

# ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERİN SUBMİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ ÇEŞİTLİ BAKTERİLER ÜZERİNE ETKİLERİ

## 1. AMİKASİN İLE ALINAN SONUÇLAR<sup>\*,\*\*</sup>

Kurtuluş TÖRECI, Arif KAYGUSUZ

### ÖZET

Amikasinin 1/2, 1/4 ve 1/8 MIC'larda *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* ve *E.faecalis* türlerinden 3'er suşun canlı kalmasına, üremesine ve ışık mikroskopundaki morfolojisine etkisi incelenmiştir. Antibiyotiksiz kontrol kültürüne göre 6 saatte üremeyi en az % 90 inhibe eden konsantrasyon "MAC (minimal aktif konsantrasyon)" değeri, inokulumdaki canlı bakteri sayısında azalma "bakterisid etki" olarak tanımlanmıştır.

Amikasinin MAC değeri *E.coli* ve *P.mirabilis* suşları için 1/4 MIC; *K.pneumoniae* suşları için 1/2 MIC; *S.aureus* suşlarının ikisi için <1/8 MIC, biri için 1/2 MIC; *P.aeruginosa* suşlarının ikisi, *E.faecalis* suşlarının biri için 1/2 MIC olarak bulunmuştur. 1 *P.aeruginosa* ve 2 *E.faecalis* suşunda 1/2 MIC'da dahi üremede 6 saatte % 90 azalma görülmemiştir (MAC > 1/2 MIC). Amikasin *E.coli* suşlarının üçüne; *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *S.aureus* suşlarının ikisine; *E.faecalis* suşlarının birine 1/2-1/8 MIC'larda değişik derecede bakterisid etki göstermiştir.

Bu sonuçlar hiç değilse bazı infeksiyon olgularının tedavisinde sub-MIC'da antibiyotik de belirli-etkinliğinin olabileceği görüşünü desteklemektedir.

### SUMMARY

*Effects of subminimal inhibitory concentrations (sub-MICs) of various antibiotics on bacteria. 1. Results obtained with amikacin.*

The effects of 1/2, 1/4 and 1/8 MICs of amikacin on the survival, growth and light-microscopy morphology of 3 strains from each of *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* and *E.faecalis* species were investigated. The lowest concentration of amikacin which inhibits the bacterial growth at least 90 % in 6 hours when compared with growth in antibiotic-free medium was regarded as "MAC (minimal active concentration)" value. The decrease in the viable cells added as inoculum was regarded as the "bactericidal action" of sub-MICs.

MAC values of amikacin were 1/4 MIC for *E.coli* and *P.mirabilis* strains; 1/2 MIC for *K.pneumoniae* strains; <1/8 MIC for 2 and 1/2 MIC for 1 *S.aureus* strains; 1/2 MIC for 2 *P.aeruginosa* and 1 *E.faecalis* strains. In 1 *P.aeruginosa* and 2 *E.faecalis* strains 90 % decrease in bacterial growth was not observed even at

\* Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiştir. Proje No.511/080592.

\*\* 9. Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur (19-25 Haziran 1994, Ürgüp).

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Çapa, İstanbul.

1/2 MIC (MAC was greater than 1/2 MIC). Amikacin showed bactericidal effects of varying degrees on 3 of *E.coli*, 2 of each of *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *S.aureus* and 1 of *E.faecalis* strains at sub-MICs.

The results confirm that sub-MICs of antibiotics may have some effects in the treatment of some infections.

## GİRİŞ

Bakteriyel infeksiyon hastalıklarının tedavisinde hangi antibiyotiğin etkili olacağını belirleyen testler, temelde, minimal inhibitör konsantrasyonunun (MIC) saptanmasına dayanır. Elde edilen değer antibiyotiğin infeksiyon bölgesindeki ve/veya serumdaki konsantrasyonundan küçükse antibiyotiğin tedavide etkili olacağı söylenir. Bazı özel durumlarda inhibitör etki yeterli olmayıp bakterisid etki gerekirse de, birçok klinik durumda infeksiyon bölgesinde veya serumda bakterinin üremesini inhibe edecek konsantrasyonda antibiyotik bulunması yeterlidir. Böylece bakterinin çoğalması ve diğer bölgelere yayılması önlenecek, konak savunma mekanizmalarının aktif katılımı ile de bakteri vücuttan tamamıyla temizlenecektir (18, 19). MIC değerine bağlı olarak tedavi konusunda karar vermemizi sağlayan bu yaklaşım oldukça pratik ve yararlı olması nedeniyle yaygın şekilde kullanılmakla birlikte, antibiyotik-bakteri-konak arasında oluşan ve tedavide önemli olabilecek birçok kompleks olayı, örneğin, sadece antibiyotik-bakteri arasındaki etkileşimler dikkate alınsa bile, antibiyotiğin MIC altındaki değerlerde de bakteriler üzerine etkili olabileceğini gözardı eder. Oysa antibiyotiklerin MIC altındaki (sub-MIC, subminimal inhibitör konsantrasyon) değerlerde de bakterilerin üremesine, morfolojisine, fagositozuna, serum ile lizisine, virulansına, hücre yüzeylerine yapışmasına, enzim ve toksin oluşturmaya etkili olduğu, birçok in-vitro test, in-vitro model ve hayvan modeli ile gösterilmiştir (1, 9, 10, 20). Sub-MIC ile tedavinin mümkün olduğunu gösteren, az sayıda da olsa, hastalar üzerinde yapılan klinik çalışmalar da bulunmaktadır (9).

