

5 DEĞİŞİK ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONUNUN 100 PATOJEN STAFİLOKOK SUŞUNA İNVİTRO ETKİLERİ

Rüknettin ÖĞÜTMAN(x)
Zekâi YAYLALI (Dxx)

ÖZET

Stafilokoklar pyojen etkenlerin başında gelmekte ve mevcut antibiyotik ve kemoterapötiklere kolaylıkla direnç teşkil etmekte önemini arttırmaktadır. Bu araştırmada stafilokoklara değişik etki gösteren penicillin, gabramycin Tetracyclin chloram phenicol garamycin gibi antibiyotik seçilmiş ve bunların yapılabilen kombinasyonlarının etkileri incelenmiştir. Bu incelemede 43 boğaz sürüntüsü ve 31 ameliyat yarası akıntısından olmak üzere 100 stafilokok suşu incelenmiş ve burada penicillin-gabromycin, gabromycin-garramycin, chloramphenicol ve garramycin ve bilhassa tetracyclin ve garramycin kombinasyonunda etkinin çok arttığı gözlenmiştir.

1. Giriş :

Stafilokokların pyojenik enfeksiyonların etkenlerinden bir tanesi olarak işgal ettiği yer son yıllarda giderek daha önem kazanmaktadır. Enfeksiyon etkenlerine karşı geliştirilmekte olan antibiyotik ve kemoterapötiklere karşı stafilokoklarda hızla meydana gelen direnç teşekkülü bu konuda en önde gelen sebep olarak düşünülmelidir.

Micrococaceae-familyasından olan stafilokoklar(1) normal şartlarda da insan derisi ve müköz zarlarında bulun-

maktadır. Gram pozitif, yuvarlak, bazan tek, bazan çift, bazan kısa zincirler ve çoğunlukla düzensiz üzüm salkımı şeklinde bulunurlar. Hareketsiz, genellikle kapsülsüz ve sporsuzdur. Aerobik veya fakültatif anaerob olarak zenginleştirilmeğe gerek olmayan besiyerleri üzerinde ürer ve gün ışığı ve O₂ karşısında beyaz, limon sarısı veya altın sarısı pigment teşkil ederler. Genel olarak glikoz'dan asid yaparlar, patojen suşları 24-48 saat içinde manni-

(x) Doç.Dr.- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve İntani Hastalıkları Bölümü Öğretim Üyesi.

(xx) Dr.Ass. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve İntani Hastalıklar Bölüm Asistanı.

told en asid yaparlar. Patojen olarak kabul edilen stafilokokun çoğunlukla :

- a- Altın sarısı pigment teşkili (S. aureus)
- b- Beta tipi hemoliz yapması
- c- Mannitolü asid yaparak fermente etmesi
- d- Yüksek (% 7,5-10,0) NaCl konsantrasyonunda üreyebilmesi,

e- Coagulase teşkil etmesi beklenir (2).

Biz burada çeşitli materyel kaynaklarından elde edilen stafilokokların patojenlik durumunu yukarda bildirilen kriterler içinde tâyin ettikten sonra onların en sıklıkla duyarlı olduğu 5 antibiyotiği seçip bunlara tek tek durumları ile, çeşitli kombinasyonlarına olan durumlarının ne olacağını tâyin için yapılan çalışmaları değerlendirdik.

2. Materyel ve Metod :

Materyel :

Materyel olarak Atatürk Üniverstesi Tıp Fakültesi Numune hastahanesinde yatıp çeşitli sebeplerle tedavide görmekte olan hastalardan gönderilen boğaz sürüntüsü, balgam, kulak akıntısı, gözsalgısı, idrar, süpüre ameliyat yaraları salgısı gibi çeşitli maddeler kullanıldı. Bu materyel, hastahane rutin işler mikrobiyoloji lâboratuvarına gönderilen pek çok nümune arasından 2-Ocak-1972 tarihinden 1-Şubat-1972 tarihine kadar gelenler içinden patojenite testleri olumlu sonuç verenler olarak çalışmamıza esas alınmıştır.

Metod :

Burada ilk olarak lâboratuvara gelen materyel :

a- Boğaz salgısı ve balgam ise sadece % 5 koyun kanı karıştırılmış kanlı ağara,

b- Ameliyat yarası salgıları, kulak akıntısı ve idrar ise hem yukarda belirtilen kanlı ağara hem de E M B besiyerlerine,

c- Göz salgısı ise, kanlı agar ve çukolata agarına,

d- Kan ise, Brain-Heart infuzyonu taşıyan özel prefabrike vakumlu şişedeki besiyerlerine ekilmiştir.

