

59096

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERİTROMİSİN, AZİTROMİSİN VE KLARİTROMİSİNİN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARI ÜZERİNE ANTİBİYOTİK
SONRASI ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Arş.Gör. Seher Birteksöz

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Gülten ÖTÜK

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İstanbul, 1997

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
BULGULAR	23
TARTIŞMA	40
SONUÇ	46
ÖZET	47
SUMMARY	48
KAYNAKLAR	49

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğretimine başladığım günden itibaren yetişmemde emeği geçen, tezimin yürütülmesinde yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Prof.Dr. Gülten ÖTÜK'e ,

Verilerin değerlendirilmesinde deneyiminden yararlandığım Prof.Dr. Julide AKBUĞA'ya,

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Alev GERÇEKER, Dr. Yıldız ATAR ve Anabilim Dalımızdaki diğer çalışma arkadaşlarıma,

Ayrıca hayatımın her döneminde olduğu gibi çalışmalarım sırasında bana manevi yönden destek olan aileme içten teşekkür ederim.

GİRİŞ

Doğada, tozda, toprakta, insan ve hayvanların deri, ağız ve nazofarinks florasında bulunan *Staphylococcus aureus*, insanlarda çeşitli infeksiyonların nedeni olan bir bakteridir. Hastane infeksiyonları etkenleri arasında da önemli bir yere sahiptir.

Etkeni olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı hızla direnç kazanması ve hasta materyelinden sıklıkla izole edilmesi bu bakterinin önemli patojenler arasında yer almasına neden olmaktadır.

İnfeksiyon hastalıklarının tedavisinde başarılı sonuç alınabilmesi için tedavide kullanılacak antibiyotiğin etken mikroorganizma üzerine olan in vitro sidal veya statik etkisi araştırılmalıdır. Etkili olduğu saptanan antibiyotiğin belli bir dozda ve sürede kullanılması gereklidir.

Etkili olduğu saptanan suşa karşı bir antibiyotiğin minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) nun belirlenerek, tedavide iyi sonuç alınabilmesi için antibiyotiğin infeksiyon bölgesinde veya serumda MİK değerinin üzerindeki bir konsantrasyona ulaşması gereklidir.

MİK değerinin üzerindeki konsantrasyonda bakterinin üremesini inhibe eden antibiyotiğin ortamdan uzaklaştırılması veya MİK değerinin altına düşmesi durumunda antibiyotiğin bakterinin gelişmesi üzerine olan inhibisyon etkisi ile üremesi durmuş bakterinin antibiyotiğin etkisi ortadan kalktıktan bir süre sonra tekrar normal üreme fazına geçmesi için gereken süreye antibiyotik sonrası etki/PAE denilmektedir.

Antibiyotikle tedavide doz aralığının saptanmasında PAE önemli bir parametredir. Bu konuda çeşitli antibiyotiklerle yapılmış araştırmalar literatürde kayıtlıdır. Kinetik esasa dayanan bu araştırmaların sonuçları uzun süren çalışmalar sonucunda elde edildiğinden oldukça değerlidir.

Bu çalışmada *Staphylococcus aureus* üzerine etkili olduğu bilinen eritromisin ve aynı kimyasal grupta bulunan ve ülkemizde yakın bir

geçmişte tedaviye girmiş olan yeni makrolidlerden klaritromisin ve azitromisinin PAE 'si in vitro olarak standart *Staphylococcus aureus* suşuna ve hasta materyelinden izole edilmiş farklı *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı araştırılmıştır.



GENEL BİLGİLER

Staphylococcus aureus Hakkında Genel Bilgiler

Doğada yaygın olarak tozda, toprakda, eşya üzerinde, insan ve hayvan derisi, burun mukozası, ağız ve nazofarinks florasında sıklıkla bulunan *S.aureus* bakterileri ilk kez 1880 yılında Ogston tarafından bir patojen olarak saptanmış ve 1884 yılında Rosenbach tarafından hasta örneklerinden izole edilmiştir (37, 49).

Stafilokoklar Micrococcaceae ailesi içinde yer alan tıbbi açıdan en önemli cinsi oluştururlar. Yuvarlak şekilli 0.5-1.5 µm çapında, çoğu kez düzensiz kümeler, bazen tetrad, ikili kok yada tek tek koklar şeklinde görülen Gram olumlu bakterilerdir (26).

Bu bakteriler organizmaya girdiklerinde yoğun ve karışık bir savunma mekanizmasıyla karşılaşılır. Oponinler ve makrofajların aktivitesini artırarak savunmayı güçlendirirler. Organizmaya girdikleri yerde üreyerek ya da dokular arasına ve kana yayılmak suretiyle buralarda çeşitli ekstrasellüler maddeler oluşturarak değişik klinik tablolara neden olurlar.

Stafilokoklar arasında genetik bilgi alışverişi başlıca transdüksiyon yoluyla olmakta ve *S.aureus*'un birçok toksini ve diğer ürünleri plazmidler aracılığıyla oluşturulmaktadır. Plazmidler ayrıca klinikte, antibiyotik direncinde de önemli bir role sahiptirler. *S.aureus*'un büyük plazmidi dairesel bir DNA parçası şeklindedir ve yalnız β-laktamaz üretimi ve bazen de eritromisin direnci ile ilişkilidir; küçük plazmidi ise tetrasiklin ve klo-ramfenikol direncinin determinantlarını taşımaktadır (29).

S.aureus'un hücre çeperinin önemli bir maddesi olan protein A spesifik bir antijen özelliği göstererek bazı immunoglobulin G alt sınıflarının Fc parçasıyla özgül olmayan bir bağlanmayla kompleman

aktivasyon özelliği gösterir. Ayrıca aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yol açan antifagositik özelliği olduğuda bilinmektedir.

Bazı *S.aureus* suşları oluşturdukları enterotoksin F'e bağlı olarak Toksik şok sendromu adını alan yaygın deri döküntülü öldürücü bir enfeksiyona yol açabilmektedirler (16, 3).

Stafilokokların solunum yolundan yada kan yolu ile akciğerlere yerleşmesiyle pnömoniler bazen de diğer sistem ve organlarda perikardit plevra, ampiyem, osteomyelit, septik artrit, bursit, tromboflebit, otitis medya, menenjit, sünizit ve nadiren idrar yolu enfeksiyonları prostatit, perinefrit abse gibi enfeksiyonlar meydana getirebildikleri bilinmektedir (49, 20, 30). Enterotoksin yapan *S.aureus*'un pasta, süt, krema, et ve benzer karbonhidrat, protein ve proteinli besin maddeleri içerisinde üreyerek yaptıkları enterotoksinlerin ağız yoluyla alınmasıyla hastalığa neden olabildiği bildirilmiştir (37, 50).

Patojen stafilokokların kaynağı daha çok insandır ve normal insan topluluklarında % 10-40 oranında stafilokok taşıyıcıları bulunmaktadır. Bu stafilokoklar, nazofarinks ve daha çok burun deliklerine yerleşerek öksürük, aksırık damlacıkları aracılığı ile yayılarak başka kişilerin deri ve üst solunum yollarına bulaşır ve mukus parçacıkları içinde kurdukları zaman uzun süre canlı kalabildiklerinden çevreye yayılmaları kolaylaşır.

Yapılan çalışmalar ve istatistikler stafilokok epidemiyolojisinde en önemli ortamın hastane ortamı olduğunu ortaya çıkarmıştır ki hastalardan personele ve personelden hastalara bulaşan stafilokokların gittikçe direnç kazanarak korunmayı güçlendirdiği bilinmektedir.

Stafilokoklar konak durumunda buldukları canlıda bir yandan hiçbir zarar vermeden kommensal olarak yaşayabildikleri gibi bir yandan da yüksek bir morbidite ve mortaliteye yol açan aşırı bir patojenite sergileyebilirler (37). Faj tiplendirilmesi ile yapılan incelemeler hastanelerde zaman zaman çıkan salgınların aynı tipteki stafilokoklar tarafından meydana geldiğini ortaya koymuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda hastane enfeksiyonlarında *S.aureus*'un önemli bir nazokomiyal etken olarak elde edildiği tespit edilmiştir (8, 31, 51, 48) Hastanelerin cerrahi servislerindeki enfeksiyonların % 10'u, pediatrik servisekilerin % 20'si ve yeni doğan bakım birimlerindeki % 35'i *S.aureus* enfeksiyonlarıdır.

S.aureus suşları konağın çeşitli bölgelerine tutunma, anatomik engelleri aşma, konağın hümmoral savunma mekanizmalarını bozma veya

onlardan kaçınma, fagositlerden kaçınma yada onları etkisizleştirme ve başka toksinler oluşturma gibi önemli mekanizmalarla patogeneizde etkili olmaktadır.

S.aureus intrensek olarak neredeyse tüm antibiyotiklere duyarlıdır. Antibiyotik çağının başlarında stafilokok infeksiyonlarında penisilinle kazanılan başarı bu bakterilerin penisilini tahrip eden penisilinaz adlı enzimi üretmeleriyle duraksamıştır.

Metisiline dirençli *S.aureus*'a bağlı nazokomiyal infeksiyonlardaki artışlar bu suşların bazılarının epidemi oluşturma karakterinde olduğunu ortaya koymuştur (9). Metisiline dirençli stafilokoklar aynı zamanda penisilin G, streptomisin, eritromisin, kanamisin, kloramfenikol ve tetrasiklinlere de dirençli olarak bulunmuşlardır (84). Metisiline duyarlı bulunan stafilokoklar makrolid grubu antibiyotiklere de duyarlılık göstermekte ve bu nedenle *S.aureus* enfeksiyonlarında başarı ile kullanılmaktadırlar.

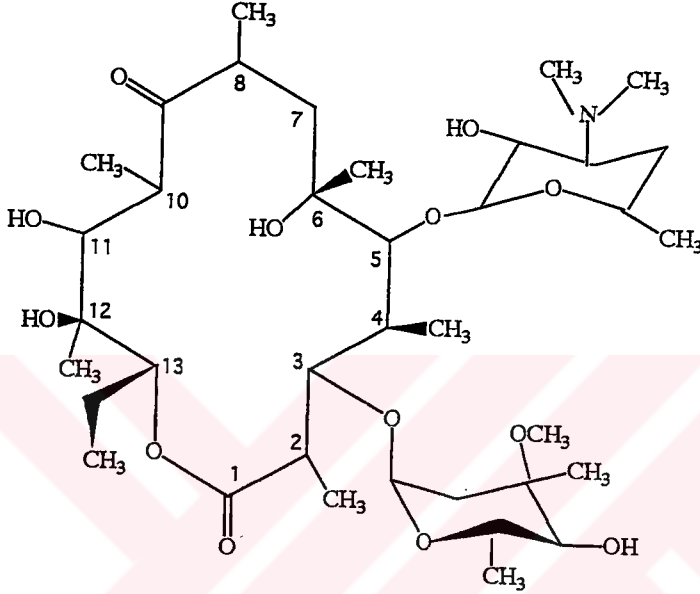
Makrolidler Hakkında Genel Bilgiler

Makrolidler genellikle *Streptomyces* türlerince üretilen benzer yapıdaki antibiyotiklerin oluşturduğu bir gruptur. 1952 yılından beri güvenli ve yaygın olarak kullanılmakta olan makrolid grubu antibiyotikler yapılarında aglikon adı verilen 14, 15, 16 üyeli makrosiklik bir lakton halkası ve buna glikozid bağlarıyla bağlanmış şekerleri içerirler. Zayıf birer baz olan makrolidler suda iyi çözünmezler, alkali pH'da daha aktiftirler ve mide asidiyle suda inaktivasyona uğramazlarsa, değişmekle birlikte bağırsakların alkalen ortamında kolayca emilirler. Kan ve doku sıvılarının pH değerlerinde düşük düzeyde iyonize olmaları, yağda kolay eriyebilmeleri, makrolidlerin hücre zarlarını engel tanımadan kolayca geçmelerine, hücre içinde ve dokularda yüksek konsantrasyona ulaşmalarına ve özellikle yeni makrolidlerde daha belirgin olmak üzere doku/serum konsantrasyon oranlarının oldukça yüksek olmasına olanak sağlamaktadır (24, 25, 43). Makrolidler, bakterilerin ribozomlarının 50S komponentlerine dönüşümlü olarak bağlanırlar (58). tRNA'nın ribozomdan ayrılmasını stimüle ederek bakteri protein sentezinin inhibe edilmesinde etkili olurlar (58, 33, 35). Makrolidler, mikroorganizmanın türüne, fizyolojik durumuna ve yoğunluğuna bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisit etkili olabilirler (35).

Antibiyotiklerin gelişi güzel kullanımındaki artış antibiyotiğe dirençli bakterilerin insidansında artışa neden olmaktadır. Makrolidlere karşı direnç hücre duvarı permeabilitesinin az olması, antibiyotiğin hedef aldığı yapının değişikliğe uğraması, antibiyotiğin inaktivasyonu sonucu ortaya çıkabilir. En önemli direnç mekanizması ribozomun 50S alt biriminin 23S RNA sındaki, adeninin bir enzim aracılığı ile dimetilasyona uğraması sonucu ortaya çıkan dirençtir. Ribozomal fonksiyonu bozmayan bu değişiklik makrolidin hedefine bağlanmamasına neden olur. Mikroorganizmalar bazen aynı anda makrolidlerle birlikte linkozamidlere ve streptograminlere de dirençli olabilirler, bu direnç şekli MLS tipi direnç olarak adlandırılmaktadır (39, 12).

Eritromisin

Makrolidlerin 14 üyeli protipi olan eritromisin *Streptomyces erythreus*'un oluşturduğu 1952 yılında Mc Guire ve arkadaşlarının bulduğu bir makrolid antibiyotiktir (Şekil 1).



Şekil 1: Eritromisinin kimyasal yapısı

Eritromisin asidik ortamda antimikrobik aktivitesi olmayan anhidro hemiketal ve spiroketalde parçalanır ve oluşan anhidro-hemiketale bağlı gastrointestinal yan etkiler ortaya çıkar. Eritromisinin midede parçalanmasını önlemek ve serumdaki konsantrasyonunu arttırmak için çeşitli formülasyonlar hazırlanmıştır.

Eritromisin aktivitesi mikroorganizma ve ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisidal olabilir. Eritromisin, Gram pozitif kok ve çomaklarla Gram negatif kokları kapsayan etki spektrumuna sahip bir antibiyotiktir. A, B, C, D ve G grubu β -hemolitik streptokoklar, pnömokoklar ile viridans streptokokların % 10'u, enterokokların % 50'si, peptokok ve peptostreptokokların % 80'i eritromisine duyarlıdır. Metisiline dirençli olanlar dışında *S.aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklarda da

yüksek bir aktivite gösterdiği, bu etkinin *S.aureus*'a karşı bakteriyostatik olduğu bildirilmektedir (39).