Antibiyotiklerin sub-MIC'da bakteriler üzerine etkili olması, özellikle terapötik-toksik dozları birbirine yakın olan antibiyotiklerle tedaviyi sağlayacak en uygun doz ve doz aralığının saptanmasını sağlayacak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için önemlidir (20, 22).

Sub-MIC'da antibiyotiklerin bakterilerin üremesi üzerine etkisini gösteren bazı ölçütler de tarif edilmiştir. Bunlardan biri bakteri üremesi ve/veya morfolojisi üzerine saptanabilir etki olan en düşük antibiyotik konsantrasyonudur [MAC= minimal aktif konsantrasyon (16), minimum antibiyotik konsantrasyonu (9), minimal antibiyotik konsantrasyonu (8), minimal antibakteriyel konsantrasyon (1)]. MAC ile ilişkili olan bir ölçüt ise MIC/MAC oranıdır ve bu oranın büyük olması antibiyotiğin etkili olduğu konsantrasyon sınırlarının genişliğini gösterir (8). Aminoglikozidler gibi bakterisid antibiyotikler için de subminimum bakterisidal konsantrasyon (sub-MBC) tanımı kullanılmıştır (9). Bakterilerin sub-MIC'da üreme eğrilerinin incelenmesi ile gösterilebilen "kısmi aktivite (partial activity)" de tarif

edilmiştir (17). Son yıllarda antibiyotik sonrası etkiye (ASE) benzer şekilde antibiyotik sonrası sub-MIC etkisi (AS-SME) konusunda da çalışmalar yapılmaktadır (3, 10-13).

Bu çalışmada amikasinin çeşitli bakteri türlerinden suşlar için MAC değerleri, MIC/MAC oranları, sub-MIC'da bakterilerin üremeleri, canlı kalmaları ve morfolojileri üzerine etkisi araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada üçer *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* ve *E.faecalis* suşu kullanılmıştır. *E.coli* ATTC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *S.aureus* ATCC 29213 suşları kolleksiyon suşlarıdır ve KÜKENS'den sağlanmış, diğerleri klinik örneklerden izole edilen ve *E.faecalis* suşları dışındakiler disk diffüzyon yöntemi ile amikasinine duyarlı bulunan suşlardan seçilmiştir. Amikasin Ezcacıbaşı İlaç San. A.Ş.'den aktivitesi belirli toz halde saf madde olarak sağlanmıştır. Antibiyotiklerin stok çözeltileri distile suda çözündürülerek hazırlanmış, buzdolabında +4°C'de saklanmış, deneylerde istenilen son konsantrasyonda olacak şekilde besiyerlerine ilave edilmiştir.

Deneyler öncesinde amikasinin denendiği suşlar için MIC'u katyonu ayarlı Mueller-Hinton buyyonunda (CAMHB-BBL) tüpte dilüsyon yöntemi ile saptanmıştır (15). Deneyler bu MIC değerleri dikkate alınarak yapılmakla beraber antibiyotik çözeltilisinin aktivitesini muhafaza ettiğini belirlemek amacıyla her deneyde MIC tayini tekrarlanmıştır.