Buralardan stafilokok olduğu özel koloni şekli, boya özelliği ve morfolojisi ile ayrılan ve saf kültür haline getirilen mikroorganizmaların patojenitelerinin saptanması için :

a- Hemoliz durumları incelenmiş,

b- Mannitolü tuzlu agar besiyerine (Chapmann besiyeri) ekim yapılmış,

c- Pigment teşkilini görmek için Löffler koagule serum besiyeri kullanılmış,

d- Coagulase deneyi uygulanmış,

e- Pozitif kabul edilenlere tekli ve kombine antibiyogram uygulanmıştır.

a- % 5 koyun kanlı agar üzerinde beta tipi hemoliz gösterenler, hemoliz pozitif kabul edilmişlerdir.

b- Ayrılan stafilokoklar 10 cm. çaplı petri kutusuna dökülmüş Chapman besiyeri üzerine ekilerek üremeleri ve asid teşkilleri araştırılmış ve üreyip sarı hale yapanlar mannitol pozitif kabul edilmişlerdir.

c- Pigment teşkilini izlemek için, pigmentleri daha iyi gösteren ve at serumundan hazırlanmış olan löffler besiyeri kullanılmış ekimden sonra 24 saat 37°C lik etüvde tutulan besi yeri bir kaç saat gün ışığı ve odada bekletildikten sonra muayene edilmiştir.

d- Coagulaşe deneyinin uygulanmasında lâm metodu kullanılmış ve siyah zemin üzerine konan lâmun ortası cam kalemi ile çizilip her iki yanında birer öze mikroorganizma bir damla tuzlu su ile emülsiyone edilip bir tarafa bir damla insan plazması diğer tarafa yine bir damla tuzlu su damlatılıp iyice karıştırılmış ve 1-2 dakika içinde koagulum teşkil edenler pozitif kabul edilmiştir (3).

e- Antibiyogram uygulaması için disk diffüzyon metodu uygulanmış ve enstitümüzce hazırlanan-disklere uygun dozda antibiyotikler emdirilmiş ve bu diskler önce tekli antibiyogram için kullanılmıştır. Bu iş için seçilen antibiyotikler :

- 1- Penicillin
- 2- Gabromycin
- 3- Tetracyclin
- 4- Chloramphenicol
- 5- Garamycin olmuştur.(4).

Antibiyogram hazırlamak için Fisher laboratuvarının Penicillin Agar Base Antibiyogram medium No: 1, dehidre besiyeri kullanılmış ve buna % 4-5 debibrine koyun kanı katılmıştır. Tekli antibiyotiklerden sonuç alındıktan sonra

bildirilen bu beş antibiyotığın çeşitli ikili kombinasyonlarının durumunun incelenmesi için, özel olarak kesilen 0,5x4 cm. büyüklüğündeki sünger kâğıtlarına liste 1 deki dozlarda antibiyotikler emdirilmiştir :

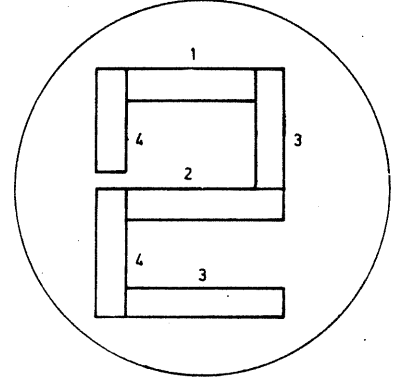
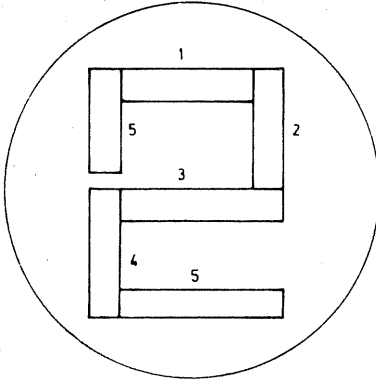
Penicillin	10 Ünite
Gabromycin	30 Gama
Tetracyclin	30 Gamma
Chloramphenicol	30 Gama
Garamycin	30 Gama

Liste : 1- Her bir 0,5 santimetre kare için emdirilen antibiyotik miktarı.

Mikroorganizmalar 12 cm. çapındaki petri kutusuna dökülmüş antibiyogram besiyeri üzerine cc. de 4×10^8 mikroorganizma bulunan emülsiyondan 0,1 cc. miktar alınıp iyice yayılmış ve biraz kuruması beklendikten sonra antibiyotik emdirilmiş şeritler şekil: 1 de gösterilen düzende kombinasyonlar yapılarak yerleştirilmiş ve bu nedenle her bir mikroorganizma için 5 petri kutusu kullanmak gerekmiştir. Şeritlerin etrafındaki ve birleşim köşelerindeki inhibisyon zonlarının değerlendirilmesi yapılmıştır.

