

**ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERİN SUBMİNİMAL  
İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ ÇEŞİTLİ  
BAKTERİLER ÜZERİNE ETKİLERİ  
3. PENİSİLİN-G, SEFALOTİN VE VANKOMİSİN İLE  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE ENTEROCOCCUS  
FAECALIS SUŞLARINDA ALINAN SONUÇLAR\*,\*\***

**Arif KAYGUSUZ, Kurtuluş TÖREÇİ**

**ÖZET**

Penisilin-G'nin *E.faecalis*, sefalotinin *S.aureus*, vankomisinin her iki türden üçer suşun canlı kalmasına, üremesine ve ışık mikroskobundaki morfolojisine 1/2, 1/4, 1/8 MIC'larda etkileri 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.

Penisilin-G'nin MAC değeri *E.faecalis* suşlarından biri için 1/2 MIC olarak saptanmış, iki suşta ise kontrole göre üreme 1/2 MIC'da dahi % 90 oranında azalmamıştır (MAC>1/2 MIC). Sefalotinin MAC değeri *S.aureus* suşlarından ikisi için 1/2 MIC, biri için 1/4 MIC olarak bulunmuştur. Vankomisinin ise bu iki bakteri türünün suşları için MAC değeri >1/2 MIC olmuştur. Bu 3 antibiyotikle 1/2 MIC'da dahi bakterisid etki saptanmamıştır. Sub-MIC penisilin-G varlığında *E.faecalis*, sefalotin varlığında *S.aureus* suşlarında kokların ifileştiği saptanmış, vankomisin ile morfolojik değişiklik gözlenmemiştir.

**SUMMARY**

*Effects of subminimal inhibitory concentrations (sub-MICs) of various antibiotics on bacteria. 3. Results obtained with penicillin-G, cephalothin and vancomycin on S.aureus and E.faecalis strains.*

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

MAC value of penicillin-G was found to be 1/2 MIC for one of *E.faecalis* strains and the growth of two strains did not decrease by 90 % even in 1/2 MIC

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

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

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

(MAC>1/2MIC). Cephalothin gave MAC values of 1/2 MIC for two and 1/4 MIC for one *S.aureus* strains. MAC values of vancomycin were >1/2 MIC for all strains from these two species. These 3 antibiotics did not exert any bactericidal action on *E.faecalis* or *S.aureus* at 1/2 MIC or lower concentrations. At sub-MICs of penicillin-G, larger cocci of *E.faecalis* were observed. The same finding was obtained for *S.aureus* at sub-MICs of cephalothin. Vancömycin did not cause any morphological change in these two bacterial species.

## GİRİŞ

Subminimal inhibitör konsantrasyonlarda antibiyotiklerin, bakterilerin üremelerine, morfolojisine, fagositozuna, serum ile lizisine, enzim ve toksin oluşturmaya, hücre yüzeylerine yapışmasına etkileri konusunda bir çok çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar subinhibitör konsantrasyonların tedavide dikkate alınması gereken etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir (3,8,9,11). Subminimal inhibitör konsantrasyonların bakterisid etkileri ve bakterilerin üremeleri üzerine etkileri konusundaki çalışmalar oldukça azdır. Ülkemizde izole edilen bazı bakteri suşları için amikasin ve siprofloksasinin 6 saatlik bir inkübasyonda antibiyotiksiz ortamdakine göre üremeyi en az % 90 azaltan MAC (minimal aktif konsantrasyon) değerleri, MIC/MAC oranları, inokulumdaki bakterilerin canlı kalmaları ve morfolojileri üzerine etkileri diğer çalışmalarımızda bildirilmiştir (6,12). Bu çalışmamızda penisilin-G, sefalotin ve vankomisinle aldığımız sonuçlar bildirilecektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada üç *S.aureus* ve *E.faecalis* suşu kullanılmıştır. Penisilin-G *E.faecalis*, sefalotin *S.aureus*, vankomisin ise her iki bakteri türü suşlarına karşı denenmiştir. Antibiyotikler Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş.'den sağlanmıştır. Deneyler daha önce bildirdiğimiz yöntemle yapılmıştır (12). Özetle  $\sim 5 \times 10^5$  cfu/ml bakteri, antibiyotiklerin 1/2, 1/4, 1/8 MIC'ünü içeren 2 ml hacimde karışımlar ve antibiyotiksiz kontrol tüpleri 37°C'de 6 saat inkübe edilmiş ve canlı bakteri sayımları yapılarak kontrole göre üremeyi en az % 90 azaltan MAC değerleri ve MIC/MAC oranları saptanmıştır. İnkübasyon sonunda inokulumla ilave edilen canlı bakteri sayısında 3 log veya fazla azalma görülmesi "belirgin", 1-3 log azalma "orta derecede", 0.5-1 log azalma "düşük derecede" bakterisid etki olarak tanımlanmıştır. Sub-MIC'ların morfoloji üzerine etkisi her türden 1 suş için metil alkolle tespit edilmiş ve Gram yöntemi ile boyanmış preparasyonlarda ışık mikroskobu ile incelenmiştir.