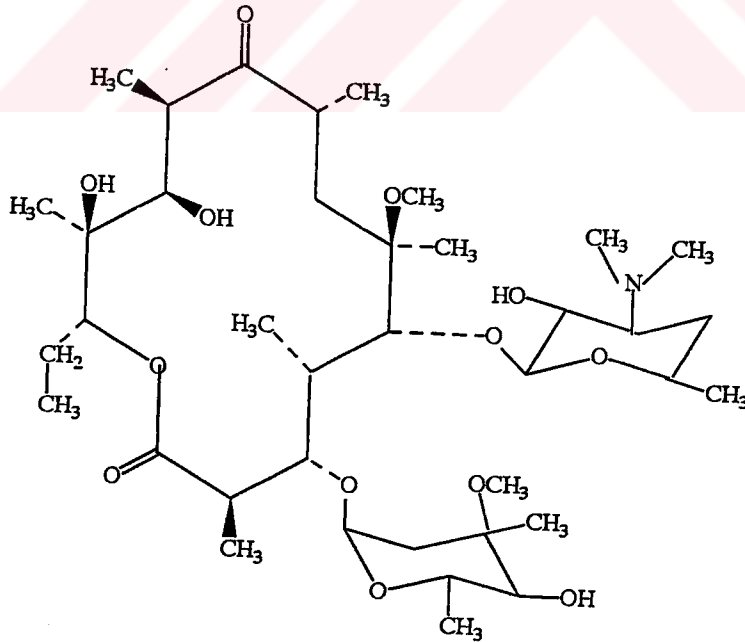
Eritromisin penisilin alerjisi olan hastalardaki streptokoksik faranjit tedavisinde, toplumdanda kazanılmış alt solunum yolu enfeksiyonlarında en yaygın olarak kullanılan antibiyotik olma özelliğini sürdürmektedir.

Selülit, lenfanjit, impetigo, ektima gibi enfeksiyonların tedavisinde etkili bir antibiyotiktir.

Direnç gelişim riski diğer antibiyotiklerden fazla değildir. Stafilokok enfeksiyonlarının uzun süreli tedavilerinde dikkate alınması gerekir.

Klaritromisin

Klaritromisin, yapısal olarak eritromisine benzeyen ancak 14 üyeli laktan halkasının 6. pozisyonundaki hidroksi yerine O-metil bulunması ile eritromisinden ayrılan aside dayanıklı yarı sentetik yeni bir makrolid antibiyotiktir (Şekil 2). Moleküler yapıdaki bu küçük değişiklik ile ilacın aside dayanıklılığı artırılmış ve antimikrobiyal ve farmokinetik özellikleri düzeltilmiştir (45).



Şekil 2: Klaritromisinin kimyasal yapısı

Klaritromisin temel metaboliti olan 14-OH epimerinin de potent antimikrobiyal aktivitesi olduğu ve klaritromisine aditif veya sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir (42).

Klaritromisin ve onun aktif metaboliti olan 14-OH metabolitinin etki mekanizması diğer makrolidlere benzerdir. Bu ilaçlar bakteriyel hücre içindeki ribozomun 50S alt birimine bağlanarak tRNA'nın translokasyonunu ve sonuçta RNA'ya bağımlı protein sentezini inhibe ederler (23).

Klaritromisin ve onun 14-OH metabolitinin dağılım özellikleri antimikrobiyal aktivitelerini arttırmakta, dokularda özellikle solunum yollarında ve akciğerlerde kandakinden daha yüksek düzeylerde bulunmalarını sağlamaktadır (27). Klaritromisin, hücre içine çok iyi penetre olduğu için chlamydia, legionella ve toksoplazma gibi hücre içi mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda özellikle etkilidir. Polimorf nükleer lökositler, makrofajlar ve lenfositler içinde toplandığı, in vitro ve in vivo çalışmalarla kanıtlanmıştır (1).

Klaritromisinin in vitro antimikrobiyal spektrumu eritromisine benzerdir. Ancak özellikle üst solunum yolu infeksiyonlarına neden olan *S.pyogenes*, *S.pneumoniae*, *S.aureus* gibi Gram pozitif koklara, *H.influenza*, *M.catarrhalis*, *Chlamydia* ve *Legionella* gibi bazı hücre içi mikroorganizmalara karşı eritromisinden daha etkili bulunmuştur. Tonsiller, farinks ve burun mukozası, orta kulak ve trake gibi dokularda serumdakinden daha yüksek düzeylere ulaştığı bildirilmektedir (39, 17, 45).

Klaritromisin hastane dışında gelişen alt solunum yolu enfeksiyonları ile cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde etkili bir antibiyotik olarak tedavide yerini almıştır. Klaritromisinin penisilin veya eritromisine duyarlı olan *S.aureus* suşlarının hepsine karşı etkili olduğu, eritromisine dirençli suşların klaritromisine de dirençli olduğu bildirilmektedir (2).

Azitromisin

Azitromisin azalid adı verilen bileşiklerin oluşturduğu yeni bir antibiyotik sınıfının ilk üyesidir. 14 üyeli eritromisinden türetilmiş olan azitromisin makrolid halkasının 9 ve 10 nolu C atomları arasına bir metil substitue azot yerleştirilmesiyle tersiyer bir amino grubu içeren 15 üyeli bir laktan halkasına sahiptir (Şekil 3). Bu kimyasal değişiklik azitromisinin

Eritromisine yakın, geniş bir etki spektrumuna sahip olan azitromisin *Haemophilus influenza* ve *Moraxella catarrhalis* olmak üzere Gram negatif bakterilere *in vitro* aktiviteleri daha fazladır. Ayrıca Gram pozitif organizmalar olan *S.aureus* ve *S.pneumoniae* infeksiyonlarında, *Mycoplasma*, *Chlamydia* türleri ve *Legionella pneumophila* gibi hücre kültürlerinde üreyen patojenlere karşı etkili olduğu bildirilmektedir (21, 47, 32).



Postantibiotik etki (PAE) Hakkında Genel Bilgiler

İnfeksiyon hastalıklarından korunma ve tedavi amacıyla kullanılan antibiyotikler, mikroorganizmaların gelişmesini durdurarak veya onları öldürerek etkili olurlar. Bir antibiyotiğin etkisi ile üremesi inhibe olmuş bakteriler bazen antibiyotik ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra normal üremeye başlarlar. Bir antibiyotiğin bir bakterinin üremesini inhibe eden konsantrasyondan kurtulup, normal üreme fazına geçmesi için belirli bir süre gerekmektedir. Antibiyotiğin üremeyi inhibe eden konsantrasyonu ile temas ettirilen bir bakterinin antibiyotik ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra normal üreme fazına geçmesi için geçen süre post antibiyotik etki (PAE) süresi olarak adlandırılmaktadır.

Antibiyotikle temasta kalan bakterilerin daha sonra yeniden çoğalmaya başlaması ilk kez penisilin ile yapılan çalışmalarda dikkat çekmiştir. 1944 yılında Bigger penisilin G ile temasta bırakılmış stafilokok ve streptokok kültürlerine penisilinaz ilave ettikten sonra bulanıklığın oluştuğunu gözlemlemiştir (4). Parker&Marsh ve Parker&Luse stafilokokları penisilinler ile 5-30 dakika muamele etmiş ve daha sonra antibiyotiksiz besiyerine aktarıldığında yaklaşık 1-3 saat normal üremenin olmadığını gözlemlemiştirler (44). Eagle ve arkadaşları kalıcı baskılayıcı etki veya nekahat periyodu olarak adlandırdıkları bu sürenin diğer Gram pozitif koklar için de geçerli olduğunu in vitro ve in vivo çalışmalarla ortaya koymuşlardır (10, 11).

PAE, antibiyotikle tedavide doz aralığının belirlenmesinde önemli bir parametredir. Bir bakteriye karşı PAE göstermeyen bir antibiyotiğin kullanıldığı infeksiyonda, bakterinin tekrar üremeye başlamaması için infeksiyon yerinde antibiyotik konsantrasyonu MİK altına düştüğünde yeni bir doz antibiyotik verilmesi gerekmektedir. Ancak kullanılan antibiyotiğin etken suş üzerine PAE'si var ise, antibiyotiğin konsantrasyonu MİK altına düştükten sonra da bakteri bir süre üremeye başlamayabilir. Bu durumda doz aralarının daha uzun süre olması uygun olur. Yeni antibiyotiklerin ve çeşitli patojenlerin kullanıldığı PAE ile ilgili çalışmalar 1970'den sonraki yıllarda yayınlanmış araştırmalarda daha fazla görülmeye başlanmış ve bu konudaki çalışmalar giderek artmıştır .

Bugün antibiyoterapide önemli bir parametre olduğu kabul edilen PAE in vitro ve in vivo koşullarda saptanabilmektedir. İn vitro olarak saptanmasında en çok kullanılan yöntem üreme kinetiğine dayanan deneylerdir. Bu deneylerde bakteri, antibiyotiğin MİK'un genellikle 5-10 katı konsantrasyonda antibiyotikle 1-2 saat temas ettirilir, antibiyotik ortamdan çeşitli yöntemlerle uzaklaştırılır ve antibiyotikten kurtarıldığı anda mevcut canlı bakteri sayısının 10 kat ($1 \log_{10}$) artması için geçen süreden (T) antibiyotiğe maruz kalmamış ancak aynı işlemlerden geçmiş kontrol kültürdeki canlı bakteri sayısının 10 kat artması için geçen süre (C) çıkarılınca ortaya çıkan değer PAE süresi olarak değerlendirilir.

İN vitro olarak PAE belirlenmesinde antibiyotiği ortamdan uzaklaştırmak için çeşitli yöntemler kullanılır. Bu yöntemler yıkama, seyreltme ve inaktivasyon teknikleridir. Yıkama yöntemi ile deneyde kullanılan tüpler normal besiyeri ile santrifüjde bir kaç kez temasta bırakılır. Seyreltme yönteminde deney tüpleri besiyeri kullanılarak 100 veya 1000 kez sulandırılır. İnaktivasyon yönteminde ise çalışmada kullanılan antibiyotik için uygun olan inaktive edici maddenin deney tüplerine ilavesiyle antibiyotiğin etkisi deney koşullarında ortamdan uzaklaştırılır.

Antibiyotiğin ortamdan uzaklaştırıldığı an ve daha sonraki sürelerde canlı kalan bakterilerin sayısı önemlidir. Bundan dolayı PAE etkilerinin araştırılmasında çalışmada kullanılan bakterinin sayısının belirlenmesi gerekir. Bu amaçla petri kutusunda canlı bakteri sayımı yöntemi, türbidimetrik yöntemi, bakterideki ATP düzeyini belirleyen yöntemlerden yararlanılır.

Yapılan çalışmalar antibiyotiğin uzaklaştırıldığı anda canlı kalan bakterilerin sayısının 10 kat artmasından sonra, kültürdeki gelişmenin kontrol kültürdeki gibi devam ettiğini göstermiştir (54, 7). Bu nedenle PAE'yi ölçmek için bakteri sayısının 10 kat artması için gereken süreler arasındaki farkın kullanılması, başlangıçtaki farklı gelişmeden ötürü sonuçların etkinmesini önlemektedir.

PAE çalışmalarında deney sonuçlarını etkileyen çok çeşitli sayıda faktörler vardır. Bunlar çalışmada kullanılan antibiyotiğin konsantrasyonu, bu konsantrasyonda deney suşu ile temas süresi, deneyde kullanılan bakterinin konsantrasyonu ve miktarı, gelişme fazı, deney süresince tüplerin çalkalanmadan veya çalkalanarak inkübasyonu, besiyerinin içeriği ve PH dır (54).

PAE'nin in vitro olarak saptanmasına paralel olarak, bir antibiyotiğin bir bakteriye in vivo PAE göstermesi biyolojik ilginçliği dışında, pratik önemi olan ve antibiyoterapide dikkate alınması gereken bir olaydır. İn-vivo koşullarda PAE'yi ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden en çok kullanılanı siklofosfamid ile nötropenik hale getirilmiş fare budu yöntemidir (7). Bu yöntemle çalışmada kullanılacak bakteri ile bir seri fare budunda deneysel infeksiyon oluşturulur. Daha önce MİK'u belirlenmiş antibiyotikten MİK'nun üzerindeki konsantrasyonda fare buduna enjekte edilir, 3-4 adet infekte fare öldürülerek homojenize edilen butlarında canlı bakteri sayısı ve serumdaki antibiyotiğin miktarı saptanır. Deneyde kullanılan farelere antibiyotiğin uygulandığı an $t=0$, antibiyotik konsantrasyonunun MİK altına düşmesi için geçen süre M, antibiyotik verilen farelerin budundaki bakteri sayısının M süresi sonundaki sayıya göre 10 kat artması için geçen süre T, kontrol fare budundaki bakteri sayısının 10 kat artması için geçen süre C ile gösterilirse in vivo $PAE=T-C-M$ formülü ile hesaplanır.

Antibiyotiklerin postantibiyotik etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Farklı antibiyotik-mikroorganizma kombinasyonlarının PAE'lerinde görülen farklılıklar, olayda birden fazla mekanizmanın rol oynadığını düşündürmektedir. Antibiyotik ilave edilmiş tüplerde ve antibiyotiksiz kontrol tüplerinde, mikroorganizmaların üremesinin PAE dönemi-deki üremeye paralellik göstermesi, PAE'nin test kültürlerinde daha yavaş üreyen mikroorganizma popülasyonlarının ortaya çıkmasına bağlı olmadığını göstermektedir (7).

PAE ile ilgili en akla yakın hipotez antibiyotiğin mikroorganizma üzerinde öldürücü olmayan bir etki yaptığı veya bakteriye bağlanma bölgesinde antibiyotiğin sınırlı olarak bulunmasıdır. Antibiyotik konsantrasyonu arttıkça daha uzun PAE elde edilmesi ve bu konsantrasyondan sonra PAE'nin daha fazla artmaması veya antibiyotikle temas süresi arttıkça PAE'nin artıp belli bir maksimuma ulaştıktan sonra artmaması bir antibiyotik-reseptör etkileşimini akla getirmektedir (7).

Yapılan çalışmalarda eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikolün duyarlı bakterilerin ribozomlarının özgül altbirimlerine geri dönüşümlü olarak bağlandığı gösterilmiştir. Bu antibiyotiklerin PAE'lerinin ribozomlardan difüze olmaları için geçen zamanı gösterdiği bildirilmektedir (57).

Bununla birlikte bu hipotezin aleyhinde bir bulgu olarak Gerber ve Craig (18) eritromisinin *S.pneumoniae*'ye karşı PAE'sinin +4°C'de 24 saat boyunca kaybolmadığını, bu süre içinde ilacın ribozomlardan hatta bakteri hücrelerinden difüze olmasının beklendiğini vurgulamışlardır .

Protein sentezi üzerine etkili olan aminoglikozid grubu antibiyotikler, ribozomların altbirimlerine öldürücü ve geri dönüşümsüz bağlanmaktadır. Aminoglikozidlerde *in vivo* PAE, *in vitro* olarak görüldenden daha uzundur. Zira antibiyotiğin öldürücü konsantrasyonun altındaki konsantrasyonlarda bağlandığı ve daha sonra protein sentezinin önlenmesine neden olduğu bildirilmiştir. Mikroorganizmalar protein veya RNA sentezini inhibe eden herhangi bir antibiyotik ile temas ettiğinde ana metabolizmaları ve çoğalmaları için gerekli fonksiyonel proteinlerinin azaldığı, PAE'nin ise bu proteinlerin yeniden sentezlenmesi periyodunu temsil ettiği bildirilmektedir (7).