3. Bulgular :

Çalışmamıza esas olarak seçilen stafilokokların patojen olmalarına dikkat edilmiş ve bu patojenlikte de esas coagulase deneyi alınmış ve böylece coagulase pozitif 100 stafilokok suşu seçilmiştir. Seçilen bu suşların ürettikleri kaynaklara göre dağılımı Tablo:1 de gösterilmiştir.



Şekil: 1- Antibiyotik şeritlerinin diziliş şeması.

Tablo: 1- Materyel kaynağı olup stafilocok üretilen yerler (Çokluk sırası ile)

Boğaz sürüntüsü	: 43
Ameliyat-yaraları cerahatleri	: 31
Kulak akıntısı	: 8
Balgam	: 8
Göz salgısı	: 5
İdrar	: 3
Kan	: 2
Toplam	: 100

Bu 100 suşun 65 tanesi erkek ve 35 tanesi kadın hastadan elde edilmiştir. Yaş gruplarına göre dağılım ise tablo-2-de gösterilmiştir :

Tablo:2 100 patojen stafilocok suşunun yaşlara göre dağılımı

Yaş Grupları			
0-9	10-19	20-29-	30-39
35	13	21	31

Şuşların elde edildiği şahısların meslek gruplarına göre dağılımı tablo-3- de gösterilmiştir.

Tablo: 3- Patojen stafilocokların ürettiği şahısların meslek gruplarına göre dağılımı.

Meslek Grupları				
6 yaştan küçük Çocuk	Öğrenci	Çiftçi	Ev kadını	Memur
39	8	27	17	9

Diğer taraftan seçilen 100 stafilocokta yapılmış olan patojenite testleri bulgularının sonuçların tablo-4 de özetlenmiştir.

Tekli antibiyogram sonuçları inhibisyon zonu genişliğine göre değerlendirilmiş ve 12 mm. üstündeki inhibisyon zonu genişliğine göre değerlendirilmiş ve 12 mm. üstündeki inhibisyon zonu gösteren antibiyotikler olumlu kabul edilmiştir. Sonuçlar tablo-5- de özetlenmiştir.

Tablo: 4 Patojen kabul edilen stafilokokların özellikleri(Mannitol fermantasyonu 24 saat sonra okunmuştur)

Yapılan Test							
Coagulase		Hemoliz		Pigment		Mannitol Fermantasyonu	
Olumlu	Olumsuz	Olumlu	Olumsuz	Beyaz	Altın Sarısı	Olumlu	Olumsuz
100	—	91	9	16	84	77	23

Tablo: 5- 100 Patojen stafilokokun seçilen 5 antibiyotikle alınan sonuçların özeti.

Antibiyotik Cinsi	Etki Durumu	
	Etkili	Etkisiz
1- Penicillin	23	77
2- Gabromycin	79	21
3- Tetracyclin	44	56
4- Chloramphenicol	19	81
5- Garramycin	98	2

Bu sonuçlar alındıktan sonra seçilen bu beş antibiyotığın yapılabilecek bütün kombinasyonları ayrı ayrı incelenmiş ve sonuçlar tablo 6-10 da özetlenmiş durumdadır.

Tablo: 6- Penicillin'in diğer 4 antibiyotik ile kombinasyonunun Etki Sonuçları.

Antibiyotik Kombinasyonları	Sonuçların Durumu		
	Etki Değişmemiş	Etki Artmış	Etki Azalmış
1-2	68	32	—
1-3	85	13	2
1-4	92	7	1
1-5	73	26	1

Bu duruma göre penicillin ve gabromycin kombinasyonu ile penicillin ve gabromycin kombinasyonunda etki artışında aşikâr bir sonuç alınmış bulunuyor.

Tablo: 7- Gabromycin'in 4 antibiyotik ile kombinasyonunun etki sonuçları

Antibiyotik Kombinasyonları	Sonuçların Durumu		
	Etki Değişmemiş	Etki Artmış	Etki Azalmış
1-2	68	32	—
2-3	66	33	1
2-4	77	23	—
2-5	38	62	—

Bu çalışmada kombinasyonlar içinde gabromycin ve garamycin kombinasyonunda etkinin çok artmış olduğu dikkati çekmiştir.

Tablo: 8- Tetracyclin'in diğer 4 antibiyotik ile kombinasyonunun Etki sonuçları.