## BULGULAR

Penisilin-G ve sefalotinin alınan sonuçlar tablo 1'de gösterilmiştir.

Penisilin-G'nin 1 *E.faecalis* suşu için MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2 olarak; diğer iki suş için MAC değeri 0.5-1 MIC (>1/2 MIC), MIC/MAC oranı <2

olarak bulunmuş; 3 suş için de 1/2 MIC ve daha düşük konsantrasyonlarda bakterisid etki saptanmamıştır.

Sefalotin'in 1 *S.aureus* suşu için MAC değeri 1/4 MIC, MIC/MAC oranı 4; diğer iki suş için MAC değeri 1/2 MIC, MIC/MAC oranı 2 olarak bulunmuş; 3 suş için de 1/2 MIC'da dahi bakterisid etki saptanmamıştır.

Vankomisinle alınan sonuçlar tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Penisilin-G ve sefalotin ile alınan sonuçlar.

	Penisilin-G			Sefalotin		
	E.faecalis			S.aureus		
	59	60	71	ATCC 29212	1851	2018
Başlangıçta	4.6x10 <sup>5*</sup>	4.5x10 <sup>5</sup>	3.3x10 <sup>5</sup>	3.5x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>6</sup>	4.3x10 <sup>5</sup>
1/2 MIC	4.4x10 <sup>7</sup>	3.7x10 <sup>7</sup>	3.9x10 <sup>6</sup>	2.2x10 <sup>6</sup>	1.1x10 <sup>7</sup>	5.0x10 <sup>6</sup>
1/4 MIC	9.7x10 <sup>7</sup>	8.5x10 <sup>7</sup>	4.8x10 <sup>7</sup>	5.1x10 <sup>7</sup>	1.0x10 <sup>8</sup>	6.2x10 <sup>6</sup>
1/8 MIC	—**	4.0x10 <sup>7</sup>	7.7x10 <sup>7</sup>	—	—	—
Antibiyotiksiz	1.4x10 <sup>8</sup>	1.5x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>	3.6x10 <sup>8</sup>	2.3x10 <sup>8</sup>
MIC (µg/ml)	2	4	4	0.25	0.5	0.5
MAC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC	1/2 MIC	1/4 MIC
MIC/MAC	<2	<2	2	2	2	4
Bakterisid etki						
Belirgin	—	—	—	—	—	—
Orta derecede	—	—	—	—	—	—
Düşük derecede	—	—	—	—	—	—

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

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

Tablo 2. Vankomisin ile alınan sonuçlar.