Beta laktam antibiyotikler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı farklı PAE gösterirler. Bu grup antibiyotikler hücre duvarı sentezinde rol oynayan penisilin bağlayıcı proteinelere kovalent olarak bağlanarak etkili olurlar. Beta laktam grubu antibiyotikler Gram pozitif koklarda PBP'e sağlam bir şekilde bağlanırlar ve kolay ayrılmazlar. Gram negatif çomaklarda ise küçük molekül ağırlığında bir proteine gevşek olarak bağlanırlar ve daha kolay ayrılabilirler. Bu durum beta laktam gibi antibiyotiklerin Gram pozitif koklarda PAE gösterip, Gram negatif çomaklarda göstermemesini veya oldukça kısa bir süre etki göstermesini de açıklamaktadır (22).

Mc Donald, Prull ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda PAE'ye maruz kalmış mikroorganizmaların lökositlerin öldürücü etkisine daha duyarlı olduğunu göstermişler ve bu fenomeni antibiyotik sonrası lökosit kuvvetlenmesi olarak (postantibiyotic leukocyte enhancement=PALE) olarak adlandırmışlardır (34, 46).

Birçok durumda PAE süresinde bulunan bakterilerin diğer antibiyotiklerin öldürücü etkisine daha dirençli olduğu gösterilmiştir. Eritromisinin etkisi ile PAE süresinde bulunan *S.pneumoniae* üzerine ampisilin öldürücü etkisinin azaldığı belirlenmiş, aynı şekilde önceden rifampisin ile temas etmiş *E.colinin* tobramisine dirençli olduğu bildirilmiştir (54).

Antibiyotiklerin bakterisit etkisinin konak organizmanın ve antibiyotiğin özelliklerine göre değiştiği bilinmektedir. Aminoglikozid grubu

antibiyotiklerin beta laktam grubu antibiyotiklere oranla Gram negatif bakterilere Gram pozitif bakterilerden daha fazla bakterisit etkili olduğu bildirilmiştir (7).

PAE'nin pratikteki en büyük önemi antibiyoterapide doz aralıklarının belirlenmesindeki rolüdür. Antibiyotik tedavisinde iyi sonuç alınabilmesi için genellikle infeksiyon yerinde antibiyotiğin yeterli konsantrasyonda bulunması önemlidir. Antibiyotik konsantrasyonu MİK ve MİK'in üzerindeki konsantrasyonlara ulaştığında bakterinin gelişmesi durur. Bu durum antibiyotik uygulamalarında bir önceki dozun infeksiyon yerinde ulaştığı konsantrasyon MİK'in altına düşmeyecek şekilde sonraki dozun verilmesi ile sağlanır. Kullanılan antibiyotik etken bakteriye PAE göstermiyor ise, infeksiyon odağında antibiyotiğin MİK üstündeki konsantrasyonlarda bulunması gerekir. EĞer antibiyotiğin etken bakteriye PAE'si var ise, bir sonraki dozun uygulanması için antibiyotik konsantrasyonu MİK'in altına düştükten sonra PAE süresi kadar bir süre daha beklenebilir. Yani doz araları MİK'in üstünde kalan süreye, PAE süresinin ilave edilmesiyle açılabilir.

İnsanlarda infeksiyon nedeni olan mikroorganizmalara karşı PAE gösteren bir antibiyotiğin doz aralarının uzatılmasına, dolayısıyla kişinin daha az miktarda antibiyotikle tedavi edilmesine olanak sağladığı düşünülürse PAE ile ilgili in vivo ve iv vitro çalışmaların sayısının arttırılması gereği ortaya çıkar.

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

1- Bakteri suşları

Çalışmamızda İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı rutin laboratuvarına gelen 2'si cerahat, 1'i boğaz salgısından etken olarak izole edilmiş üç *Staphylococcus aureus* suşu kullanılmıştır.

Ayrıca standart suş olarak *S.aureus* ATCC 29213 suşu kullanılmıştır.

2- Besiyerleri

2.1. Triptik Soya Buyyonu (Difco)

Toz haldeki triptik soya buyyonundan 30 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözündürüldükten sonra tüplere 5'er ml lik miktarlarda dağıtılmış, otoklavda 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir.

2.2. Triptik Soya Agar (Difco)

Toz haldeki triptik soya agardan 40 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözündürüldükten sonra tüplere 10'ar ve 5'er ml lik miktarlarda dağıtılmış ve otoklavda 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 5'er ml triptik soya agar bulunan tüpler yatık olarak bekletilerek eğik triptik soya agar besiyerleri elde edilmiştir.

2.3. Mueller Hinton Buyyonu (Difco)

Toz haldeki Mueller Hinton buyyonundan 21 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözündürüldükten sonra 250 ml lik Erlenmayer şişelerine 200 ml olarak dağıtılmış ve otoklavda 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir.

3- Çözeltiler

Antibiyotik çözeltileri

Çalışmada kullanılan antibiyotiklerden eritromisin stearat Fako İlaçları A.Ş. (aktivitesi 659 mcg/mg), azitromisin Pfizer İlaçları A.Ş. (aktivitesi 958 mcg/mg) ve klaritromisin Abbot (aktivitesi 972 mcg/mg) temin edilmiştir.

Bu antibiyotiklerin stok çözeltilerini hazırlamak için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$\text{Tartılacak antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{Çözücünün hacmi (ml)} \times \text{İstenen konsantrasyon mcg/ml}}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi (mcg/mg)}}$$

Antibiyotiklerin herbirinden uygun miktarda Mettler H72 terazisinde tartılmış, eritromisin ve azitromisin %95 lik etanolde, klaritromisin aseptonda çözündürüldükten sonra, eritromisin ve klaritromisinin steril damıtık su ile azitromisinin Mueller Hinton buyyonu ile 2000 mcg/ml lik stok çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltiler -20 °C'de 1 ay süreyle saklanmıştır.

4- Bakteri suşlarının kontrolü

Çalışmada kullanılacak bakteri suşları deneylere başlamadan önce kontrol edilmiştir. Bunun için incelenecek bakterinin eğik jeloz besiyerindeki kültüründen iğne ile petri kutusundaki jeloz besiyerine azaltma yöntemi ile ekim yapılmış 37 °C'de bir gece inkübe edilen petri kutularındaki jeloz üzerinde oluşan kolonilerin birinden alınarak eğik jeloz besiyerine ekilmiştir. Elde edilen saf kültür morfolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından incelenmiştir. Suşlara oksidaz, katalaz, plazma koagülaz deneyleri uygulanmıştır. *S.aureus* olduğu saptanan suşların metisiline duyarlılığı araştırılmıştır. Bunun için %2 NaCl ilaveli MHA besiyeri üzerine 10⁶

CFU/ml'lik *S.aureus* süspansiyonundan 0.2 ml yayılmış, besiyerinin yüzeyi kurutulduktan sonra metisilin diskleri yerleştirilen Petri kutuları bir gece 37 °C'de inkübasyondan sonra metisilin diskleri etrafında oluşan inhibisyon zonları değerlendirilmiştir.

5- İnokulumun hazırlanması

5.1. Mc Farland standardının hazırlanması

Deneylerde Mc Farland'ın 0.5 standart bulanıklığı esas alınmıştır. Bunu hazırlamak için 0.5 ml 0.048 M BaCl₂ çözeltisi (BaCl₂ . 2H₂O'nun %1.75'lik çözeltisi a/h) 99.5 ml 0.18 M H₂SO₄ çözeltisine (H₂SO₄'ün %1'lik çözeltisi h/h) ilave edilmiştir.

5.2. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması

Çalışmada kullanılan *S.aureus* suşlarının eğik triptik soya agar besiyerindeki kültürleri petri kutusundaki triptik soya agar besiyerine azaltma yöntemi ile yayılmış, 37 °C'de bir gecelik inkübasyondan sonra oluşan 3-4 koloniden içinde 5 ml triptik soya buyyonu bulunan tüplere ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildikten sonra, bulanıklığı steril damıtık su ile 0.5 Mc farland standardına göre ayarlanarak *S.aureus* suşlarının 10⁸ CFU/ml'lik süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlar Mueller Hinton buyyonunda 1/100 oranında seyreltilerek 10⁶ CFU/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir.

6- Diğer malzemeler

Çalışmada U tabanlı 96 kuyu içeren steril mikropalaklar kullanılmıştır. Besiyerinin, antibiyotik çözeltilerinin ve bakteri süspansiyonlarının uygulanmasında 8 kanallı otomatik pipet (Brand), 20, 50, 100 µl'lik (Sigma) otomatik pipetler kullanılmıştır. Pipetörlere ait plastik uçların sterilizasyonu otoklavda 121 °C'de 15 dakika yapılmıştır.

7- Minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) saptanması

7.1. Deney koşullarının standardizasyonu

Çalışmada uygulanan yöntemin uluslararası standartlara uygunluğunu saptamak amacıyla *S.aureus* ATCC 29213 kontrol suşu kullanılmıştır. Bu amaçla mikrodilüsyon yöntemiyle eritromisin 32 - 0.016 mcg/ml, azitromisin ve klaritromisin 32-0.031 mcg/ml arasındaki konsantrasyonları Mueller Hinton buyyonunda bir seri dilüsyonla elde edilmiştir. Daha sonra 5.2. kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanan *S.aureus* 29213 suşunun süspansiyonundan ilave edilmiş mikroplağın üzeri steril plastik kapak ile kapatılarak 16-20 saat inkübasyona bırakılmış, üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon (MİK) olarak saptanmıştır.

7.2. Deneyde kullanılan antibiyotiklerin MİK değerlerinin saptanması

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ile 3 klinik *S.aureus* suşuna karşı eritromisin, azitromisin ve klaritromisin MİK değerleri araştırılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile antibiyotiklerin MİK değerini saptamak için mikroplağın 1 nolu kolonu dışında kalan her kuyusuna 50'şer µl Mueller Hinton buyyonundan konmuş, sonra 1 ve 2 nolu kolonlara antibiyotiklerin Mueller Hinton buyyonundaki son konsantrasyonun 2 misli konsantrasyondaki çözeltilerinden 50'şer µl ilave edilerek 2-11 nolu kuyular arasında bir seri dilüsyon yapılmıştır. Bundan sonra mikroplağın A kolonundaki 12 nolu kuyu dışında kalan tüm kuyularına hazırlanışı 5.2. kısmında bildirilen bakteri süspansiyonundan 50'şer µl konularak 1-11 nolu kuyularda antibiyotik çözeltileri gerekli konsantrasyonlara ulaştırılmıştır. Bu konsantrasyonlar eritromisin için 32-0.016 µg/ml, azitromisin ve klaritromisin için 32-0.031 µg/ml değerleri arasında olacak şekilde yapılmıştır. A kolonunun 12 nolu kuyusu besiyerinin sterilite, mikroplaktaki diğer tüm 12 nolu kuyular ise deneyde kullanılan suşların üremesinin kontrolü için kullanılmıştır. Ekim yapılan mikroplakların üzeri steril bir kapakla örtülmüş, buharlaşmayı önlemek amacıyla bir naylon kılıf içine yerleştirildikten sonra etüvde 37 °C'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üremenin gözle görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

8- Postantibiyotik etkinin (PAE) saptanması

8.1. Antibiyotikler

Deneyde kullanılan antibiyotiklerin 1000 µg/ml'lik konsantrasyonundaki stok çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltiler -20 °C'de 1 ay süreyle saklanmıştır. PAE tayininde antibiyotiklerin MİK ile MİK'in 2,4 ve 10 katı konsantrasyonlarındaki çözeltileri kullanılmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerden 100'er µl alınıp önceden 37 °C'ye ısıtılmış 8.9 ml Mueller Hinton besiyerine (MHB) ilave edilmiştir.

8.2. İnokulum hazırlanması

Deneyde kullanılan bakteri süspansiyonunu elde etmek amacıyla tripitik soya agar besiyerinin yüzeyinde üreyen 2-3 koloniden içinde 5 ml Mueller Hinton buyyonu bulunan tüpe ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 1 gece inkübe edilmiştir. Ertesi gün oluşan sıvı kültürün bulanıklığı steril damıtık su ile 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlanarak bakterinin 10⁸ CFU/ml'lik süspansiyonu elde edilmiştir. Bu süspansiyonun MHB buyyonunda 1/10 oranında seyreltilmesiyle, inokulum olarak kullanılan 10⁷ CFU/ml'lik süspansiyonu elde edilmiştir. Daha sonra hazırlanan inokulumdan 1 ml alınarak önceden hazırlanmış antibiyotik içeren besiyerlerine ve kontrol olarak 9 ml antibiyotiksiz besiyeri içeren 2 tüpe ilave edilerek 10⁶ CFU/ml'lik bir final inokulumu elde edilmiştir. Bu tüpler 1 saat boyunca çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de tutulmuş, 1 saatlik temas süresinin sonunda antibiyotik ortamdan uzaklaştırılmıştır.

8.3. Antibiyotiğin dilüsyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırılması

Antibiyotikle muamele edilen kültür antibiyotik içermeyen steril MHB'da 10⁻³ oranda seyreltilmiştir. Bu amaçla antibiyotik içeren kontrol kültürlerinden 10 µl 9.99 ml steril besiyerine aktarılmıştır. Böylece seyreltilen tüplerdeki antibiyotik konsantrasyonu bakterinin üremesini inhibe etmeyecek düzeye indirilmiştir. Bunu takiben tüpler hemen 37 °C'deki çalkalayıcı su banyosuna aktarılmıştır.

8.4. Canlı bakteri sayımı

Total canlı bakteri sayımı tüm tüplerden sıfır zamanda, dilüsyondan önce ve sonra, 6 saat boyunca bir saat arayla 100'er µl örnek alınarak yapılmıştır. Örnekler uygun oranlarda seyreltikten sonra dilüsyonlardan 20'şer µl alınarak petri kutusundaki triptik soya agarın yüzeyine yayılmış, besiyerinin yüzeyi kuruduktan sonra petri kutuları 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün oluşan koloniler sayılmıştır.

8.5. Postantibiyotik etki (PAE) nin değerlendirilmesi

Koloni sayısı sulandırım oranı ile çarpılarak CFU/ml hesaplanmış ve değerler grafik üzerinde gösterilerek postantibiyotik etki aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır.

$$PAE = T - C$$

- T= Test kültüründeki CFU/ml sayısının antibiyotiğin ortamdaki konsantrasyonundan uzaklaştırılmasından hemen sonra gözlenen sayının 1 log₁₀'luk artış göstermesi için geçen zaman.
- C= Test kültürü ile aynı işlemlerden geçirilen kontrol kültürlerindeki CFU/ml'nin 1 log₁₀'luk artış göstermesi için geçen zaman.

