çeşitli antibiyotiklere duyarlılık deneylerini yaptıklarını fakat hiçbir bakteri-antibiyotik çiftinde paradoksal etkiye rastlamadıklarını bildirmiştir. Salauze ve Petit (12) de tesadüfen rastladıkları bir suşu bildirmektedirler. Bu suş idrardan izole edilen bir *P. mirabilis* suşudur ve seftazidim diskinin etrafında bir üreme ve bunun dışında da üreme olmayan bir zon göstermiştir. Aynı suş aztreonam, sefoperazon ve piperasilin ile de daha az belirgin olarak aynı fenomeni göstermiştir. Difüzyon deneylerinde bu suş için seftazidimin MIC'u 0,25 mg/1 iken 8-32 mg/1 konsantrasyonlarda, aztreonamın MIC'u 0.006 mg/1 iken 8-256 mg/1 konsantrasyonlarda üreme görülmüştür. Yüksek antibiyotik konsantrasyonları içeren tüplerdeki üremelerden elde edilen bakterilerle yapılan deneylerde de aynı şekilde paradoksal etki gözlenmiştir.

Bu literatür verilerinde de görüldüğü gibi bazı araştırmacılar denedikleri 79 suştan 76'sında (3) paradoksal etki gözlerken, bazı araştırmacılar bir suş ve bir antibiyotik arasında gözledikleri bu olaya 1000 kadar suş ve çok sayıda antibiyotik arasında rastlamadıklarını (2) veya paradoksal etki gözlenen bir suşu tesadüfen izole ettiklerini (12) bildirmişlerdir. Bunun yanında paradoksal etkinin çok defa beta-laktam antibiyotiklerle oluştuğunu bildiren yayınlara (4) karşı aminoglikozidlerle de aynı etkinin görüldüğünü (9) bildiren yayınlar da vardır. Ayrıca bazı yayınlarda Gram pozitif bakteriler için paradoksal etki saptanmadığı bildirilirken (9), bazı çalışmalarda paradoksal etki yalnız Gram pozitif bakterilerde saptanmış, Gram negatif bakterilerde saptanmamıştır (10).

Çalışmamız, denenen antibiyotik-bakteri çiftlerinin hiçbirinde paradoksal etki saptanmasıyla, literatürdeki çelişkili bulgulardan negatif olanlarını desteklemektedir.

Çalışmamızın bir diğer yönü sefmenoksimin çeşitli klinik izolatlar üzerinde etkisinin denemesidir. Sefmenoksim, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, indol pozitif *Proteus*, *S. marcescens*, *E. coli*, *C. freundii* suşlarına birçok diğer sefalosporinlerden daha etkili bulunmuş olan bir sefalosporindir (14). Çalışmamızda sefmenoksimin *S. aureus* suşları için MIC₅₀ değeri sefotaksiminkinin yarısı, sefoperazonunkinin iki katı kadar; *E. coli* suşları için sefotaksiminkinin iki katı kadar; *P. mirabilis* suşları için sefoperazonunkine eşit, sefotaksiminkinin iki katı kadar bulunmuştur. Bu bulgular, paradoksal etki aranırken diğer sefalosporinlerle yapılan difüzyon deneyleri sonuçlarından hesaplanmıştır. Diğer sefalosporinlerle alınan MIC değerleri birçok tablo sunmak gerektireceği, benzer çalışmaların tekrarı olacağı ve çalışma amacının dışında kaldığı için burada verilmemiştir. *P. aeruginosa* suşları sefmenoksime oldukça dirençli bulunmuştur. *P. vulgaris* suşlarının sefmenoksime duyarlılığı hakkında bir düşünce ileri sürmek için denenen suş sayısı yetersizdir. Henüz ülkemizde kullanılmayan sefmenoksimin ülkemizde izole edilen suşlara etkisini diğer sefalosporinler ve başka gruplardan antibiyotiklerin etkisiyle karşılaştırmak için daha fazla sayıda ve çeşitli türlerden suşlarla çalışmaya gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Annear D I: Paradoxical effect of antibiotics, II. Comment and bibliography, *J Antimicrob Chemoter* 10: 260 (1982).
2. Chattopadhyay B: Paradoxical effect of cefuroxime, *J Antimicrob Chemoter* 5: 325 (1979).
3. Goldstein K, Rosdahl V T: High concentration of ampicillin and the Eagle effect among Gram-negative rods, *Chemotherapy* 27: 313 (1981).
4. Griffiths L R, Green H T: Paradoxical effect of penicillin in-vivo, *J Antimicrob Chemotherapy* 15: 507 (1985).
5. Ikeda Y, Fukuoka Y, Motomura K, Yasuda T, Nishino T: Paradoxical activity of beta-lactam antibiotics against *Proteus vulgaris* in experimental infection in mice, *Antimicrob Agents Chemoter* 34: 94 (1990).
6. Ikeda Y, Nishino T: Paradoxical antibacterial activities of beta-lactams against *Proteus vulgaris*: Mechanism of the paradoxical effect, *Antimicrob Agents Chemoter* 32: 1073 (1988).
7. Ikeda Y, Nishino T, Tanino T: Paradoxical antibacterial activity of cefmenoxime against *Proteus vulgaris*, *Antimicrob Agents Chemoter* 31: 865 (1987).
8. Kerry D W, Hamilton-Miller J M T, Brumfitt W: Paradoxical effect of mecillinam on *Providencia stuartii*, *J Antimicrob Chemoter* 2: 386 (1976).
9. Lorian V, Silletti R P, Biondo F X, De Freitas C C: Paradoxical effect of aminoglycoside antibiotics on the growth of Gram-negative bacilli, *J Antimicrob Chemoter* 5: 613 (1979).

10. Nishino T, Nakazawa S: Bacteriological study on effects of beta-lactam group antibiotics in high concentrations, *Antimicrob Agents Chemother* 9: 1033 (1976).
11. Odenholt I, Holm S E, Cars O: Paradoxical effect of cloxacillin and benzylpenicillin against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Chemotherapy* 35: 345 (1989).
12. Salauze B, Petit J-C: Paradoxical resistance to ceftazidime and aztreonam in *Proteus mirabilis*, *J Antimicrob Chemother* 23: 454 (1989).
13. Shah P M: Paradoxical effect of antibiotics. I. The "Eagle effect", *J Antimicrob Chemother* 10: 259 (1982).
14. Tsuchiya K, Kondo M, Kida M, Nakao M, Iwahi T, Nishi T, Noji Y, Takeuchi M, Nozaki Y: Cefmenoxime (S-CE-1365), a novel broad-spectrum cephalosporin: In vitro and in vivo antibacterial activities, *Antimicrob Agents Chemother* 19: 56 (1981).
15. Yourassowsky E, Vander Linden M P, Lismont M J, Schoutens E: Qualitative study of the paradoxical zone phenomenon of penicillins against 17 bacterial species of clinical importance, *Chemotherapy* 24: 92 (1978).