Deneyde kullanılan bakteri suşlarının kanlı jeloz besiyerindeki bir gecelik saf kültürlerinden 2-3 ml CAMHB içinde 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonları hazırlanmıştır. Deney saatine kadar (1-3 saat) 37°C'lik etüvde tutulan, deney sırasında gerektiğinde tekrar 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonları (~10<sup>8</sup> cfu/ml) deney sırasındaki son konsantrasyonlarının ~5x10<sup>5</sup>/ml olması için 1/100 oranında sulandırılarak inokulum hazırlanmış, biri kontrol olarak antibiyotiksiz besiyeri, üçü amikasinin 1 ml CAMHB içinde son konsantrasyonları 1/2, 1/4, 1/8 MIC olacak seri dilüsyonunu içeren dört tüpe birer ml olarak ilave edilmiştir. Belirtilen konsantrasyonlar antibiyotikli besiyeri ve inokulum karıştırıldığında varılan konsantrasyonlardır. Tüpler 37°C'lik etüvde çalkalanarak 6 saat inkübe edilmiştir. İnokulumla ilave edilen bakteri sayısı, 6 saat sonunda kontrol ve antibiyotikli deney tüplerindeki bakteri sayıları CAMHB'deki uygun sulandırımından triptik soy agara, *Proteus* suşları yayılmaları önlemek için % 5 agar içeren MacConkey besiyerine yayılarak saptanmıştır. Yinelenen sayımlarda % 30'dan fazla fark görüldüğünde; o antibiyotik konsantrasyonundaki sonuç önem taşıyacaksa deney tekrar edilmiş, taşımayacaksa tekrar edilmeyerek sayım dikkate alınmamıştır.

Altı saatlik inkübasyon sonunda antibiyotiksiz kontrol tüpüne göre bakteri sayısında en az % 90 (1 log) azalma oluşturan en düşük konsantrasyon MAC olarak kabul edilmiştir (8). Bakteri üremesinin azalmasının ötesinde inokulumla ilave edilen canlı bakteri sayısında azalma saptanmışsa 3 log veya fazla azalma "belirgin bakterisid etki", 1-3 log arasında azalma "orta derecede bakterisid etki",

0.5-1 log azalma "düşük derecede bakterisid etki" olarak tanımlanmıştır. 0.5 log'u bulmayan azalmalar sayımda hata sınırlarına girebildiğinden dikkate alınmamıştır.

Amikasinin sub-MIC'da bakteri morfolojileri üzerine etkisi her bakteri türünden birer suşta araştırılmış ve amikasinin 1/2, 1/4 ve 1/8 MIC'larında ve antibiyotiksiz besiyerinde 6 saat inkübe edilen bakterilerin morfolojileri, 20 µl besiyerinin lam üzerine konup kurutulması ve metil alkolle tesbit edilmesinden sonra Gram yöntemi ile boyanması ve ışık mikroskopunda incelenmesi ile karşılaştırılmıştır.

## BULGULAR

Alınan sonuçlar tablo 1, 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Amikasinin 3 *E.coli* suşu için de kontrola göre üremeyi en az % 90 (1 log) azaltan MAC değeri 1/4 MIC, MIC/MAC oranı 4 olarak bulunmuştur. Bir suş için 1/2 MIC'da belirgin, 1/4 MIC'da orta derecede bakterisid etki; bir suş için 1/2 MIC'da orta derecede bakterisid etki; bir suş için 1/2 MIC'da orta derecede, 1/4 MIC'da düşük derecede bakterisid etki saptanmıştır.

Amikasinin 3 *K.pneumoniae* suşu için de MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2 olarak bulunmuş, iki suş için 1/2 MIC'da düşük derecede bakterisid etki saptanmıştır.

Amikasinin 3 *P.mirabilis* suşu için de MAC değeri 1/4 MIC, MIC/MAC oranı 4 olarak bulunmuş, bir suş için 1/2 MIC'da orta derecede, 1/4 MIC'da düşük derecede bakterisid etki; bir suş içinse 1/2 MIC'da düşük derecede bakterisid etki saptanmıştır.

Amikasinin 2 *P.aeruginosa* suşu için MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2; bir suş içinse MAC değeri 0.5-1 MIC, MIC/MAC oranı <2 olarak bulunmuş, hiçbir suş için bakterisid etki saptanmamıştır.

Tablo 1. Amikasin ile *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında alınan sonuçlar.