BULGULAR

1. Minimal İnhibitor konsantrasyonunun saptanmasına ait bulgular

1.1. Standart suşa ait bulgular

Deney koşullarının standardizasyonu için *S.aureus* ATCC 29213 suşuna karşı mikrodilüsyon yöntemiyle denenen antibiyotiklerin MİK değerlerinin eritromisin için 0.25 mcg/ml, azitromisin için 0.5 mcg/ml, klaritromisin için 0.25 mcg/ml olduğu saptanmıştır. Buna ait sonuçlar Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Antibiyotiklerin standart *S.aureus* suşuna karşı saptanan MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK (mcg/ml)		
	Eritromisin	Azitromisin	Klaritromisin
<i>S.aureus</i> ATCC 29213	0.25	0.5	0.25

1.2. Klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına ait bulgular

1.2.1. Eritromisinin MİK değerlerine ait bulgular

Deneyde kullanılan 2’si cerahat 1’i boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı eritromisinin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan

MİK değerlerinin 0.5 mcg/ml olduğu belirlenmiştir. Buna ait sonuçlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

1.2.2. Azitromisin MİK değerlerine ait bulgular

Azitromisin 2’si cerahat 1’i boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 1 mcg/ml olduğu belirlenmiştir. Buna ait sonuçlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

1.2.3. Klaritromisin MİK değerlerine ait bulgular

Klaritromisin 2’si cerahat 1’i boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 0.25 mcg/ml olduğu belirlenmiştir. Buna ait sonuçlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Antibiyotiklerin klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı saptanan MİK değerleri

Antibiyotik	MİK (mcg/ml)		
	<i>S.aureus</i> (Cerahat)	<i>S.aureus</i> (Cerahat)	<i>S.aureus</i> (Boğaz Salgısı)
Eritromisin	0.5	0.5	0.5
Azitromisin	1	1	1
Klaritromisin	0.25	0.25	0.25

2. Post antibiyotik etkinin saptanmasına ait bulgular

2.1. Standart suşa ait bulgular

Eritromisin, azitromisin ve klaritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK konsantrasyonları *S.aureus* ATCC 29213 suşu ile 1 saat muamele edilip, antibiyotik dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırıldığında eritromisin için 0.9 saatten 2.1 saate, azitromisin için 0.55 saatten 1.45 saate,

klaritromisin için 0.95 saatten 1.8 saate kadar uzayan post antibiyotik etki değerleri elde edilmiştir. Buna ait toplu sonuçlar Tablo 3’de ve Şekil 1A, 2A, 3A ile gösterilmiştir.

Tablo 3: Denenen antibiyotiklerin *S.aureus* ATCC 29213 suşuna karşı elde edilen PAE değerleri

Antibiyotik	PAE (saat)			
	1x MİK	2x MİK	4x MİK	10x MİK
Eritromisin	0.9	1.15	1.7	2.1
Azitromisin	0.55	0.75	1.15	1.45
Klaritromisin	0.95	1.3	1.5	1.8

2.2. Klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına ait bulgular

2.2.1. Eritromisinin post antibiyotik etkisine ait bulgular

Cerahat ve boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşları eritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilip antibiyotik dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra cerahattan izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşuna karşı 1 saatten 1.55 saate, 2 nolu *S.aureus* suşuna karşı 1.1 saatten 1.8 saate boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşuna karşı ise 1 saatten 1.6 saate kadar uzayan post antibiyotik etki değerleri elde edilmiştir. Buna ait toplu sonuçlar Tablo 4 ve Şekil 1B, 1C, 1D ile gösterilmiştir.

Tablo 4: Eritromisinin klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı saptanan PAE değerleri

Test Mikroorganizma	PAE (saat)			
	1x MİK	2x MİK	4x MİK	10x MİK
<i>S.aureus</i> (Cerahat 1)	1.0	1.15	1.35	1.55
<i>S.aureus</i> (Cerahat 2)	1.1	1.15	1.45	1.8
<i>S.aureus</i> (Boğaz salgısı)	1.0	1.05	1.3	1.6

2.2.2. Azitromisinin post antibiyotik etkisine ait bulgular

Cerahat ve boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşları azitromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilip, antibiyotik dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırıldığında cerahatten izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşuna karşı 0.6 saatten 1.2 saate, 2 nolu *S.aureus* suşuna karşı 0.85 saatten 1.7 saate, boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşuna karşı ise 0.6 saatten 1.15 saate kadar uzayan post antibiyotik etki değerleri elde edilmiştir. Buna ait toplu sonuçlar Tablo 5 ve Şekil 2B, 2C, 2D ile gösterilmiştir.

Tablo 5: Azitromisinin klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı saptanan PAE değerleri

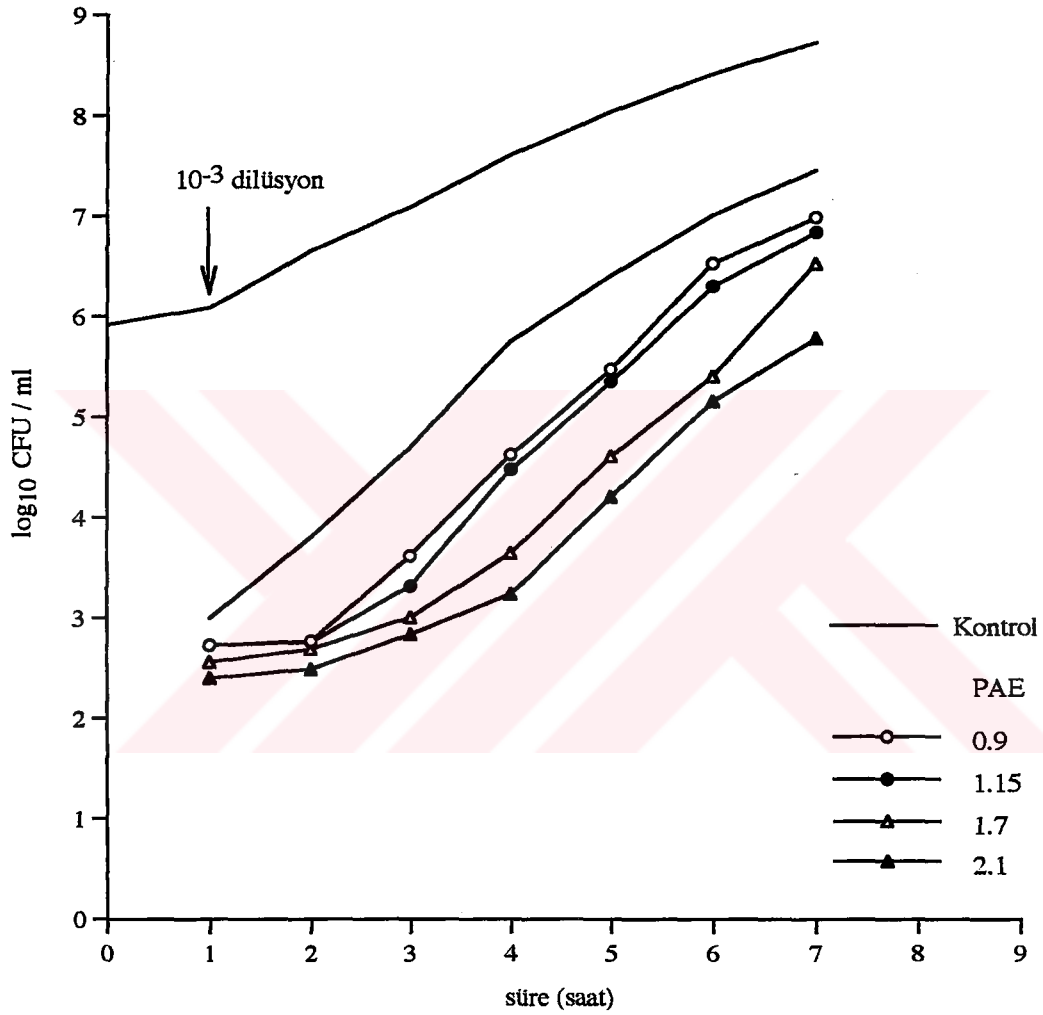
Test Mikroorganizma	PAE (saat)			
	1x MİK	2x MİK	4x MİK	10x MİK
<i>S.aureus</i> (Cerahat 1)	0.6	0.7	1.0	1.2
<i>S.aureus</i> (Cerahat 2)	0.85	1.05	1.3	1.7
<i>S.aureus</i> (Boğaz salgısı)	0.6	0.7	0.9	1.15

2.2.3. Klaritromisinin post antibiyotik etkisine ait bulgular

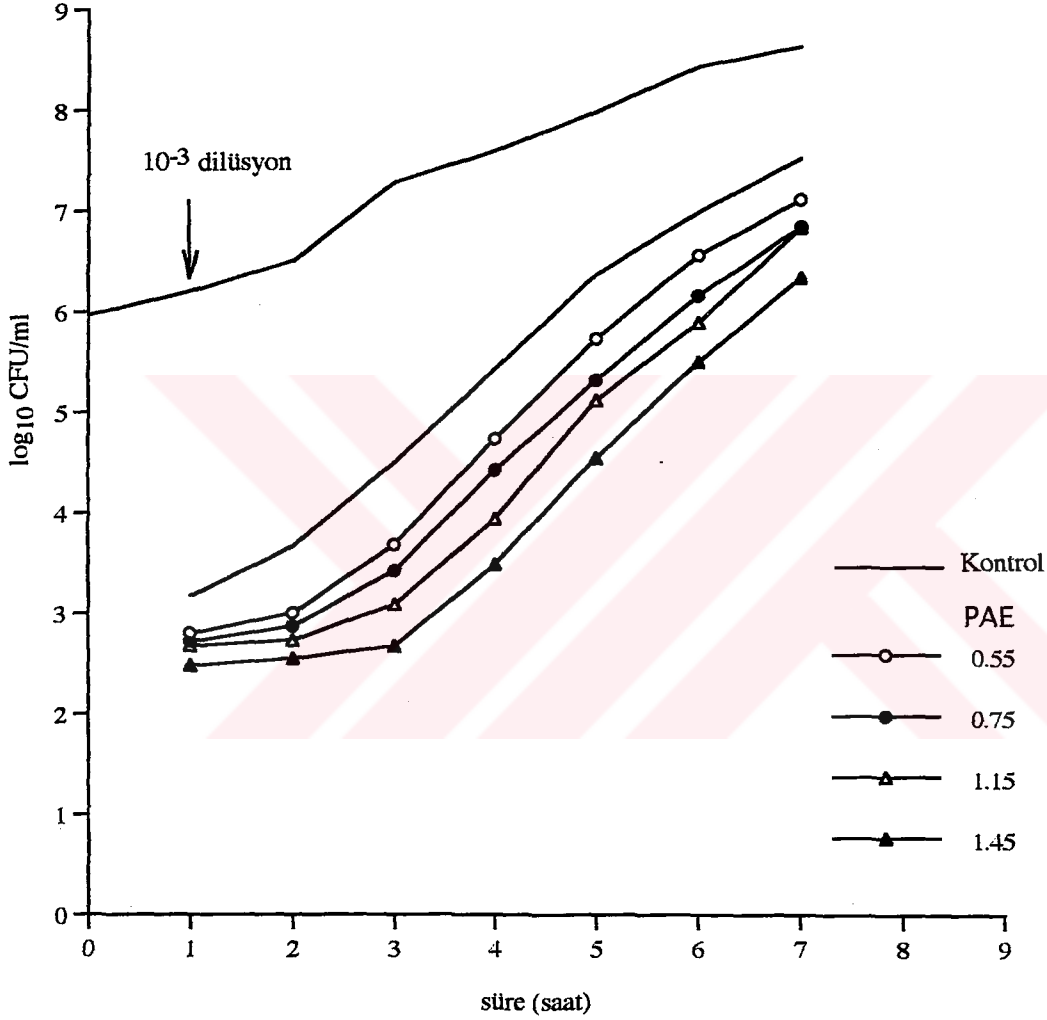
Cerahat ve boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşları klaritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilip antibiyotik dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırıldığında cerahatten izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşuna karşı 0.8 saatten 1.65 saate, 2 nolu *S.aureus* suşuna karşı 0.9 saatten 1.55 saate, boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşuna karşı ise 0.9 saatten 1.6 saate kadar uza-yan post antibiyotik etki değerleri elde edilmiştir. Buna ait toplu sonuçlar Tablo 6 ve Şekil 3B, 3C, 3D ile gösterilmiştir.

Tablo 6: Klaritromisinin klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı saptanan PAE değerleri

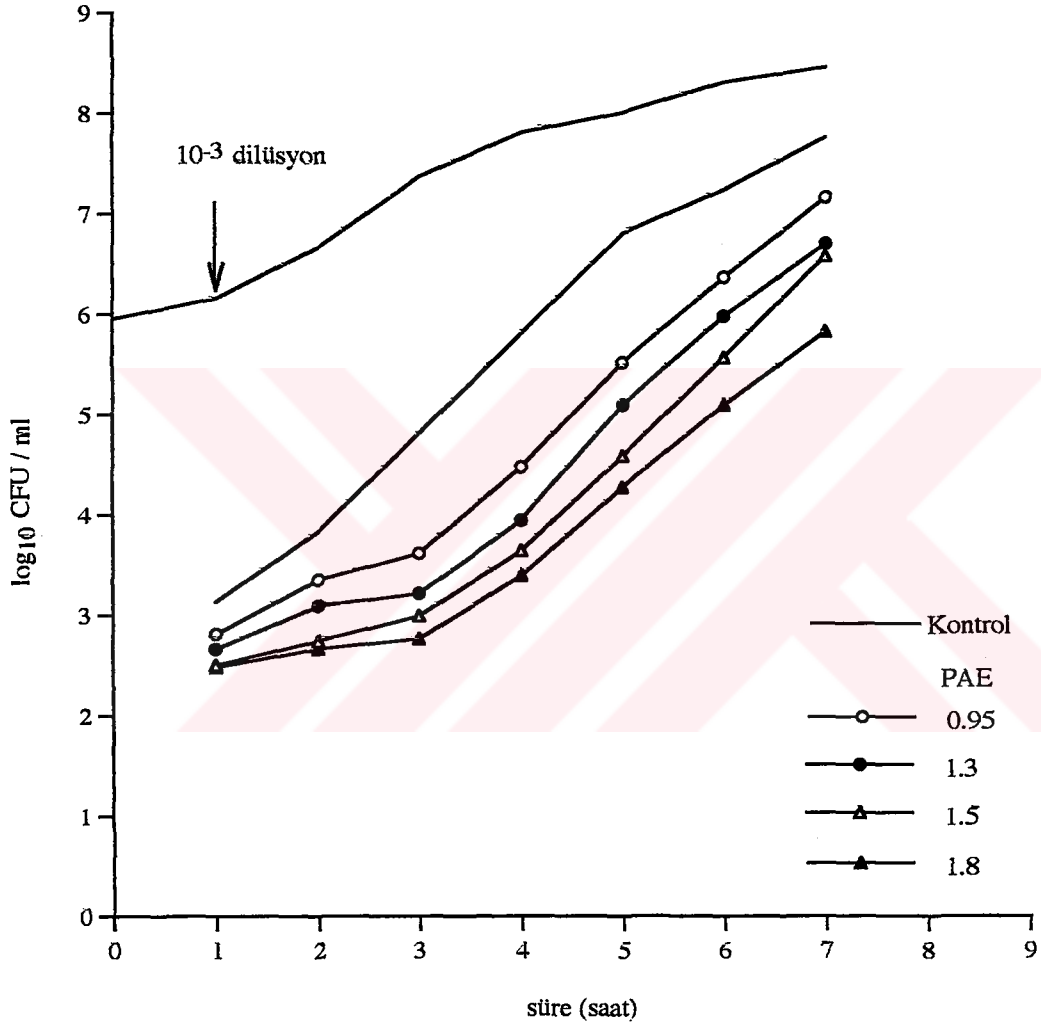
Test Mikroorganizma	PAE (saat)			
	1x MİK	2x MİK	4x MİK	10x MİK
<i>S.aureus</i> (Cerahat 1)	0.8	1.35	1.55	1.65
<i>S.aureus</i> (Cerahat 2)	0.9	1.3	1.4	1.55
<i>S.aureus</i> (Boğaz salgısı)	0.9	1.2	1.35	1.6