Antibiyotik Kombinasyonları	Sonuçların Durumu		
	Etki Değişmemiş	Etki Artmış	Etki Azalmış
3-1	85	13	2
3-2	66	33	1
3-4	85	15	—
e-5	10	90	—

Bu çalışmada en dikkati çeken-hususen Tetracyclin ve garamycin kombinasyonunda etki derecesinin % 100 gibi çok yüksek bir seviyede artmış olmasıdır.

Tablo: 9- Chloramphenicol'un diğer 4 antibiyotik ile kombinasyonun etki sonuçları.

Antibiyotik	Sonuçların Durumu		
Kombinas-yonu	-Etki De-ğışmemiş	Etki Art-mış	Etki Azalmış
4-1	92	7	1
4-2	77	23	—
4-3	85	15	—
4-5	72	28	—

Burada ancak chloramphenicol ve gabromycin ile, chloramphenicol garamycin kombinasyonunda orta derecede bir etki artışı izlenmiştir.

Tablo: 10- Garramycin'in diğer 4 antibiyotik ile kombinasyonunun etki sonuçları.

Antibiyotik	Sonuçların Durumu		
Kombinas-yonları	Etki De-ğışmemiş	Etki Art-mış	Etki Azalmış
5-1	73	26	1
5-2	38	62	—
5-3	10	90	—
5-4	2	28	—

Burada da daha önce belirtilen kombinasyonlardan garamycin ve gabromycin kombinasyonu ile garramycin ve tetracyclin kombinasyonunun artmış etki gösterdiği aşikâr görünmektedir. Burada ayrıca dikkati çeken husus garamycin kombinasyonunun diğer antibiyotiklerle de kombinasyonunun küçümsenmeyecek derecede bir etki artışına sebep oluşudur.

4. Tartışma :

Pyojen ve bilhassa hastahane enfeksiyonlarının en önemli biri olan stafilokoklarla savaş ve bunların mey-

dana getirdiği hastalıkları tedavi giderek problem halini almaktadır. Her yeni çıkan antibiyotik veya kemoterapötik ilk başlarda etkili olup yüz güldürmekte, buna karşılık kısa zamanda direnç teşkil ederek ümitleri kırmaktadır. (5), (6), (7), (8), (9), (10).

Çalışmamızın sınırlı vak'a sayısına rağmen patojen kabul edilen stafilokokların çoğunluğu (43) boğaz kültürlerinden, ikinci sırada da (3) ameliyat yarası süpürasyonlarından elde edilmiş geri kalan 26 suş ise kulak akıntısı, balgam, göz salgısı, idrar ve kan kültürlerinden elde edilmiştir. Ameliyat yarası süpürasyonlarının yükseklikte ikinci sırayı işğâl etmesi hastahane enfeksiyonlarının üzerinde durulup düşünülmesi gereken bir sorunu bir kere daha karşımıza çıkarıyor. Bu enfeksiyon yayımında hastahane personelinin burun ve boğaz salguları ile ziyaretçilerin ziyaret günleri taşıdığı etkenlerin rolünün, öneminin büyük olduğu düşünülerek bu konuda da ayrı bir araştırma düzenlenmiş bulunmaktadır (11), (12), (13).

Stafilokokların patojenliğini tesbitte kullanılan çeşitli testlerden patojen stafilokoklar tarafından % 97-98 oranında bir sıklıkla salınmakta olan coagulase'ı tesbit edilen coagulase testi esas alınmış ve araştırmamıza esas olan 100 stafilokoklar coagulase pozitif olanlardan seçilmiştir. Burada mannitol fermentasyonunun % 77 pozitiflik göstermesini kültür sonuçlarını 24 saatte okumaya bağlamaktayız. Şayet sonuçlar 48 saat sonra okunsa idi oranın daha yüksek çıkacağına inanmaktayız.(14).

Antibiyogramda kullanılan antibiyotikler konuyu dağıtmamak için 5 tane seçilmiş ve bunlardan iki-

sinin yüksek etkili (gabromycin, garamycin gibi), ikisinin düşük etkili (penicillin, chloramphenicol gibi) ve orta etkili (tetracyclin gibi) olmasına dikkat edilmiştir. Stafilokoklara çok etkili veya az etkili diğer antibiyotik ve kemoterapötiklerin kombinasyonlarından etkilenme dereceleri de ayrı bir çalışma olarak sürdürülmektedir.

