

T.C.
Marmara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

3007

SULBAKTAM-AMPİSİLİN ÜZERİNDE
MİKROBİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Ecz.YÜCEHAN ÖZTÜRE

DANIŞMAN:

Doç.Dr.Candan Bozok Johansson
Marmara Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Y. G.
Yükseköğretim Kurumu
Dokümantasyon Merkezi

İstanbul - 1987

TEŞEKKÜR

Birlikte çalışmaya başladığımdan bugüne kadar devamlı destek ve ilgilerini gördüğüm, bilgi ve eleştirilerinden her an yararlandığım değerli hocam Sayın Doç.Dr.Candan Bozok Johansson'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında kullandığım bakteri suşlarının ve bu konudaki kaynakların temininde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof.Dr.Özdem Anđ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEORİK KISIM

GİRİŞ 1

Çalışmamızda Kullanılan Sulbaktam-Ampisilin
Hakkında Genel Bilgiler 6

DENEYSEL KISIM

GEREÇ VE YÖNTEMLER

1- GEREÇLER 11

Bakteriler 11

Besiyerleri 11

Antibiyotikler 11

Standart Diskler 12

Çözeltiler 12

Kullanılan Araç ve Aygıtlar 12

2- YÖNTEMLER 13

2.1. Sıvı Besiyerinde Dilüsyon Yöntemi 13

2.2. Diffüzyon Yöntemi 13

2.3. Antibiyotiğin Öldürme Zamanının Tayini 14

2.4. Bakteride β -laktamaz Tayini 14

BULGULAR 16

TARTIŞMA 22

ÖZET 29

SUMMARY 30

KAYNAKLAR 31

EK BÖLÜM

Tablolar 38

Şekiller 41

TEORİK KISIM

GİRİŞ

Penisilin'in klinikte kullanıma girişi olan 1941 yılından bu yana antibakteriyel aktiviteyi geliştirmek için devamlı araştırmalar yapılmış ve bu alanda son otuz yılda büyük başarılar elde edilmiştir. Bu arada mikroorganizmaların penisilin G'ye dirençleri hızla artmış ve direncin ilk şekli olarak penisilinazlar tanınmıştır. Penisilin'in tedaviye girişinden beş yıl gibi kısa bir süre sonra Staphylococcus aureus suşlarının % 75'i penisilinaz üretmeye başlamışlar ve tedaviye direnç göstermişlerdir. Bu direnç, ilki metisilin olan yarı sentetik penisilinlerin sentezi ve "birinci kuşak" sefalosporinler ile büyük ölçüde aldedilmiştir. Metisilinden sonra tedaviye giren ve β -laktamazı inhibe edici aktivitesi olan diğer penisilinler nafsilin ile oksasilin, kloksasilin, flukloksasilin ve dikloksasilin gibi izoksazozil penisilinlerdir. Bu bileşikler Gram negatif bakterilerin en dış tabakalarından kolayca geçemediklerinden ve penisilini bağlayan proteine ulaşamadıklarından Escherichia coli, Klebsiella ve Pseudomonas gibi bakterilere etkili olamamışlardır. Bu bakteriler 1960'lı yıllardan beri hastahane infeksiyonlarının başlıca etkenleri olmuşlardır.

Benzil penisilin'in hidrofilyk yan zincirinin α -karbonunun bir amino grubu ile süstitüsüyonu ile ampisilin elde edilmiştir. Geniş spektrumlu ilk penisilin olan ampisilin penisilin G'ye duyarlı bakterilere, E.coli'nin birçok suşuna, Salmonella, Shigella ve Proteus mirabilis'e etkili olduğu

halde Klebsiella, Enterobacter ve Proteus'un birçok suşuna karşı inaktif, Pseudomonas'a karşı da tamamen etkisizdi.

Benzil penisilinde yan zincirin α -karbonunun daha kuvvetli polar gruplarla süstitüsüyonu karbenisilin, tikarsilin gibi antipseudomonas ve antiproteus penisilinlerin sentezine yol açmıştır. Daha sonraki yıllarda üreido halkası taşıyan azlosilin, mezlosilin veya piperazin halkası taşıyan piperasilin, 1982'lerin sonunda da apalsilin tedavide Pseudomonas aeruginosa ve Proteus'a karşı yüksek aktiviteleri ile yer almışlardır.

Ne yazık ki bu geniş spektrumlu penisilinlere karşı da bakteri direnci ortaya çıkmıştır. Karbenisilin ve tikarsilin'e direnç, Pseudomonas infeksiyonlarının yaklaşık % 20'sinde görülmektedir(34).