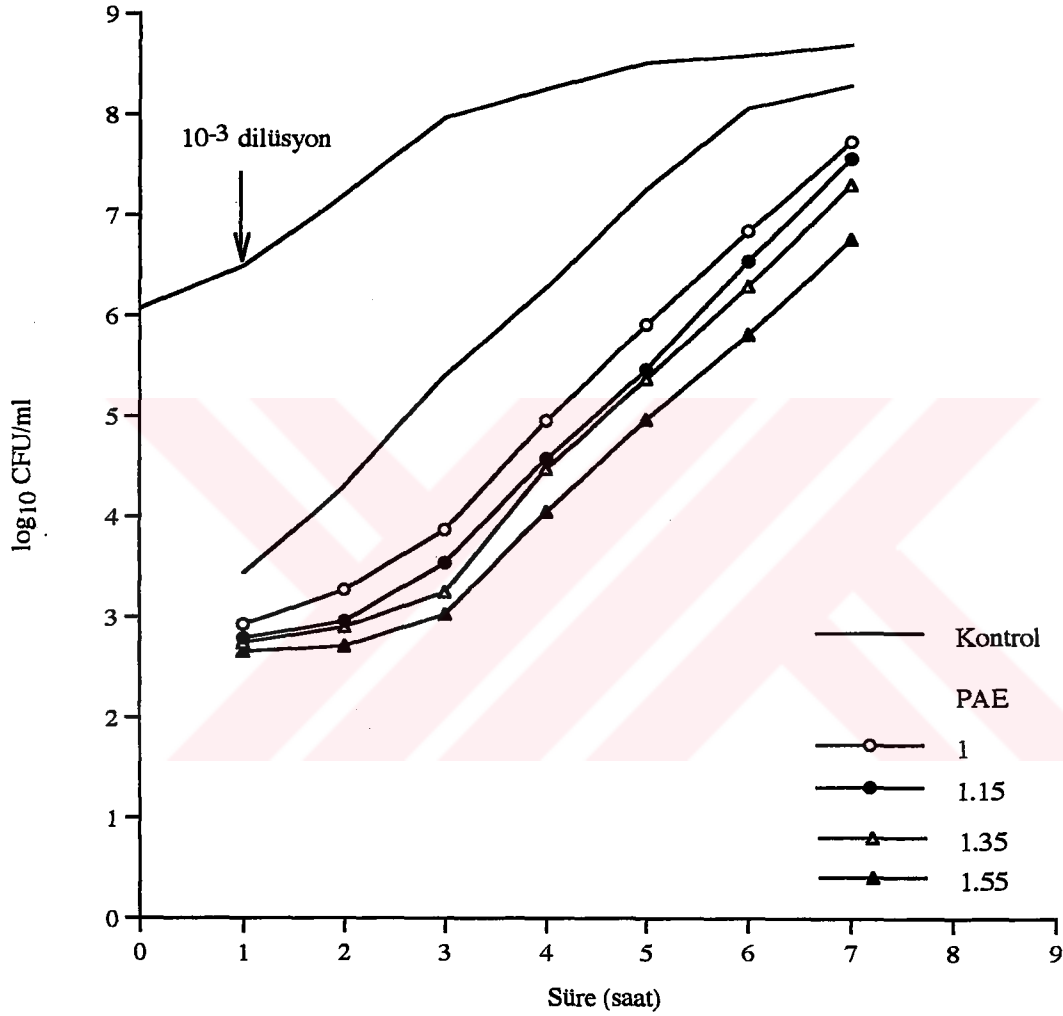
Şekil 1A: Eritromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen *S.aureus* ATCC 29213 suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



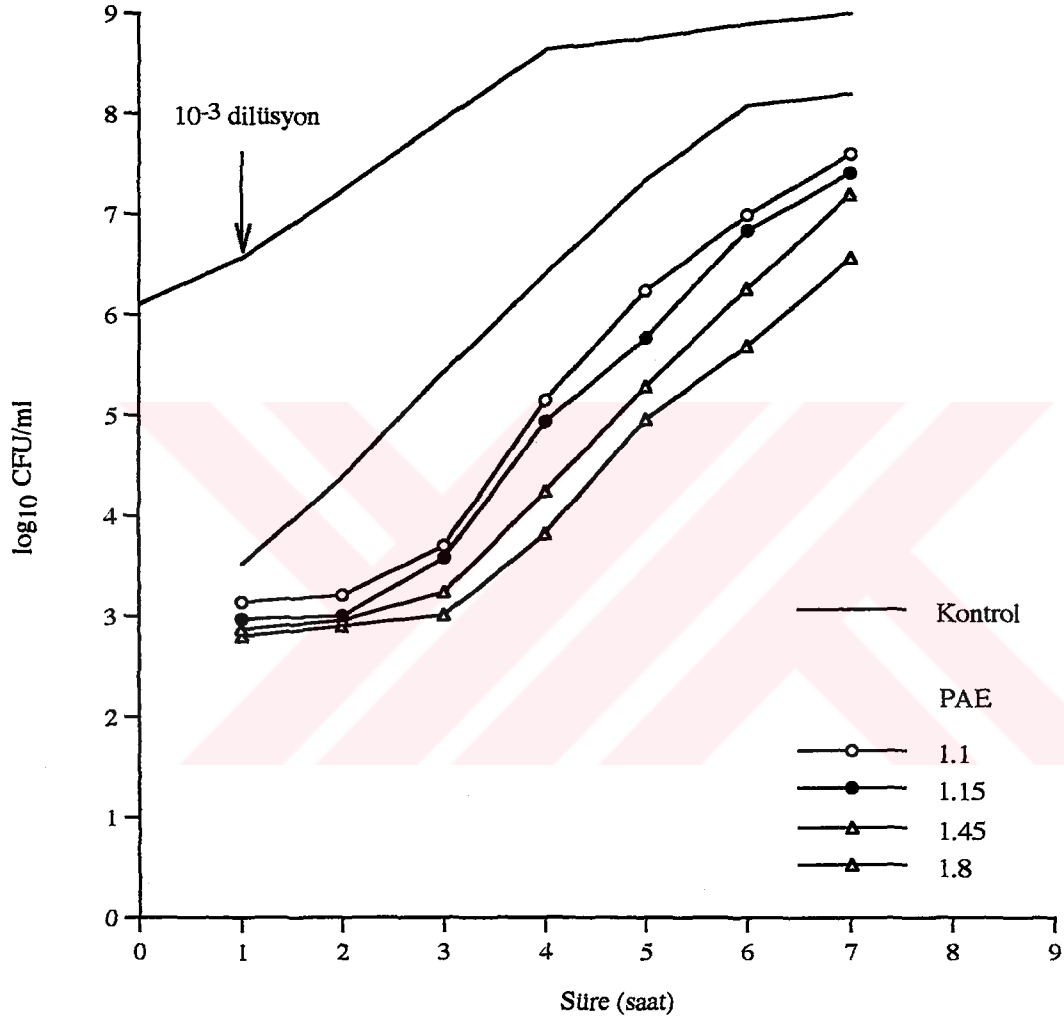
Şekil 2A: Azitromisin'in 1xMİK (○), 2xMİK (●), 4xMİK(△), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen *S.aureus* ATCC 29213 suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



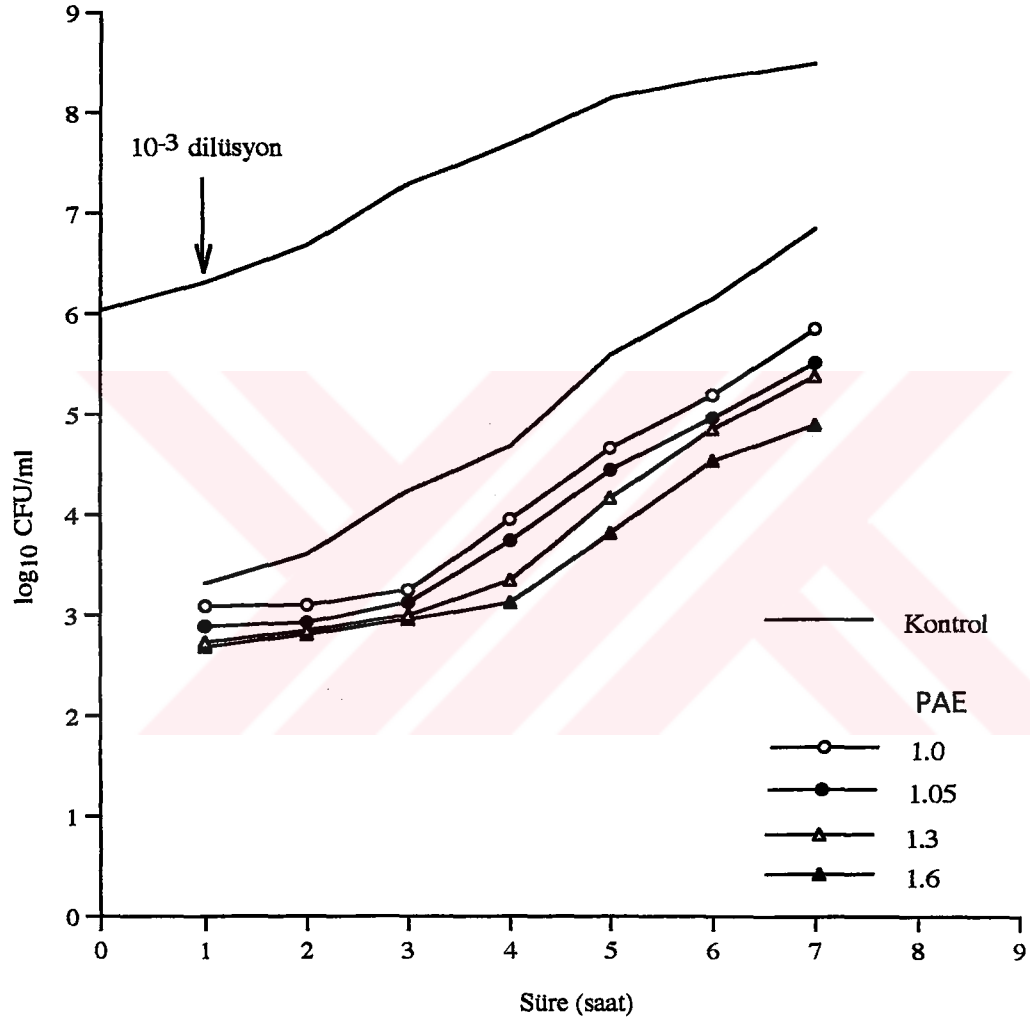
Şekil 3A: Klaritromisin'in 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen *S.aureus* ATCC 29213 şuşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değeri (saat).



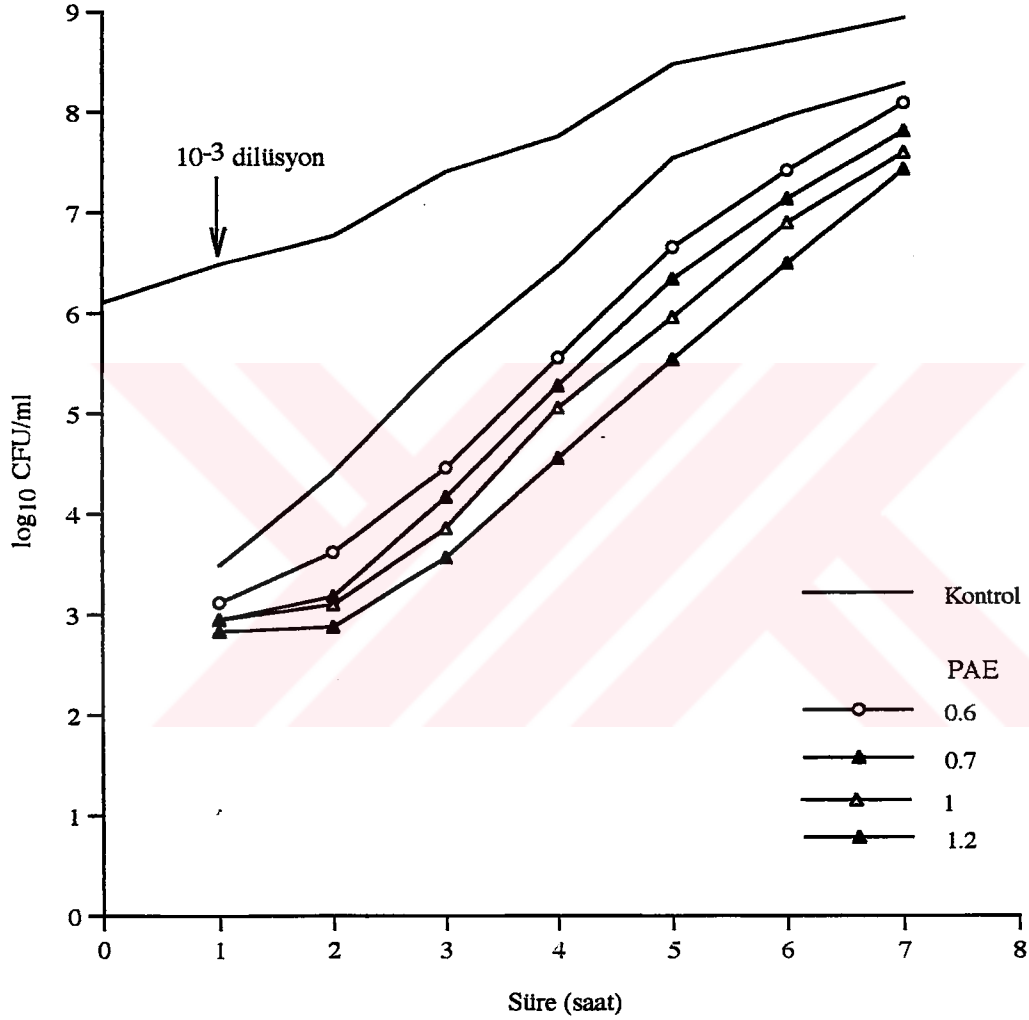
Şekil 1B: Eritromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilen cerrahatten izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