	E.coli			K.pneumoniae		
	ATCC 25922	732	626	A15	B3	C1
Başlangıçta	3.6x10 <sup>5*</sup>	~5.0x10 <sup>5</sup>	~5.0x10 <sup>5</sup>	~5.0x10 <sup>5</sup>	~5.0x10 <sup>5</sup>	~5.0x10 <sup>5</sup>
1/2 MIC	<5.0x10 <sup>2</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	4.5x10 <sup>3</sup>	5.5x10 <sup>4</sup>	1.0x10 <sup>5</sup>	6.0x10 <sup>6</sup>
1/4 MIC	2.0x10 <sup>3</sup>	3.8x10 <sup>6</sup>	3.1x10 <sup>5</sup>	8.5x10 <sup>8</sup>	4.7x10 <sup>8</sup>	5.5x10 <sup>8</sup>
1/8 MIC	1.3x10 <sup>8</sup>	6.0x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>9</sup>	9.0x10 <sup>8</sup>	7.5x10 <sup>8</sup>	6.5x10 <sup>8</sup>
Antibiyotiksiz	3.3x10 <sup>8</sup>	5.3x10 <sup>8</sup>	1.3x10 <sup>9</sup>	9.0x10 <sup>8</sup>	8.7x10 <sup>8</sup>	7.5x10 <sup>8</sup>
MIC (µg/ml)	4	4	8	2	2	2
MAC	1/4 MIC	1/4 MIC	1/4 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC
MIC/MAC	4	4	4	2	2	2
Bakterisid etki						
Belirgin	1/2 MIC	—	—	—	—	—
Orta derecede	1/4 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC	—	—	—
Düşük derecede	—	—	1/4 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC	—

\* İki sayımın ortalaması olarak ml'de canlı bakteri sayısı.

Tablo 2. Amikasin ile *P.mirabilis* ve *P.aeruginosa* suşlarında alınan sonuçlar.

	<i>P.mirabilis</i>			<i>P.aeruginosa</i>		
	753	794	626	ATCC 27853	15400	2313
Başlangıçta	4.5x10 <sup>5*</sup>	6.7x10 <sup>5</sup>	4.0x10 <sup>5</sup>	8.0x10 <sup>5</sup>	3.5x10 <sup>5</sup>	8.0x10 <sup>5</sup>
1/2 MIC	1.0x10 <sup>3</sup>	1.0x10 <sup>5</sup>	6.5x10 <sup>5</sup>	1.5x10 <sup>6</sup>	1.6x10 <sup>8</sup>	7.5x10 <sup>6</sup>
1/4 MIC	5.5x10 <sup>4</sup>	8.0x10 <sup>6</sup>	1.3x10 <sup>7</sup>	2.5x10 <sup>7</sup>	2.0x10 <sup>8</sup>	3.5x10 <sup>7</sup>
1/8 MIC	4.0x10 <sup>7</sup>	3.0x10 <sup>7</sup>	1.8x10 <sup>8</sup>	5.0x10 <sup>7</sup>	2.2x10 <sup>8</sup>	9.0x10 <sup>7</sup>
Antibiyotiksiz	3.5x10 <sup>8</sup>	1.3x10 <sup>8</sup>	2.1x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>	2.2x10 <sup>8</sup>	8.0x10 <sup>7</sup>
MIC (µg/ml)	8	8	8	2	2	2
MAC	1/4 MIC	1/4 MIC	1/4 MIC	1/2 MIC	0.5-1 MIC	1/2 MIC
MIC/MAC	4	4	4	2	<2	2
Bakterisid etki						
Belirgin	—	—	—	—	—	—
Orta derecede	1/2 MIC	—	—	—	—	—
Düşük derecede	1/4 MIC	1/2 MIC	—	—	—	—

\* İki sayının ortalaması olarak ml'de canlı bakteri sayısı.

Tablo 3. Amikasin ile *S.aureus* ve *E.faecalis* suşlarında alınan sonuçlar.

	<i>S.aureus</i>			<i>E.faecalis</i>		
	ATCC 29213	1851	2018	59	60	71
Başlangıçta	3.5x10 <sup>5*</sup>	1.0x10 <sup>6</sup>	4.3x10 <sup>5</sup>	6.0x10 <sup>5</sup>	7.5x10 <sup>5</sup>	6.5x10 <sup>5</sup>
1/2 MIC	5.5x10 <sup>5</sup>	—**	—	2.4x10 <sup>8</sup>	2.5x10 <sup>7</sup>	<5.0x10 <sup>2</sup>
1/4 MIC	5.6x10 <sup>7</sup>	—	—	4.3x10 <sup>8</sup>	2.0x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>
1/8 MIC	—	<5.0x10 <sup>2</sup>	1.1x10 <sup>5</sup>	3.0x10 <sup>8</sup>	—	—
Antibiyotiksiz	9.1x10 <sup>7</sup>	2.1x10 <sup>8</sup>	1.9x10 <sup>8</sup>	2.2x10 <sup>8</sup>	2.1x10 <sup>8</sup>	2.8x10 <sup>8</sup>
MIC (µg/ml)	2	4	4	16	16	128
MAC	1/2 MIC	<1/8 MIC	<1/8 MIC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	1/2 MIC
MIC/MAC	2	>8	>8	<2	<2	2
Bakterisid etki						
Belirgin	—	1/8 MIC	—	—	—	1/2 MIC
Orta derecede	—	—	—	—	—	—
Düşük derecede	—	—	1/8 MIC	—	—	—

\* İki sayının ortalaması olarak ml'de canlı bakteri sayısı.