Hastane infeksiyonlarına neden olan bakterilerden çoğunun, birçok antibiyotiğe dirençli olduğu bilinmektedir. Hastane infeksiyonlarında etken olarak en sık rastlanan bakteri Staphylococcus aureus'tur. Önceleri daha seyrek görülen Gram negatif çomakların etken olduğu hastane infeksiyonları da günümüzde ciddi bir durum oluşturmaktadır. Gram negatif çomaklardan günümüzde hastane infeksiyonlarına en sık neden olanlar P.aeruginosa, E.coli, Klebsiella, Proteus ve Salmonella cinsi bakterilerdir(9,10). 1946 yılında Japon araştırmacılar tarafından R faktörünün gösterilmesi, enterik bakterilerde antibiyotiğe direncin bulunması, böyle hastane infeksiyonu etkeni olan bakterilerin tedavisinde karşılaşılan güçlükler konusunda aydınlatıcı olmuştur(36). Özellikle hastane infeksiyonu etkeni olan bakterilerin R faktörleri aracılığı ile önceleri sülfonamid, streptomisin, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı kazandıkları direnç bu infeksiyonların tedavisinde çoğunlukla başarıyı engellemiştir. Daha sonraları ampisilin, kanamisin, neomisin'e karşı aynı başarısızlıkla karşılaşılmıştır(2,36). Önceleri birçok hatalığın tedavisinde

büyük bir başarı ile kullanılan penisilinin sık ve düzensiz kullanımı sonucu, 1958-1959 yıllarında izole edilen stafilkokların penisilinlere direnci % 78.6 iken bu oranın 1960 - 1961 yıllarında % 82, 1962-1963 yıllarında da % 85'e yükseldiği bildirilmiştir(11,12,13). Aynı yıllarda P.aeruginosa suşlarının % 100'e yakınının eritromisin, linkomisin, metasiklin ve metisiline dirençli olduğu; % 90'dan fazlasının da ampisiline dirençli olduğu bildirilmiştir(6). Klebsiella, Enterobacter ve Serratia gibi bakterilerde β -laktam grubu antibiyotiklere karşı % 60-90 oranında bir direnç olduğu bildirilmiştir(35). Son yıllardaki araştırmalarda Klebsiella pneumoniae'nin % 92'sinin, P.aeruginosanın % 99'unun, E.coli suşlarının da % 80'inin ampisiline dirençli olduğu gösterilmiştir(24).

Akman'ın Ankara'da 40.000 Enterobacteriaceae suşu ile yaptığı bir çalışmaya göre 1972-1977 arasındaki 5 yıllık sürede ampisiline direnç gösteren E.coli suşlarının oranı 1972'de % 55 iken 1977'de % 93'e yükselmiştir. Aynı şekilde direnç gösteren Proteus cinsi suşların oranı % 62'den % 97'ye, Salmonella cinsi suşların oranı % 42'den % 80'e yükselmiştir. Pseudomonas aeruginosaya karşı da 1977 yılında % 99 direnç görülmüştür(1).

1976-1977 yıllarında İstanbul'da yapılan benzer bir çalışmada E.coli suşlarının % 93'ü, Proteus cinsi suşların % 95'i, Salmonella (S.typhi dışında) cinsi suşların % 99'u, Pseudomonas cinsi suşların da % 99'u ampisiline dirençli bulunmuştur(38).

Görüldüğü gibi, uzun süre sık kullanılan ampisilin gibi antibiyotiklere dirençli suş oranı 1972'de % 50'yi aşmış ve 5 yıl sonra su oranı % 90'ları bulmuştur.

Geliştirilmiş β -laktamaz stabilitesine sahip kuvvetli antibiyotiklerin üretilmesine karşın dirençli mikroorganizma-

larla olan infeksiyonlar artmaya devam etmektedir. Son yıllarda β -laktamaza bağılı bakteri direnci sorununa yeni bir çözüm ortaya konmuştur. Burada doğal antibakteriyel aktivitesi olmayan irreversibl bir β -laktamaz inhibitörü penisilin tipi bir antibiyotikle kombine edilmekte ve bunun enzimatik inaktivasyonunu önleyerek antibiyotiğin antibakteriyel aktivitesini korumaktadır.

Sulbaktam ve klavulanik asit bakteri direncine karşı bu yeni yaklaşım örnekleridir. İdeal bir β -laktamaz inhibitöründe aranan birtakım özellikler vardır:

- β -laktamazlara karşı geniş bir aktivite alanı olmalıdır.
- β -laktamazlar için spesifik olmalı, memelilerin enzimlerini, peptidaz'ları etkilememelidir.
- Ya kompetitif inhibitör, ya da irreversibl inaktivatör olarak etki göstermelidir.
- Eğer β -laktamaz periplazmik alanda lokalize olmuşsa buna ulaşabilmek için bakterinin dış duvarından penetre olabilmelidir.
- Sulu çözeltide dayanıklı olmalıdır.
- Labil penisilin ve sefolosporinlerin tahribine neden olmamalıdır.
- Antibiyotikle beraber toksitesi minimum olmalıdır. İnsanlarda ulaşılabilir konsantrasyonlarda aktivite göstermelidir.
- Yan etkileri sınırlı olmalıdır.
- Antibiyotiğine benzer bir farmakokinetik profili olmalıdır.
- Antibiyotikle fizikokimyasal uyum içinde olmalıdır(23,42).

İnhibitörler kompetitif olup olmadıklarına ve β -laktamaz ile reaksiyonlarının irreversibl olup olmamasına göre sınıflandırılırlar.