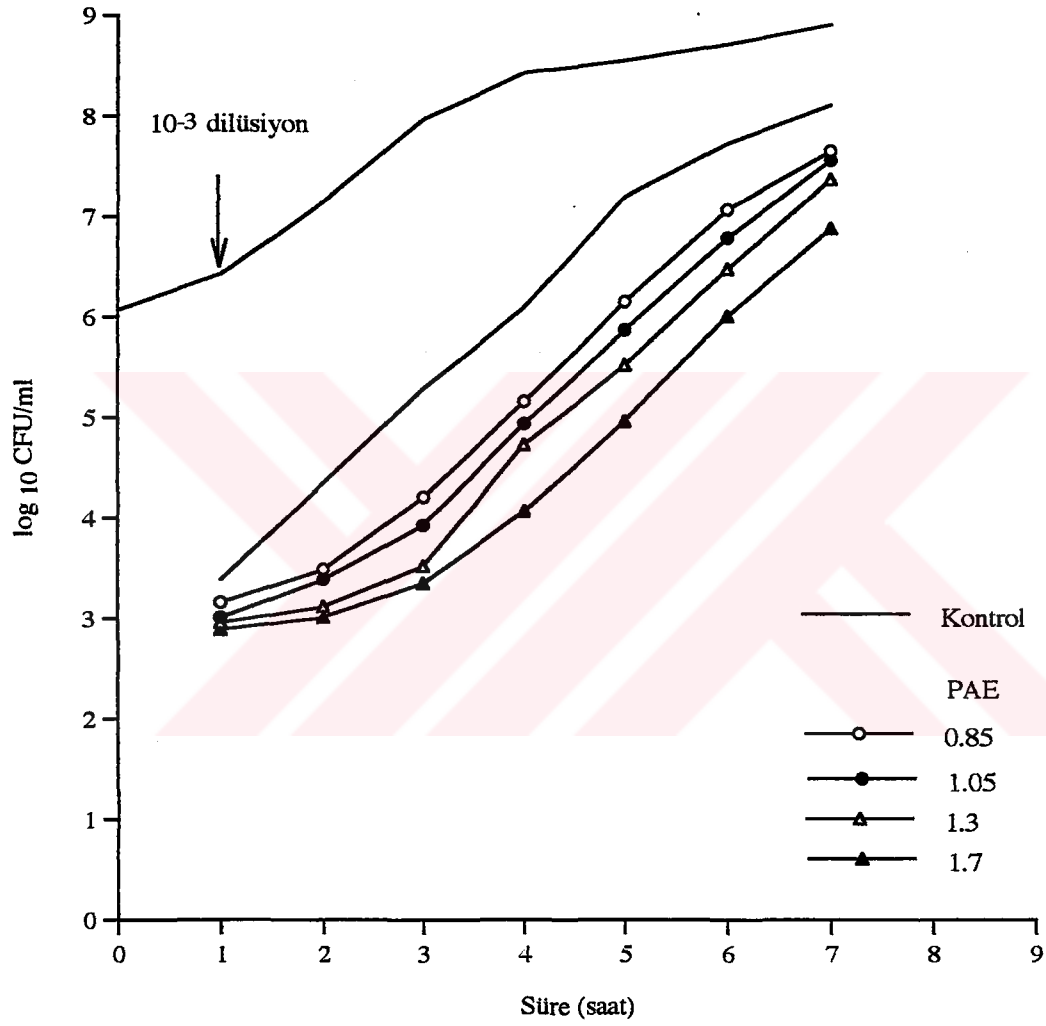
Şekil 1C: Eritromisin'in 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen cerrahatten izole edilmiş 2 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



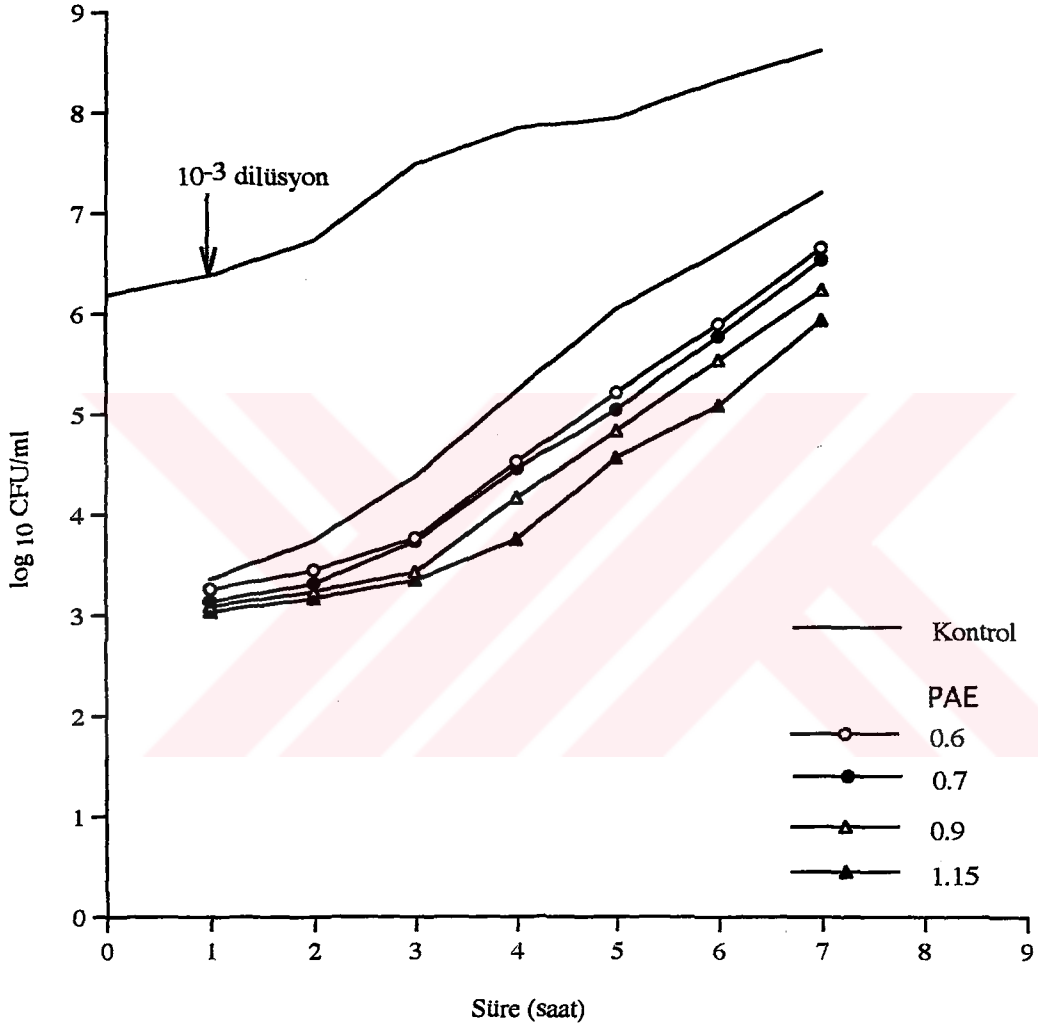
Şekil 1D: Eritromisin'in 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilen boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



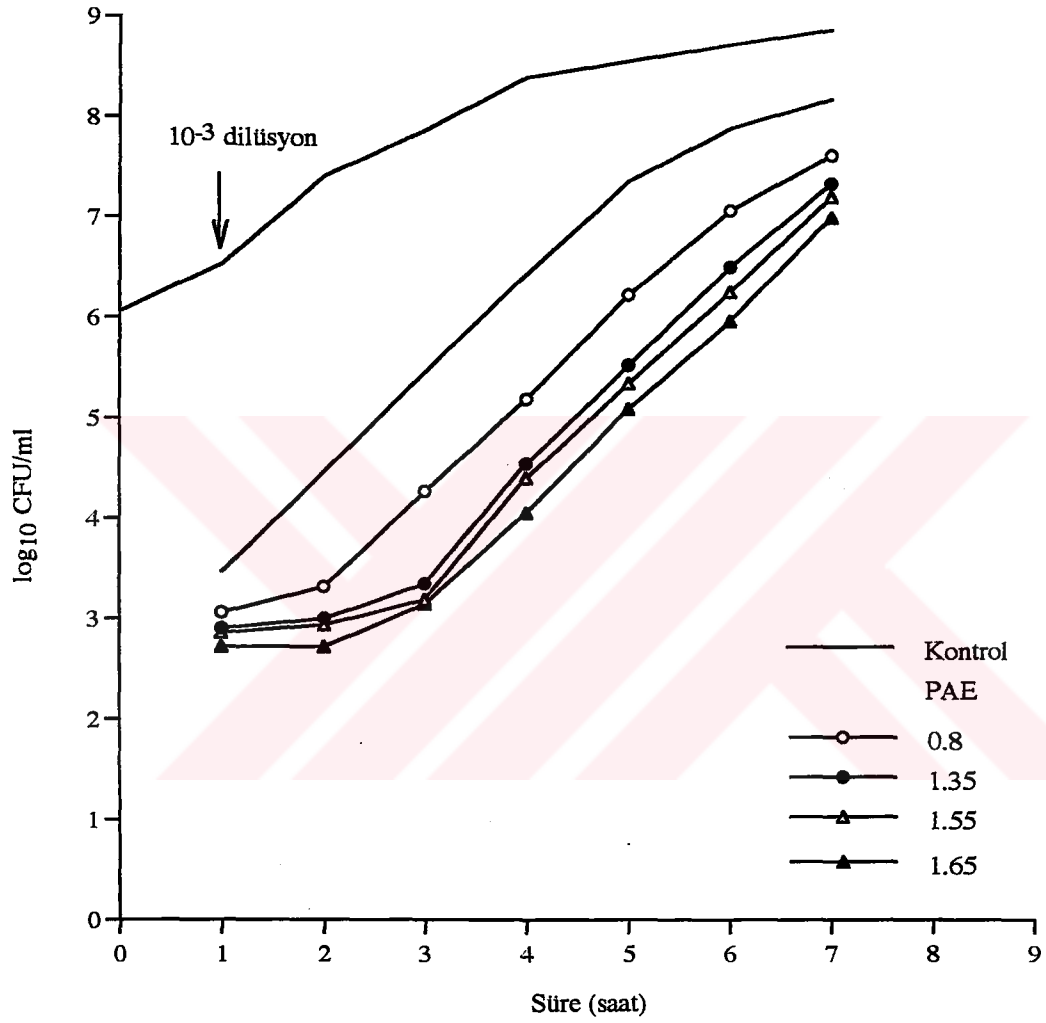
Şekil 2B: Azitromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen cerrahatten izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



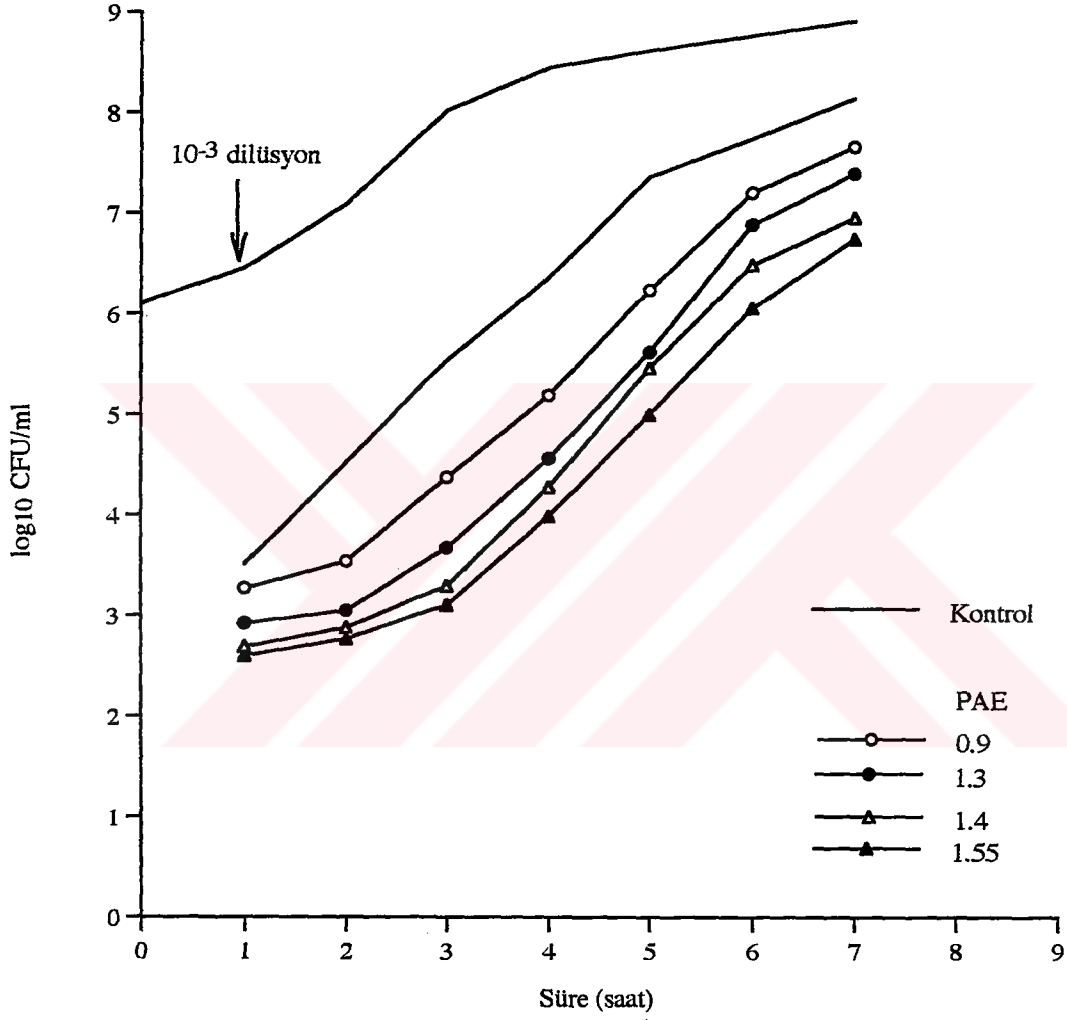
Şekil 2C: Azitromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen cerrahitten izole edilmiş 2 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



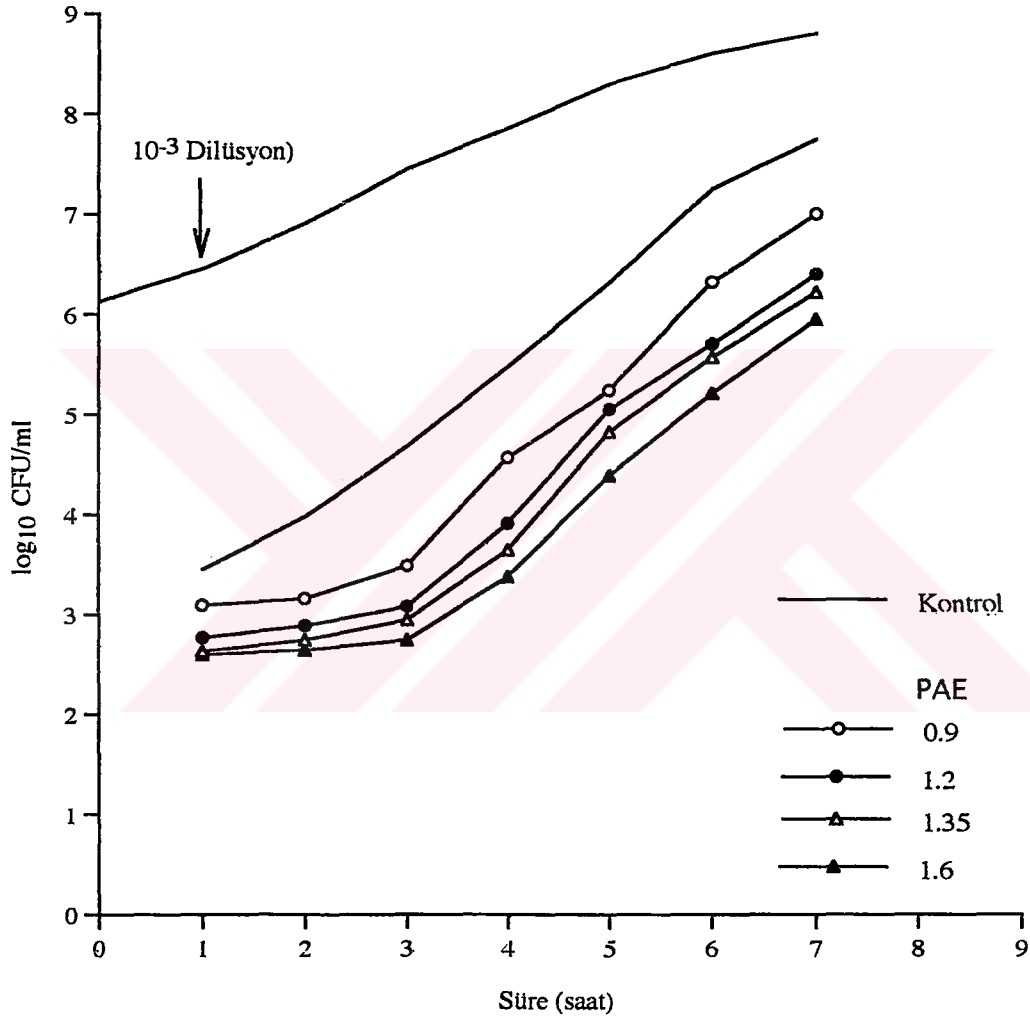
Şekil 2D: Azitromisin'in 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1 saat muamele edilen boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



Şekil 3B: Klaritromisin'in 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen cerrahatten izole edilmiş 1 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



Şekil 3C: Klaritromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen cerrahatten izole edilmiş 2 nolu *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).