\*\* İki sayım farklı bulunmuş, deney tekrar edilmemiştir.

Amikasinin 2 *S.aureus* suşu için MAC değeri <1/8 MIC, MIC/MAC oranı >8; bir suş için MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2 olarak bulunmuştur. Suşların biri için 1/8 MIC'da belirgin, bir diğeri için 1/8 MIC'da düşük derecede bakterisid etki saptanmıştır.

Amikasinin bir *E.faecalis* suşu için MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2, diğer iki suş için MAC değeri 0.5-1 MIC, MIC/MAC oranı <2 olarak bulunmuştur. Yalnız bir suş için 1/2 MIC'da belirgin bakterisid etki saptanmıştır.

Suşlarda amikasinin 1/2 MIC'unda dahi belirgin bir morfolojik değişiklik görülmemiştir.

## TARTIŞMA

Antibiyotiklerin bakteriler üzerine etkisinde geçerli olan hep veya hiç kuralı değildir (14, 17). Belirli bir antibiyotik konsantrasyonunda bakterinin metabolizmasında, morfolojisinde, sentez ettiği toksin, enzim ya da diğer ürünlerinde, yüzeylere yapışmasında, fagosite edilmesinde, üremesinde ya da herhangi bir özelliğinde saptayabileceğimiz değişiklikler oluşur ve konsantrasyon arttıkça bu değişiklikler bakterinin üremesinin durmasına ve sonra bakterinin ölmesine neden olacak kadar artar. Bu etki spektrumunda iki noktayı antibiyotiğin bakteri üzerine etkisini belirlemek için bir ölçüt olarak alıyoruz: 1) Bakterinin üremesini önleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu (MIC) ve 2) 24 saatte inokulumdaki bakterilerin en az % 99.9'unu öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonu (MBC) (20).

MIC, 18-24 saatlik süre boyunca bakteri üremesini (bakteri populasyonu düşünülüğünde populasyonun en dirençli üyelerinin üremesini) inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonudur. Tedavide temel alındığında ise antibiyotik-bakteri arasındaki etkileşimler (örneğin belirlenen sürede elde edilen MIC değerine hangi süreçler sonunda ulaşıldığı) konusunda bilgi vermediği gibi sub-MIC etkisini de hesaba katmaz. Aslında in-vivo koşullarda (tedavide) bakteri, antibiyotik konsantrasyonundaki dalgalanmalar nedeniyle sub-MIC ile de karşılaşacaktır. Bu nedenlerle MIC'da ve sub-MIC'larda bakterilerin üremelerinin ne şekilde etkilendiğinin araştırılması antibiyotiğin aktivitesi konusunda tedavide de önemli olabilecek bilgiler verecektir (3, 4, 6, 7, 16, 17). Örneğin MIC'u iki bakteri suşu içinde aynı olan bir antibiyotik, suşlardan birinin üremesinin 1/2-1/4 MIC gibi sub-MIC'larda daha fazla yavaşlatıyor veya 24 saatte % 99.9'a varmasa da canlı bakteri sayısını azaltarak bir miktar bakterisid etki gösteriyor, diğer suşta buna benzer etkiler göstermiyorsa, bu antibiyotiğin ilk suşla olan infeksiyonda daha etkili olması beklenir. Bu durumda daha düşük veya seyrek uygulanan dozlarla da, vücut savunma mekanizmalarının da yardımı ile, başarılı bir tedavi sağlanması olasıdır.

MIC biyolojik bir ölçüttür, fiziksel ve kimyasal değerler gibi kesinlik göstermez. Örneğin 5 µg/ml'lik MIC değerinde etkili olan bir antibiyotiğin, 4.9 µg/ml değerinde tamamen etkisiz olacağı söylenemez (17). MIC altındaki konsantrasyonların etkisi subminimal inhibitör konsantrasyonların (sub-MIC) etkisi olarak bilinir. Burada belirli bir konsantrasyondan değil, eser miktardan MIC'e kadar değişen konsantrasyonlardan bahsedilmektedir. Bu nedenle MIC altında antibiyotiğin bakteri üzerine herhangi bir etkisinden söz edilirken konsantrasyon MIC'a göre belirtilir (20).

Subminimal inhibitör konsantrasyonlarda antibiyotiklerin bakteriler üzerine etkisini belirten değişik ölçütler bulunmaktadır. Bunlardan biri minimum antibiyotik konsantrasyonu (MAC)'dır ve iki farklı tarifi yapılmıştır:

I. MAC morfoloji ve ultrastrüktür: Işık veya elektron mikroskobu ile bir değişiklik saptanabilen en düşük antibiyotik konsantrasyonudur.