Bizim bu sınırlı çalışmamız etkisini az olan bir antibiyotığın etkisi yüksek olan bir diğer antibiyotikle kombinasyonunun muhakkak etkiyi beklenen derecede yükseltmediğini göstermiştir. Meselâ penicillin gibi düşük etkili bir antibiyotığın bu etkisi garamycin gibi etkili bir antibiyotığın kombinasyonu ile % 90 gibi yüksek bir oranda artmıştır. Ayrıca iki etkili antibiyotığın kombinasyonu (gabromycin ve garamycin) ancak %-62 oranında bir etki artışı gösterebilmiştir.

Etki azalması ise ancak pek düşük oranda penicillin ve tetracyclin kombinasyonunda görülmüştür. Bunu penicillin'in chloramphenicol ve garamycin kombinasyonu izlemiştir. Penicillin ve chloramphenicol kombinasyonunda dikkati çeken bir diğer husus % 92 vak'ada etkinin değişmediği ve ancak % 7 vak'ada etkide orta derecede bir artışın görülmesidir.

Sonuç :

1- Stafilokoklar antibiyotiklere dirençlilik teşkili bakımından artan önemlerini sürdürmektedir,

2- Hastahane enfeksiyonları, üzerinde düşünülmesi gereken bir problem olarak karşımızdadır,

3- Etkili bir antibiyotik ile etkisiz bir antibiyotığın kombinasyonu bazı hallerde daha etkili bir sonuç vermektedir,

4- Bazan iki az etkili antibiyotığın kombinasyonu % 13 gibi düşük de olsa etki artışına sebep olabilmektedir (penicillin ve tetracyclin kombinasyonu gibi),

5- Tetracyclin ve garamycin kombinasyonu % 90 oranında gibi yüksek derecede bir etki artışına sebep olabilmektedir.

Summary

The *In vitro* Effectivity of The Combinations of 5 Different Antibiotics on 100 Pathogenic Staphylococci Strains.

Staphylococci are of the main cause of pyogenic disorders; and easily are becoming resistant to many kind of chemotherapeutic and antibiotic agents.

In this experiment we have choosed 5 different antibiotics such as penicillin, gabromycin, tetracyclin, chloramphenicol and garamycin which had shown different effect to pathogenic staphylococci in routin laboratory tests.

In these tests 100 pathogenic staphylococci strains have been isolated from -different clinical sources such as throat swab. (43), infected surgical wounds (31), eye secretions, ear secretions, sputum, urine and blood cultures (Total 26). The combinations of penicillin-gabromycin, gabromycin-garamycin, chloramphenicol-garamycin and especially tetracyclin-garamycin have been found more effective *invitro*.

Kaynaklar :

- 1- Bergey's Manual of determinative Bacteriology, Baltimore, Md.: Williams and Wilkins, 1957.
- 2- E.L. Quinn, F. Cox et al :
The Problem of associating coagulase negative staphylococci with disease. Ann. N.Y. Acad. Sci. 128, 428-442, 1965i
- 3- B. Cadness-Graves, R. Williams,
Slide test for coagulase positive staphylococci. Lancet 1: 736-738, 1943.
- 4- Barber, M., Waterworth, P.M.:
Activity of gentamicin against pseudomonas and hospital staphylococci. Brit. M.J. 1:203-205, 1966.
- 5- J.O. Kjellander, T.O. Klein,
In Vitro activity of penicillin against staphylococcus Albus. Proci Soc. Exper. Biol. Med. 113: 1023-1031, 1963.
- 6- Hurst, V., Grossman, M.:
The hospital-nursery as source of staphylococcal disease among families of Newbron infants. New England J. Med. 262: 751, 1960.
- 7- Blair, J.E.:
Staphylococci in hospital acquired infections, J.A.M.A. 166: 1192, 1958.
- 8- Benham, R.S.
Respiratory flora of hospital related populations. J. Infect. Dis. 107: 1, 1960.
- 9- Johnston, R.B.
Septicemia in infants and children. Pediatrics 34: 473-497, 1964.
- 10- Soloth, .L.D., Finland, M.:
Methicillin treatment of severe staphylococcal disease. New England J. Med. 267: 1049-1057, 1962
- 11- Report of public health laboratories.
Incidence of surgical -Wound Infection in England and Wales
Lancet 2: 659-663, 1960.
- 12- Altemeier, W.A.
Newer aspects of septicemia in surgical patients. Arch. Surg. 92: 566-582, 1966.
- 13- Turck, M., Anderson, K.N.
Laboratory and clinical evaluation of-new antibiotics. Ann. Int. Med. 63: 1199-211, 19645.
- 14- Lepper, M.H., Hubbard, J.:
Ten year' experience with several regimens including the use of combinations of two antibiotics, chemotherapia (Basel) 4: 361-385, 1962.