	S.aureus			E.faecalis		
	ATCC 29212	1851	2018	59	60	71
Başlangıçta	5.5x10 <sup>5*</sup>	1.5x10 <sup>6</sup>	8.5x10 <sup>5</sup>	6.5x10 <sup>5</sup>	4.5x10 <sup>5</sup>	3.3x10 <sup>5</sup>
1/2 MIC	3.1x10 <sup>7</sup>	1.0x10 <sup>8</sup>	4.4x10 <sup>7</sup>	8.8x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>	1.3x10 <sup>8</sup>
1/4 MIC	8.0x10 <sup>7</sup>	3.9x10 <sup>8</sup>	—**	3.3x10 <sup>8</sup>	1.4x10 <sup>8</sup>	2.0x10 <sup>8</sup>
1/8 MIC	5.5x10 <sup>7</sup>	2.0x10 <sup>8</sup>	1.8x10 <sup>8</sup>	3.4x10 <sup>8</sup>	1.3x10 <sup>8</sup>	1.1x10 <sup>8</sup>
Antibiyotiksiz	9.3x10 <sup>7</sup>	3.5x10 <sup>8</sup>	2.0x10 <sup>8</sup>	3.5x10 <sup>8</sup>	1.2x10 <sup>8</sup>	1.0x10 <sup>8</sup>
MIC (µg/ml)	1	1	1	0.5	0.5	0.5
MAC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC	0.5-1 MIC
MIC/MAC	<2	<2	<2	<2	<2	<2
Bakterisid etki						
Belirgin	—	—	—	—	—	—
Orta derecede	—	—	—	—	—	—
Düşük derecede	—	—	—	—	—	—

\* Tablo 1 alt yazısına bakınız.

Vankomisinin denendiği 3 *S.aureus* ve 3 *E.faecalis* suşu için MAC değeri  $>1/2$  MIC, MIC/MAC oranı  $<2$  olarak bulunmuş; hiçbir suşda  $1/2$  MIC'da dahi bakterisid etki saptanmamıştır.

Penisilin-G  $1/2-1/4$  MIC'larda *E.faecalis* 59 suşunda, sefalotin  $1/2-1/8$  MIC'larda *S.aureus* ATCC 29212 suşunda kokların irileşmesine neden olmuştur. Vankomisin ise  $1/2$  MIC'da dahi her iki bakteri suşunda morfolojik değişikliğe yol açmamıştır.

## TARTIŞMA

Önceleri az sayıda suşla veya az sayıda antibiyotikle yapılan çalışmalarla (2, 5, 10) tanımlanan MAC değeri, Lorian ve DeFreitas (7) tarafından, birçok beta-laktam ve aminoglikozid antibiyotik, Gram pozitif ve Gram negatif birçok bakteri suşları kullanılarak yeniden tanımlanmış ve ayrıntılı şekilde araştırılmıştır. Bu çalışmalarda beta-laktam antibiyotiklerle en yüksek MIC/MAC oranı ampisilin ile denenen *E.coli* suşlarında ortalama 20 olarak saptanmıştır. En düşük MIC/MAC oranı ise karbenisilile *P.aeruginosa* suşları için ortalama 2, tikarsilile *P.aeruginosa*, ampisilin ve sefamandolle *E.faecalis* suşları için ortalama 2-3 olarak bulunmuştur. MIC/MAC oranı *S.aureus* suşlarına karşı sefamandol ile ortalama 8, oksasilin ile ortalama 3, *E.faecalis* suşlarına karşı ampisilin ile ortalama 3, sefamandol ile ortalama 2 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar beta-laktam antibiyotiklerle aminoglikozidlerle elde edilenden daha küçük MIC/MAC oranları bulmuşlardır. Sefalotin ile *S.aureus* suşlarına karşı bulduğumuz 2-4 arasında değişen MIC/MAC oranı, Lorian ve DeFreitas (7)'nin aynı bakteri türü suşlarına karşı sefamandol ile buldukları orandan (ortalama 8) 1-2 dilüsyonluk fark göstermektedir. *E.faecalis* suşlarına karşı penisilin-G ile bulduğumuz MIC/MAC oranı ise 1-2 arasındadır ve Lorian ve DeFreitas (7)'nin aynı bakteri türü suşlarına karşı ampisilile buldukları değere (ortalama 3) yakındır.