Subminimal inhibitör konsantrasyonlarda bakteri morfolojisi üzerine en büyük etkiyi gösteren antibiyotikler beta-laktamlar, diğer hücre duvarı sentezini etkileyen

antibiyotikler ve kinolonlardır. Aminoglikozid antibiyotikler genellikle elektron mikroskobu veya moleküler metodlarla saptanabilen değişiklikler oluştururlar (9). Çalışmamızdaki bakteri türleri ile ışık mikroskobunda bir değişiklik saptanmamıştır.

2. MAC inhibisyon: Antibiyotiksiz besiyerindeki bakteriye göre canlı bakteri sayısında % 90 (1 log) azalmaya neden olan en düşük antibiyotik konsantrasyonudur (8). Aminoglikozidler gibi bakterisid antibiyotikler için subminimum bakterisidal konsantrasyon (sub-MBC) deyiimi de kullanılmıştır (9). Bir bakteri suşu ile elde edilen MIC ve MAC değerleri MIC/MAC oranı şeklinde belirtilebilir (8). Bu oran antibiyotiğin etkili olduğu konsantrasyonların sınırlarını belirtmede kullanılmaktadır. Oran ne kadar büyükse antibiyotiğin MIC altında etkili olduğu konsantrasyon sınırları o kadar geniştir (8).

Ölüm-zaman eğrileri ve üreme eğrileri gibi kinetik çalışmalar ile de antibiyotiklerin sub-MIC konsantrasyonlarının bakteri üremesi üzerine etkisi araştırılır. Bu şekilde inkübasyon süresinde belirli zaman dilimlerinde bakteri üremesindeki değişiklikler saptanabilir.

Sub-MIC konsantrasyonlarının bakterilerin üremesi üzerine etkisinden ilk söz edilenlerden biri Abraham'dır (14). Abraham 1949'da sub-MIC antibiyotik konsantrasyonlarının; 1- bakteri üremesinde gizli dönemi uzatması, 2- logaritmik üreme hızını azaltması, 3- stasyoner fazda erişilen bakteri yoğunluğunu azaltması şeklinde üç etkisini kaydetmiş ve bir antibiyotiğin sub-MIC'da bu etkilerden birini, ikisini veya hepsini gösterebileceğini bildirmiştir. Daha sonra subminimal inhibitör konsantrasyonlarda antibiyotiklerin bakteri üremesi üzerine etkileri ve bu etkinin olası tıbbi önemi üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Ciak ve Hahn (2) 1958 yılında sub-MIC'da kloramfenikol ve tetrasiklinin *E.coli* üremesi üzerine etkili olduğunu göstermiş, aynı bulgu Garret ve Brown tarafından 1963 yılında doğrulanmıştır (14). Greenwood (6) da çeşitli antibiyotiklerin 1/2-1/32 MIC'larda *E.coli* üremesini inhibe ettiğini göstermiştir.

Shah ve ark (16) türbidimetrik yöntemle amikasinin MAC değerini *K.pneumoniae* suşları için 1/4 MIC, *P.aeruginosa* suşları için 1/8 MIC olarak bulmuştur. Türbidimetrik yöntemi yetersiz bularak canlı bakteri sayımı yöntemini ve 5 1/2 saatlik inkübasyon süresini kullanan Lorian ve DeFreitas (8) çeşitli antibiyotiklerin çeşitli bakteriler için MAC değerlerini ve MIC/MAC oranını saptamışlardır. Araştırmacılar en yüksek MIC/MAC oranını tobramisinle *P.mirabilis* suşları için 32 olarak; en düşük oranı ise amikasin ve gentamisinle *K.pneumoniae* suşları için 3 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada beta-laktam antibiyotikler için genellikle daha düşük MIC/MAC oranları saptanmış ve MIC ile MIC/MAC değeri arasında doğru bir ilişki olmadığı, bir bakteri için MIC'u düşük olan bir antibiyotikle büyük MIC/MAC oranı alınabileceği veya bunun tersi olabileceği bildirilmiştir.

Zhanel ve ark (22) da sub-MIC'larda aralarında amikasin de bulunan aminoglikozidlerin *P.aeruginosa* suşlarının üremesinde yavaşlamaya veya belirli süreler için inokulumdaki canlı bakteri sayısında azalmaya neden olduğunu saptamışlar, bu etkilerin ASE ile birlikte değerlendirilmesi ile tedavide optimal doz ve doz aralıklarının belirlenmesinde yeni stratejilerin geliştirilebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Odenholt-Tornqvist ve ark (11-13) ASE'nin sub-MIC'da daha uzadığını gözlemişler ve bu etkiyi antibiyotik sonrası sub-MIC etkisi (post-antibiotic sub-MIC effect; PA-SME) olarak tanımlamışlardır.