Şekil 3D: Klaritromisinin 1xMİK (O), 2xMİK (●), 4xMİK(Δ), 10xMİK (▲) konsantrasyonları ile 1saat muamele edilen boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE değerleri (saat).

TARTIŞMA

Antibiyotik ile etken mikroorganizma arasındaki ilişkileri belirleyen faktörlerden birisi olan PAE süresi, gerek mikroorganizma gerek antibiyotik gerekse deney koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir.

PAE süresinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda konsantrasyon-zaman ilişkisinde antibiyotik konsantrasyonu ile temas süresinin eşit önemde olduğu vurgulanmış, antibiyotik konsantrasyonu ve temas süresi arttıkça PAE değerlerinde kademeli bir artış gözlemlendiği belirlenmiştir (11, 7).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada kullanılan değişik besiyerinin, besiyeri serum karışımının, idrarın MİK değerlerinde büyük farklara neden olmasına rağmen bu ortamlardan elde edilen PAE değerlerinde önemli farklar oluşturmadığı gösterilmiştir (19).

PAE ile ilgili yapılan çalışmalarda antibiyotiğin ortamdan uzaklaştırılması için kullanılan farklı yöntemlerin önemli değişmelere neden olduğunu göstermiştir (19, 5).

Yapılan bir başka çalışmada eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotiklerin standart ve klinik *S.aureus* suşları üzerindeki PAE süreleri üzerinde Bioscreen C ve canlı bakteri sayım yöntemi ile karşılaştırmalı olarak çalışıldığında bu iki yöntemle elde edilen PAE süreleri arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada canlı bakteri sayım yönteminin daha uzun ve yorucu olduğu gözönünde bulundurularak pratikliği açısından Bioscreen C yönteminin uygulanması önerilmiştir (41).

Çalışmalarımızda eritromisin, azitromisin ve klaritromisin gibi makrolid grubu antibiyotiklerin *S.aureus* suşları üzerinde temas süresinin aynı kalma koşuluyla konsantrasyon artışına bağlı olarak kademeli bir PAE artışı gösterip göstermediği incelenmiştir.

Bu amaçla *S.aureus* ATCC 29213 standart suşu ile ikisi cerahat biri boğaz salgısından izole edilmiş üç klinik suşun eritromisin, azitromisin ve klaritromisin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK ve 10xMİK gibi farklı konsantrasyonları ile temasta bırakılmasına bağlı olarak elde edilen PAE değerlerinde anlamlı bir değişikliğin olup olmadığı araştırılmıştır.

Kuenzi ve arkadaşları (28), 0.5-1xMİK konsantrasyonlarda eritromisin ile 1-6 saat temas ettirdikleri *S.aureus* ATCC 29213 suşuna karşı PAE'nin 1.5-2.5 saat, 5-10xMİK konsantrasyonda ise bu değer 2.5-5.2 saat olduğunu bildirmişlerdir.

Webster ve grubu (56), MİK'e eşit konsantrasyonda eritromisin ile 3 saat temas ettirdikleri klinik *S.aureus* suşuna karşı 3 saatlik PAE gösterdiğini, temas süresi aynı bırakılarak 4xMİK konsantrasyonda eritromisin ile temas ettirilen *S.aureus* suşuna karşı elde edilen PAE süre sinin 5 saate uzadığını belirlemişlerdir.

Minguez ve arkadaşları (36), yaptıkları çalışmada eritromisinin 1xMİK ve 10xMİK konsantrasyonları ile 1 saat temas ettirdikleri *S.aureus* ATCC 25923 suşuna karşı elde edilen PAE değerinin 0.9 ± 2 ile 1.8 ± 0.3 saat arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Watanabe ve arkadaşları (55), eritromisinin *S.aureus* 209P Jc-1 suşu üzerine post antibiyotik etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, eritromisinin 2xMİK konsantrasyonu ile 2 saat temas ettirdikleri *S.aureus* suşuna karşı antibiyotik filtrasyonla ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra PAE değerini 1.2 saat olarak bulmuşlardır.

Chang ve arkadaşları (6), eritromisinin *S.aureus* ATCC 29213, *S.aureus* ATCC 6538P ve 2 klinik örnekten izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerindeki post antibiyotik etkisinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, eritromisinin 4xMİK konsantrasyonu ile 1.5 saat temas ettirdikleri *S.aureus* suşlarına karşı antibiyotik 1/1000 dilüsyonla ortamdan uzaklaştırıldığında 1.7-2.1 saat arasında değişen PAE gösterdiğini belirlemişlerdir.

Varotta ve grubu (53), yaptıkları çalışmada standart *S.aureus* ATCC 29213 suşunun eritromisinin 1xMİK, 4xMİK, 8xMİK konsantrasyonlar ile 1.30 saat temasta bırakılması ve antibiyotik dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırılmasından sonra elde edilen PAE değerlerinin sırasıyla 1.30, 2.10, 2.30 saat olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada eritromisinin 4xMİK konsantrasyonda standart *S.aureus* ATCC 6538P suşu ile 2 saat temas ettirilmesi sonucu antibiyotik ortamdan filtrasyonla uzaklaştırıldığında elde edilen PAE değerlerinin 2.35 saat olduğu bildirilmiştir (13).

Çalışmamızda eritromisinin standart *S.aureus* ATCC 29213 ve klinik olarak izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerindeki post antibiyotik etkisinin belirlenmesi amacıyla eritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK gibi farklı konsantrasyonlarda *S.aureus* suşları ile 1 saat temasta bırakılması ve antibiyotiğin 1/1000 dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırılmasından sonra standart *S.aureus* ATCC 29213 suşu üzerindeki PAE değerleri 0.9-2.1 saat olarak belirlenmiştir. Klinik olarak cerahatten izole edilen Cerahat 1 ve Cerahat 2 *S.aureus* suşlarına karşı bu değerler sırasıyla 1.0-1.55 ve 1.1-1.8 saat olarak bulunmuş, boğaz salgısından izole edilen *S.aureus* suşuna karşı ise 1.0-1.6 saate uzayan PAE değerleri elde edilmiştir. Eritromisin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak PAE'de görülen kademeli artış arasında yüksek derecede korelasyon bulunduğu belirlenmiş ve r değerlerinin 0.94 - 0.98 arasında olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu bulguların temas süresindeki ve antibiyotiğin ortamdan uzaklaştırılmasında kullanılan dilüsyon oranındaki farklılıklar gözönünde bulundurulduğunda diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk gösterdiği görülmektedir.

Minguez ve arkadaşları (36), yaptıkları çalışmada azitromisinin 1xMİK ve 10xMİK konsantrasyonları ile 1 saat temas ettirdikleri standart *S.aureus* 25923 suşuna karşı PAE değerinin 1.17 ± 0.3 ile 2.17 ± 0.5 saat arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda azitromisinin standart *S.aureus* ATCC 29213 ve klinik olarak izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerindeki post antibiyotik etkisinin belirlenmesi amacıyla azitromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK gibi farklı konsantrasyonlarda *S.aureus* suşları ile 1 saat temasta bırakılması ve antibiyotiğin 1/1000 dilüsyon yöntemiyle ortamdan uzaklaştırılmasından sonra standart *S.aureus* ATCC 29213 suşu üzerindeki PAE değerleri 0.55-1.45 saat olarak belirlenmiştir. Klinik olarak cerahatten izole edilen Cerahat 1 ve Cerahat 2 *S.aureus* suşlarına karşı bu değerler sırasıyla 0.6-1.2 ve 0.85-1.7 saat olarak bulunmuş, boğaz salgısından izole edilen *S.aureus* suşuna karşı ise 0.6-1.15 saate uzayan PAE değerleri tespit edilmiştir.

Azitromisin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak PAE'de görülen kademeli artış arasında yüksek derecede korelasyon bulunduğu belirlenmiş ve r değerlerinin 0.94 ile 0.98 arasında olduğu saptanmıştır.

Minguez ve arkadaşlarının bulguları ile bizim bulgularımız arasında bir uygunluğun bulunmayışı MİK değerlerimizin farklı olmasından ileri geldiğini düşündürmüştür.

Watanabe ve arkadaşları (55), klaritromisinin standart *S.aureus* suşuna karşı post antibiyotik etkisinin bulunması amacıyla yaptıkları çalışmada klaritromisinin 2xMİK konsantrasyonu ile 2 saat temas ettirdikleri *S.aureus* suşuna karşı antibiyotik filtrasyonla ortamdan uzaklaştırıldığında PAE değerini 1.9 saat olarak bulmuşlardır.

Fernandes ve arkadaşları (13), klaritromisinin 4xMİK konsantrasyonu ile standart *S.aureus* ATCC 6538P suşunun 2 saat temas ettirilmesi sonucu antibiyotik filtrasyonla ortamdan uzaklaştırıldığında PAE değerinin 6.25 saat olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda klaritromisinin standart *S.aureus* ATCC 29213 ve klinik olarak izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerindeki post antibiyotik etkisinin belirlenmesi amacıyla klaritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK, 10xMİK farklı konsantrasyonlarda *S.aureus* suşları ile 1 saat temasta bırakılması ve antibiyotiğin 1/1000 dilüsyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırılmasından sonra standart *S.aureus* ATCC 29213 suşu üzerindeki PAE değerleri 0.95-1.8 saat olarak belirlenmiştir. Klinik olarak cerahatten izole edilen Cerahat 1 ve Cerahat 2 *S.aureus* suşlarına karşı bu değerler sırasıyla 0.8-1.65 ile 0.9-1.55; boğaz salgısından izole edilen *S.aureus* suşuna karşı ise 0.9-1.6 saat olarak saptanmıştır.

Antibiyotik konsantrasyon artışına bağlı olarak PAE'de görülen kademeli artış arasındaki ilişkide cerahatten izole edilen *S.aureus* için r değerlerinin 0.75-0.81 arasında değiştiği, boğaz salgısından izole edilen *S.aureus* suşu için ise r değerinin 0.92 olduğu saptanmıştır. Buda bize boğaz salgısından izole edilen *S.aureus*'a karşı elde edilen PAE'deki artışın antibiyotik konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha anlamlı olduğunu göstermiştir.

Bulgularımızın Watanabe ve arkadaşlarının sonuçlarıyla, temas süresinin uzunluğu gözönünde bulundurulduğunda uygunluk gösterdiği görülmektedir. Ancak bulgularımızın Fernandes ve arkadaşlarının konuyla ilgili sonuçlarıyla uygunluk göstermediği tespit edilmiştir.

Postantibiyotik etkinin (PAE) mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen, bu fenomenin kültürdeki bakteri popülasyonunda daha yavaş çoğalan bakteri varyantlarına doğru bir değişme nedeniyle ortaya çıkmadığı, grafiklerde kontrol ve test eğrilerinin PAE sonrası fazda daima paralel gitmesiyle ortaya konulmuştur (4, 54, 5, 18). Çalışmamızda da bu durum gözlenmektedir. Mikroorganizmaların protein veya RNA sentezini inhibe eden herhangi bir antibiyotikle temas ettiğinde ana metabolizmaları için gerekli fonksiyonel proteinlerin azaldığı, PAE periyodunun ise bu proteinlerin yeniden sentezlenmesi periyodunu temsil ettiği bildirilmiştir (7).

Yapılan bir çalışmada *S.aureus*'un ince yapısının bir makrolid grubu antibiyotikle temasta bırakılması ve antibiyotiğin ortamdan uzaklaştırılmasından sonra özel bir teknikle transmisyon elektron mikroskopuyla incelenmesi sonucunda mikroorganizmanın dalgalı bir tabaka olan kalın bir hücre duvarı ve kalın bir ara duvarı olduğu görülmüştür. Büyüklükleri normal hücrelerin 1.5-2 katı olan bu hücrelerdeki ultra yapısal değişikliklerin eritromisin ve klaritromisin için 2 saat sürdüğü bildirilmiştir.

Makrolidlerin protein sentezini inhibe ettikleri ve böylece lineer duvar uzamasında inhibasyona neden oldukları bildirilmiş, normal bir hız da devam eden hücre duvarının kalınlaşması, stafilokokların hücre duvarının normalden daha kalın olması ile sonuçlanmıştır.

Çalışmada makrolidler gibi bakteriyostatik antibiyotiklerin otolitik enzimlerin üretimini inhibe ettikleri ve büyük hücrelerin ara duvarlarındaki otoliz inhibisyonunun antibiyotiksiz besiyerinde de devam etmesinin PAE fazında kalın ve çok sayıda ara duvarları olan büyük hücreler oluşmasına neden oldukları ortaya konulmuştur (55).

Makrolid grubu antibiyotiklerin in vitro aktiviteleri karşılaştırıldığında Klaritromisinin eritromisine kıyasla *Haemophilus* ve *Camphylobacter jejuni* dışında tüm mikroorganizmalara 2 yada 4 kat daha aktif olduğu; eritromisinin ise azitromisine kıyasla 2 kat daha fazla etkili olduğu bildirilmiştir.

Eritromisin ve azitromisin gibi makrolid grubu antibiyotiklerin *S.aureus* suşuna karşı 10xMİK gibi yüksek konsantrasyonlarda bakteriyostatik etkili olduğu gösterilmiştir (36, 14). Klaritromisin ve azitromisinin *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *Haemophilus influenza*, *B.catarrhalis* ve *Klebsiella* spp. gibi patojenler üzerindeki PAE'leri incelendiğinde azitro-

PAE oluşturduğu ortaya konulmuştur. Çalışmalarımız sonucunda da eritromisin ve klaritromisinin *S.aureus* suşları üzerinde azitromisine oranla daha uzun PAE gösterdiği tespit edilmiştir.

Antibiyotik ile tedavide önemli olan infeksiyon yerinde antibiyotiğin yeterli konsantrasyonunun devam ettirilmesidir. Antibiyotik uygulamalarında bir önceki dozun infeksiyon yerinde sağladığı antibiyotik konsantrasyonu MİK un altına düşmeyecek şekilde ikinci dozun verilmesi gerekliliği PAE'nin antibiyotiklerin aralıklı veya devamlı olarak dozajlandırılmalarında temel oluşturmaktadır.