Westh ve ark (13) penisilin-G'nin  $1/2$  MIC'da 5 saatte *E.faecalis* suşları üzerine herhangi bir bakterisid etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Chen ve Williams (1) vankomisinin MIC üzerindeki konsantrasyonlarda bile *E.faecalis* suşları üzerine bakterisid etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Penisilin-G ve vankomisinin *E.faecalis* suşlarına çalıştığımız konsantrasyonlarda bakterisid etki göstermemesi yukarıda belirtilen iki çalışma ile uygunluk göstermektedir.

Sefalotin ve vankomisin denenen *S.aureus* suşlarına karşı  $1/2$  MIC'da bile herhangi bir bakterisid etkisi olmamıştır. Diğer çalışmalarımızda subinhibitör konsantrasyonlarda amikasin ve siprofloksasin *S.aureus* suşlarına karşı değişik derecelerde bakterisid etki göstermişlerdir (6,12). MIC ve üzerindeki bakterisid konsantrasyonlarda aminoglikozidler ve kinolonlar, beta-laktam antibiyotikler ve vankomisine oranla oldukça hızlı bakterisid etki göstermektedirler (3). Bulgularımız bu farklılığın bir ölçüde subminimal antibiyotik konsantrasyonlarında da oluştuğunu göstermektedirler.

Subminimal inhibitör konsantrasyonların tedavide yararlı olabilecek bir çok etkileri yanında, dirençli mutantların seleksiyonu, dirençte rol oynayan beta-laktamaz gibi enzimlerin oluşumunu indüklemesi gibi zararlı etkileri de olabileceği

unutulmamalıdır (4,8,11). Bu konsantrasyonların tedavideki etkilerinin daha iyi belirlenebilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Chen H Y, Williams J D: The activity of vancomycin and teicoplanin alone and in combination with gentamicin or ampicillin against *Streptococcus faecalis*, *Eur J Clin Microbiol* 3: 436 (1984).
2. Ciak J, Hahn F E: Mechanisms of action of antibiotics, I. Additive action of chloramphenicol and tetracyclines on the growth of *E. coli*, *J Bacteriol* 75: 125 (1958).
3. Craig W: Pharmacodynamics of antimicrobial agents as a basis for determining dosage regimens, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12 (Suppl 1): 6 (1993).
4. Çokça F, Altay G: Subinhibitör antibiyotik konsantrasyonlarının bakterilerde direnç gelişimi üzerine etkileri, *Mikrobiyol Bült* 26: 333 (1992).
5. Greenwood D: Differentiation of mechanisms responsible for inoculum effects in the response of *Escherichia coli* to a variety of antibiotics, *J Antimicrob Chemother* 2: 87 (1976).
6. Kaygusuz A, Töreci K: Çeşitli antibiyotiklerin subminimal inhibitör konsantrasyonlarının çeşitli bakteriler üzerine etkileri. 2. Siprofloksasin ile alınan sonuçlar, *ANKEM Derg* 8: 378 (1994).
7. Lorian V, DeFreitas 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).
8. 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).
9. Odenholt-Tornqvist I, Löwdin E, Cars O: Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of beta-lactam antibiotics in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1834 (1991).
10. Shah P M, Heetderks G, Stille W: Activity of amikacin at sub-inhibitory levels, *J Antimicrob Chemother* 2: 97 (1976).
11. Töreci K: Subinhibitör antibiyotik konsantrasyonlarının etkisi, *Klinikte Antibiyotik Kullanımı Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu*, İstanbul, 25 Kasım (1993).
12. Töreci K, Kaygusuz A: Çeşitli antibiyotiklerin subminimal inhibitör konsantrasyonlarının çeşitli bakteriler üzerine etkileri. 1. Amikasin ile alınan sonuçlar, *ANKEM Derg* 8: 368 (1994).
13. Westh H, Frimodt-Moller N, Gutschik E: Bactericidal effect of penicillin, ampicillin, and amoxicillin alone and in combination with tobramycin against *Enterococcus faecalis* as determined by kill-kinetic studies, *Infection* 19: 170 (1991).