Yourassowsky ve ark (21) da amikasinin 1/16 MIC'da etki göstermediği bir *E.coli* suşunun üremesini ve canlı bakteri sayısını 1/4 MIC'da azalttığını, deneyde *P.aeruginosa* için farklı besiyerlerinde farklı sonuçlar alınabildiğini bildirmişlerdir.

Amikasin ile aldığımız MIC/MAC oranları *K.pneumoniae*, *S.aureus* ve *E.coli* suşları için Lorian ve DeFreitas (8)'in sonuçlarına çok yakın, *P.aeruginosa* suşları için ortalama iki dilüsyon, *E.faecalis* ve *P.mirabilis* suşları içinse oldukça farklıdır ve deneylerimizde genellikle daha düşük oranlar elde edilmiştir. Zhanel ve ark (22)'nin amikasin ile *P.aeruginosa* suşları için buldukları MIC/MAC oranı ise 2'dir ve bizim bulduğumuz değere yakındır. Aynı araştırmacıların 1/2 MIC'da *P.aeruginosa* suşları için bulunduğu bakterisid etkiyi biz aynı konsantrasyonda saptamadık. 1/4 MIC'da amikasinin *P.aeruginosa* suşları üzerine bakterisid etkisi olmadığını Zhanel ve ark (22), Odenholt-Tornqvist ve ark (13) ve Yourassowsky ve ark (21) da bildirmişlerdir.

Yourassowsky ve ark (21)'nin amikasinin bir *E.coli* suşu üzerinde 1/4 MIC'da iso-sensitest buyyonunda saptadıkları bakterisid etkiyi biz de suşlar arasında farklılıklar bulunsa bile aynı konsantrasyonda CAMHB'da saptadık. Kinetik çalışmalarda etkili faktörlerin yeterince standardize edilememiş olması (18) ve gerek çalışmamızda, gerek diğer çalışmalarda bir antibiyotik'in sub-MIC'da etkisinin aynı türden çeşitli suşlarda farklı olabilmesi, çalışmalar arasındaki farklı sonuçları açıklayabilir.

Karşılaştırabileceğimiz bir kaynağa ulaşamadığımızı diğer sonuçları gözden geçirdiğimizde; amikasinin 1/2 MIC'da *P.aeruginosa* ve *E.faecalis* suşları dışındaki bakteri suşları üzerine 6 saatlik sürede, suşlar arasında farklılık bulunsa bile değişik derecede bakterisid etki gösterdiği görülmektedir. Bakterisid etki bazı bakteri suşlarında 1/4, hatta 1/8 MIC'da bile görülmektedir.

Subminimal inhibitör antibiyotik konsantrasyonları ile ülkemizde yapılan amacı farklı bir çalışmada 3 tür bakteri 1/2 MIC'da antibiyotik içeren besiyerlerinde 10 gün pasaj yapılmış ve *E.coli* için ampisilin ve gentamisin'in MIC'larının 4; amikasinin MIC'unun 2 kat; *Pseudomonas* için siprofloksasinin ve seftazidimin MIC'larının 8 kat arttığı, *S.aureus* için vankomisin ve amoksisilin+klavulanik asidin MIC'larının değişmediği, bu sonuçlarla subminimal inhibitör konsantrasyonlarda *E.coli* ve *Pseudomonas*'da direnç gelişimi görüldüğü, *S.aureus*'da görülmediği bulunmuştur (5).

Sonuç olarak, bu çalışma ve diğer birçok çalışmalar antibiyotiklerin sub-MIC'larda da bakterilerin üremesini bir derecede inhibe edebileceğini, hatta bir süre için göreceli bir bakterisid etki gösterebileceğini, bakterilerin fagositozunu ve serum bakterisid etkisine duyarlılığını arttırabileceğini, adezyon kabiliyetini azaltabileceğini göstermektedir.

Bu faydalı yönler özellikle terapötik ve toksik dozları birbirine yakın olan antibiyotikler kullanılırken önemli olabilir. Bunun yanında subminimal inhibitör antibiyotik konsantrasyonlarının dirençli bakteri mutantlarının seleksiyonunu sağlaması, beta-laktamazlar gibi antibiyotikleri tahrip eden bakteri enzimlerinin sentezini indüklemesi, direnç plasmidlerinin duyarlı bakterilere aktarımını sağlayan



konjugasyon olayının antibiyotik varlığında kolaylaşması, klindamisin'in *C.difficile*'nin toksin oluşturmasını indüklemesi veya arttırması gibi infeksiyonların tedavisinde bize engel çıkaran etkilerinin de olabildiği unutulmamalıdır (20).