Çalışmamızda *S.aureus* suşları üzerinde de post antibiyotik etki gösterdiğini tespit ettiğimiz eritromisin, azitromisin, klaritromisin gibi makrolid grubu antibiyotiklerle yapılan antibiyotik tedavilerinde aralık doz rejimlerinin uygulanabilirliği gösterilmiştir.

Ancak in vitro testler ile belirlenen PAE'nin hayvan deneyleriyle ve insan-klinik uygulamalarla desteklenmesi gerektiği kanısındayız.

SONUÇ

Eritromisin, azitromisin, klaritromisin gibi makrolid grubu antibiyotiklerin standart *S.aureus* ATCC 29213 ve klinik materyelden izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerine PAE gösterip göstermediklerinin araştırıldığı bu çalışmada, her üç antibiyotiğin de standart ve klinik materyelden izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerine PAE gösterdikleri, bu etkinin antibiyotik konsantrasyonu artışına bağlı olarak değiştiği saptanmıştır.

Standart *S.aureus* ATCC 29213 suşu ile ikisi cerahat biri boğaz salgısından izole edilmiş üç klinik suşun eritromisin, azitromisin ve klaritromisinin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK ve 10xMİK gibi farklı konsantrasyonları ile 1 saat temasta bırakılmasını takiben antibiyotikler dilüsyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra eritromisin için 0.9-2.1 saat, azitromisin için 0.55-1.7 saat, klaritromisin için ise 0.8-1.8 saat arasında değişen PAE değerleri elde edilmiştir. Çalışmamızda antibiyotik konsantrasyonunun artışına bağlı olarak PAE de görülen kademeli artış arasında anlamlı bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Eritromisin ve azitromisin için r değerleri 0.94-0.98, klaritromisin için ise 0.75-0.92 olarak saptanmıştır. Eritromisin ve azitromisinin standart ve klinik örneklerden izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerine olan PAE sinin konsantrasyon artışına bağlı olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Klaritromisinin ise cerahattan izole edilmiş *S.aureus* suşları üzerine olan PAE etkisinin konsantrasyon artışına bağlı olarak daha az anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Çalışmalarımız sonucunda eritromisin ve klaritromisinin *S.aureus* suşları üzerine azitromisine oranla daha uzun PAE gösterdiği saptanmıştır.

Antibiyotikle tedavide doz aralıklarının saptanmasında PAE nin önemli bir parametre olduğu düşünüldüğünde *S.aureus* suşları üzerine PAE etki gösterdiğini saptadığımız eritromisin, azitromisin ve klaritromisin gibi makrolid grubu antibiyotiklerle yapılacak antibiyotik tedavilerinde aralıklı doz rejimlerinin uygulanabilirliği gözönünde bulundurulmalıdır.

ÖZET

Bu çalışmada eritromisin, azitromisin ve klaritromisinin *S.aureus* ATCC 29213 standart suşu ile ikisi cerahatten, biri boğaz salgısından izole edilmiş *S.aureus* suşlarına karşı PAE'leri araştırılmıştır.

Bunun için her üç antibiyotiğin 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK ve 10xMİK konsantrasyonu ile suşlar 1 saat temasta bırakılmış, daha sonra antibiyotiğin etkisi dilüsyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırılmış ve canlı bakteri sayımı tekniği ile sayım yapılmıştır. Çalışmada kullanılan suşlar üzerine eritromisinin 0.9-2.1 saat, azitromisinin 0.55-1.7 saat, klaritromisinin 0.8-1.8 saat arasında değişen PAE gösterdiği saptanmıştır. PAE etkisinin antibiyotik konsantrasyonun artışıyla bağlantılı olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Eritromisin ve klaritromisinin *S.aureus* suşları üzerine azitromisine oranla daha uzun bir PAE gösterdiği saptanmıştır.

SUMMARY

In this study the PAE's of erythromycin, azithromycin and clarithromycin have been investigated against ATCC 29213 standard strain and three *S.aureus* strains two were isolated from pus and one from the throat secretion.

For this purpose the strains were exposed to antibiotics with 1xMİK, 2xMİK, 4xMİK and 10xMİK concentrations for 1 hour. The effect of antibiotic has been removed by means of dilution method and the number of viable bacteria was determined. The PAE's of erythromycin, azithromycin and clarithromycin on the strains tested were found as 0.9-2.1 hours, 0.55-1.7 hours and 0.8-1.8 hours respectively. On the other hand significant increase in PAE has been observed with the increase of antibiotic concentration. Erythromycin and clarithromycin showed longer PAE effect when compared with azithromycin.

KAYNAKLAR

1. Anderson R, Joone G, van Rensburg CEJ: An in-vitro evaluation of the cellular uptake and intraphagocytic bioactivity of clarithromycin (A-56268, TE-031), a new macrolide antimicrobial agent, *J Antimicrob Chemother* 22:923(1988).
2. Benson C, Segreti J, Kessler H: Comparative in vitro activity of A-5626 (TE-031) against Gram positive and Gram negative bacteria and *Chlamydia trachomatis*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 6:173 (1987).
3. Bergdoll MS, Crass BA, Reiser RF, Robbins RN, Davis JP: A new Staphylococcal enterotoxin, enterotoksin F, associated with toxic-shock-syndrome *Staphylococcus aureus* isolates, *lancet* 1:1017 (1981).
4. Bigger JW: The bactericidal action of Penicillin on *Staphylococcus pyogenes*, *Ir J Med Sci* 227:533 (1944).
5. Bundtzen RW, Gerber AV, Chon DL, Graig WA: Postantibiotic suppression of bacterial growth, *Rev Infect Dis* 3:28 (1981).
6. Chang JC, Hsueh PoR, Young C: In vitro postantibiotic effect of roxithromycin and erythromycin against gram-positive cocci, *Chin J Microbiol Immun* 25:276 (1992).
7. Craig WA, Gudmundson S: The postantibiotic effect: Lorian V, ed. *Antibiotics in laboratory medicine*. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins 515 (1984).
8. Çetin ET, Töreci K, Kasımoğlu Ö, Ağbaba Ö, Hepyüksel G: Hastane enfeksiyonlarına sebep olan bakteriler, *İst. Tıp Fak Mecm* 35:198 (1972).

9. Duckworth G and a combined working party of the hospital Infection society and british soceity for antimicrobial chemotherapy: Revised guidlines for the control of epidemic-methicillin resistant S.aureus, J Hosp Infect 16:351 (1990).
- 10.Eagle H, Musselman AD: The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin, J Bacteriol 58: 475 (1949).
- 11.Eagle H, Fleischman R, Musselman AD: The bactericidal action of penicillin in vivo: The participation of the host and the slow recovery of the surviving organisms, Ann Intern Med 33: 544 (1950).
- 12.Eraksoy H: Makrolidler: Eski ve yeni üyeler, Ankem Derg 5:284 (1991).
- 13.Fernandes P.B, Swanson RN, Hardy DJ, Mcdonald EJ, Ramer N: Effect of dosing intervals on efficacy of clarithromycin and erythromycin in mouse infection models, Drugs Exp.Clin Res 7:441 (1988).
- 14.Fernandes PB, Hardy DJ: Comparative in vitro potencies of nine new macrolides, Drugs Exp Clin Res 7:445 (1988).
- 15.Fiese EF, Steffen SH: Comparison of the acid stability of azithromycin and erythromycin A, J Antimicrob Chemother 25 (Suppl A):39 (1990).
- 16.Finch R: Skin and soft-tissue Infections, Lancet 1:164 (1988).
- 17.Floyd S, Hindler JA, Young LS : In vitro activity of 56268 (TE-031), a new macrolide antibiotic compared with that of erythromycin and other antimicrobial agents, Antimicrob Agents Chemother 31:640 (1987).
- 18.Gerber AU, Craig WA: Growth Kinetics of respiratory pathogens after short exposures to ampicillin and erythromycin in vitro, J Antimicrob Chemother 8 (Suppl C): 81 (1981).
- 19.Germeyan H: Ciprofloxacin'ın Klebsiella pneumoniae suşları üzerindeki post antibiyotik etkisinin (PAE) değişik in vitro koşullarda, çeşitli yöntemlerle araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul (1990).

20. Givner LB, Kaplan SL: Meningitis due to *Staphylococcus aureus* in children, *Clin Infect Dis* 16:766 (1993).
21. Goldstein FW, Emirian MF, Coutrot A, Acar JF: Bacteriostatic and bactericidal activity of azithromycin against *Haemophilus influenzae*, *J Antimicrob Chemother* 25 (suppl A):25 (1990).
22. Georgopapadakou NH, Liu FY: Penicillin-binding proteins in bacteria, *Antimicrob Agents Chemother* 18:148 (1980).
23. Kakegawa T, Hirose S: Mode of inhibition of protein synthesis by metabolites of clarithromycin, *Chemotherapy* 38: 317 (1990).
24. Kirst HA, Sides GD: New directions for macrolide antibiotics: Structural modifications and in vitro activity, *Antimicrob Agents Chemother* 33:1413 (1989).
25. Kirst HA, Sides GD: New directions for macrolide antibiotics: Pharmacokinetics and clinical efficacy, *Antimicrob Agents Chemother* 33:1419 (1989).
26. Kloos W.E, Jorgensen JH: *Staphylococci* "Lennette EH, ed in chief: Manual of clinical microbiology 4. baskı" kitabında s 143, American Society for Microbiology Washington, D.C (1986).
27. Kohno Y, Yoshida H, Suwa T, Suga T: Uptake of clarithromycin by rat lung cells *J Antimicrob Chemother* 26:503 (1990).
28. Kuenzi B, Segessenmann Ch, Gerber AU: Postantibiotic effect of roxithromycin, erythromycin and clindamycin against selected Gram-positive bacteria and *Haemophilus influenzae*, *J Antimicrob Chemother* 20 (suppl B):39 (1987).
29. Lacy RW: Antibiotic resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance, *Bact Rev* 39:1 (1975).
30. Lautenschlager S, Herzog C, Zimmerli W: Course and outcome of bacteremia due to *Staphylococcus aureus*: Evaluation of different clinical case definitions, *Clin Infect Dis* 16:567 (1993).

31. Ludlam HA, Young AE, Berry AJ, Philips I: The prevention of infection with *Staphylococcus aureus* in continuous ambulatory peritoneal dialysis, *J Hosp Infect* 14:293 (1989).
32. Maskell JP, Sefton AM, Williams JD: Comparative in vitro activity of azithromycin and erythromycin against Gram-positive cocci, *Haemophilus influenzae* and anaerobes *J Antimicrob Chemother* 25 (suppl A):19 (1990).
33. Mazzei T, Mini E, Novelli A, Periti P: Chemistry and mode of action of macrolides *J Antimicrob Chemother* 31(suppl C):1 (1993).
34. Mc Donald PJ, Wetherall BL, Pruell H: Postantibiotic leukocyte enhancement increased susceptibility of bacteria treated with antibiotics to activity of leukocytes *Rev Infect Dis* 3:38 (1981).
35. Meninger JR, Otto DP: Erythromycin, carbomycin and spiramycin inhibit protein synthesis by stimulating the dissociation of peptidyl-tRNA from ribosomes, *Antimicrob Agents Chemother* 21:811 (1982).
36. Minguez F, Ramos C, Loscos A, Chiu ML, Prieto J: In vitro killing kinetics and postantibiotic effect of josamycin and other macrolides on several bacteria, *Chemotherapy* 39:163 (1993).
37. Mitchell L. Cohen, M.D: *Staphylococcus aureus*: Biology, mechanisms of virulence, epidemiology, *J pediatrics* 108(2):796 (1986).
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards Methods for dilutions antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-third edition; approved standard. NCCLC document M7A3. NCCLC, Villanova, Pennsylvania, 1993.
39. Neu HC: The development of macrolides: clarithromycin in perspective, *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl A):1 (1991).
40. Neu HC, Chin NX, Saha G, Labthavikul P: Comparative in vitro activity of the new oral macrolide azithromycin, *Eur J Clin Microbial Infect Dis* 7:541 (1988).

41. Okubo T, Suzuki T, Fujita K, Iyobe S: Postantibiotic effects (PAE's) of macrolide antibiotics evaluated using bioscreen C method Japan journal antibiot 48:548 (1995).
42. Olsson B, Hoffman BM: In vitro activity of clarithromycin combined with its 4-hydroxy metabolite A-62671 against Haemophilus influenzae, J Antimicrob Chemother 27 (suppl A):11 (1991).
43. O'Sullivan N, Wise R: Macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics, Curr Op Infect Dis 3:743 (1990).
44. Parker RF, Luse S: The action of Penicillin on Staphylococcus: Further observations on the effect of a short exposure, J Bacteriol 56:75 (1948).
45. Peters DH, Clissold SP: Clarithromycin A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potential, Drugs 44:117 (1992).
46. Pruell H, Wetherall BL, Mc Donald PJ: Enhanced susceptibility of Escherichia coli to intracellular killing by human polymorphonuclear leukocytes after in vitro incubation with chloramphenicol Antimicrob Agents Chemother 19:945 (1981).
47. Retsema J, Girard A, Schelkly W, Manousos M, Anderson M, Bright G, Borovoy R, Brennan L, Mason R: Spectrum and mode of action of azithromycin (CP-62.993), a new 15-membered-ring macrolide with improved potency against Gram negative organisms, Antimicrob Agents Chemother 31:1939 (1987).
48. Sanderson PJ: Infection in orthopaedic implants, J Hosp Infect 18 (suppl A):367 (1991).
49. Sheagren JN: Staphylococcus aureus The persistent pathogen, N Engl J Med 310:1368 (1984).
50. Tally FP: Staphylococci: Abscesses and other diseases "M.Schaechter, G. Medoff, D Schlessinger: Mechanisms of microbial disease" kitabında s 195, Williams&Wilkins, Baltimore USA (1989).

51. Taylor GJS, Bannister GC, Calder S: Perioperative wound infection in elective orthopaedic surgery, *J Hosp Infect* 16:241 (1990).
52. Tejedor F, Ballesta JPG: Components of the macrolide binding site on the ribosome, *J Antimicrob Chemother* 16 (suppl A):53 (1985).
53. Varotto F, Garlaschi ML, Garlaschi MC, Falchi M, Scaglione F, Cattaneo G, Luca M, Fraschini F: In-vitro Postantibiotic effects of miocamycin and erythromycin on Gram-positive cocci, *J Chemotherapy* 2:355 (1990).
54. Vogelmann BS, Craig WA: Postantibiotic effects, *J Antimicrob Chemother* 15 (suppl A):37 (1985).
55. Watanabe T, Kanno M, Tejima E, Orikasa Y: Effects of macrolides on ultrastructure of *Staphylococcus aureus* during postantibiotic phase *Drugs Exp Clin Res* 18:81 (1992).
56. Webster C, Ghazanfar K, Slack R: Sub-inhibitory and post-antibiotic effects of spiramycin and erythromycin on *Staphylococcus aureus*, *J Antimicrob Chemother* 22 (suppl B): 33 (1988).
57. Weisblum B, Davies J: Antibiotic inhibitors of the bacterial ribosome, *Bacteriol Rev* 32:493 (1968).