#### KAYNAKLAR

1. Al-Asadi MJS, Greenwood D, O'Grady F: In vitro model simulating the form of exposure of bacteria to antimicrobial drugs encountered in infection, *Antimicrob Agents Chemother* 16: 77 (1979).
2. Ciak J, Hahn FE: Mechanisms of action of antibiotics. I. Additive action of chloramphenicol and tetracyclines on the growth of *Escherichia coli*, *J Bacteriol* 75: 125 (1958).
3. Cars O, Odenholt-Tornqvist I: The post-antibiotic sub-MIC effect in vitro and in vivo, *J Antimicrob Chemother* 31 (Suppl D): 159 (1993).
4. Craig W: Pharmacodynamics of antimicrobial agents as a basis for determining dosage regimens, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12 (Suppl 1): 6 (1993).
5. Çokça F, Altay G: Subinhibitör antibiyotik konsantrasyonlarının bakterilerde direnç gelişimi üzerinc etkileri, *Mikrobiyol Bült* 26: 333 (1992).
6. Greenwood D: Differentiation of mechanisms responsible for inoculum effects in the response of *Echerichia coli* to a variety of antibiotics, *J Antimicrob Chemother* 2: 87 (1976).
7. Greenwood D: In vitro varitas? Antimicrobial susceptibility tests and their clinical relevance, *J Infect Dis* 144: 380 (1981).
8. Lorian V, DeFrcitas CC: Minimal antibiotic concentrations of aminoglycosides and beta-lactam antibiotics for some Gram-negative bacilli and Gram-positive cocci, *J Infect Dis* 139: 599 (1979).
9. Lorian V, Gemmell CG: Effects of low antibiotic concentrations on bacteria: Effects on ultrastructure, virulence, and susceptibility to immunodefenses, "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3. baskı" kitabında s.493, Williams and Wilkins, Baltimore (1991).
10. Löwdin E, Odenholt-Tornqvist I, Bengtsson S, Cars O: A new method to determine postantibiotic effect and effects of subinhibitory antibiotic concentrations, *Antimicrob Agents Chemother* 37: 2200 (1993).
11. Odenholt I, Holm SE, Cars O: Effects of supra- and sub-MIC benzylpenicillin concentrations on group A beta-haemolytic streptococci during the postantibiotic phase in vivo, *J Antimicrob Chemother* 26: 193 (1990).
12. Odenholt-Tornqvist I, Löwdin E, Cars O: Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of beta-lactam antibiotics in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1834 (1991).
13. Odenholt-Tornqvist I, Löwdin E, Cars O: Postantibiotic sub-MIC effects of vancomycin, roxithromycin, sparfloracin, and amikacin, *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1852 (1992).
14. Rolinson GN: Subinhibitory concentrations of antibiotics, *J Antimicrob Chemother* 3: 111 (1977).
15. Sahn DF, Washington II JA: Antibacterial susceptibility tests: Dilution methods, "A Balows, WJ Hausler Jr, KL Hermann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s.1105, Am Soc Microbiol, Washington (1991).

16. Shah PM, Heetderks G, Stille W: Activity of amikacin at sub-inhibitory levels. *J Antimicrob Chemother* 2: 97 (1976).
17. Stille W: The prognostic value of the antibiogram. *Infection* 11 (Suppl 2): S 66 (1983).
18. Stratton CW, Cooksey RC: Susceptibility tests: Special tests. "A Balows, WJ Hausler Jr, KL Hermann, HD Isenberg, HJ Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 5. baskı" kitabında s.1153, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
19. Töreci K: Antibiyotik sonrası etki (ASE), "S Çalangu, H Eraksoy, H Özsüt (eds): *İnfeksiyon Hastalıkları 92*" kitabında s.241, Yüce Yayınları, İstanbul (1992).
20. Töreci K: Subinhibitör antibiyotik konsantrasyonlarının etkisi, *Klinikte Antibiyotik Kullanımı Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu*, İstanbul, 25 Kasım (1993).
21. Yourassowsky E, Van Der Linden MP, Crokaert F: One shot of high-dose amikacin: A working hypothesis, *Chemotherapy* 36: 1 (1990).
22. Zhanel GG, Karlowsky JA, Hoban DJ, Davidson RJ: Antimicrobial activity of subinhibitory concentrations of aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa* as determined by the killing-curve method and the postantibiotic effect, *Chemotherapy* 37: 114 (1991).