Kompetitif inhibitörler bağlanma yerlerine göre tanımlanırlar. Eğer reaksiyon reversibl ise enzim üzerinde reaktif bölgeye bağlanarak reversibl bir kompleks oluştururlar ve bu da ortamda fazla substrat mevcut olduğunda enzimin serbest bırakılmasına yol açar.

Non-kompetitif inhibitörlerin substrattan daha farklı bir bölgede enzime bağlandığı düşünülmektedir. Ancak burada da reaksiyon reversibldir ve sonunda β -laktamazın rejenerasyonuna yol açar.

İrreversibl inhibisyon üç tip inhibitör tarafından gerçekleştirilir. Bunlardan ilki, enzimdeki reaktif aminoasit bölgelerine kovalan bağlanan aminoasit modifiye edicilerdir (Ör.: p-chloromercuribenzoate). Bu faaliyet enzimi irreversibl olarak inaktive eder ve rejenerasyonu önler. Her ne kadar aminoasit modifiye ediciler klinik olarak önemli değilse de, β -laktamazları sınıflandırmak için kullanılmışlardır.

İkinci tip irreversibl inhibisyonu aktif-bölgeye yönelik inhibitörler oluştururlar. Bunlar yapısal olarak bir β -laktam bileşimini andırmakla birlikte reaktivitesi çok yüksek bir bölüme sahiptirler ki, bu, enzim üzerindeki aktif bölgeyle inhibitör arasındaki ilk reversibl bağlantıdan sonra faaliyete başlar. İnhibitörün bu reaktif bölümü, bundan sonra enzimin aktif bölgesine kovalan bağlanır ve onu inaktif kılar ve bu ikinci reaksiyonun irreversibl enzim rejenerasyonunu önler.

Üçüncü tip irreversibl inhibitöre "intihar" inhibitörü adı verilir. Bu tür inhibisyonda, intihar inhibitörü kompe-

titif olarak β -laktamaza bağlanarak, normalde β -laktam antibiyotik tarafından tutulması gereken bölgeyi işgal eder(21).

Ancak molekülün zayıf substrat özelliği taşıması dolayısıyla intihar inhibitörünün hidrolizi engellenir. Böylece inhibitörün kovalan bağlanan reaktivitesi yüksek komponentlere bölünmesi ile sonuçlanan daha avantajlı bir reaksiyon yolu izlenmiş olur. Hem enzim, hem de intihar inhibitörü irreversibl olarak imha olmuşlardır(7,33,45). Sulbaktam kendi kendini tahrip eden böyle inhibitörlere örnektir; β -laktamazları inaktif proteinlere indirgeme yolu ile etki gösterir ve böylece substrat penisilini hidrolizden korur. Şekil la'da bu inhibisyon şematik olarak görülmektedir.

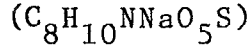
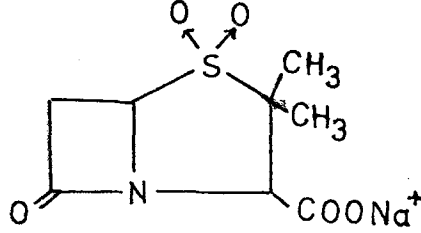
İntihar inhibitörlerinin özellikleri:

- İnhibitörler aktif bölgeye yönelmişlerdir. Bu bileşikler hedefleri için son derece özgündürler ve toksik değildirler. Enzimleri adım adım inaktive ederler. Bu faz zamana bağımlıdır.
- İnaktivasyon genellikle irreversibldir ve inhibitörün farmakokinetiğine bağlı olarak inhibitörün konsantrasyonu azalsa bile etki devam eder.
- İnaktive olmuş enzim içeren Protein kompleksi, 1 mol enzim ve 1 mol inhibitörden oluşmuştur. Sonuçta bu inhibitörler düşük konsantrasyonda da aktiftirler(22).

SULBAKTAM-AMPİSİLİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Deneylerimizde kullanılan Sulbaktam-ampisilin, 1 kısım sulbaktam Na ve 2 kısım ampisilin Na'dan oluşmuş, β -laktamaz inhibitörü taşıyan penisilin sınıfı bir antibiyotiktir. Formüle giren sulbaktam Na ve ampisilin Na'un kimyasal yapıları, kapalı formülleri ve molekül ağırlıkları aşağıdadır:

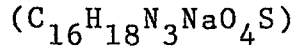
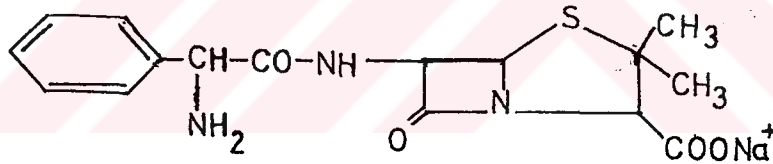
SULBAKTAM Na



Molekül ağırlığı: 255.22

Sodium (2S, 5R)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo
(3.2.0) heptane-2-carboxylate-4,4-dioxide

AMPİSİLİN Na



Molekül ağırlığı: 371.39

Monosodium (2S, 5R, 5R) 6 |(R)-2-amino-2-Phenylacetamido|
-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo|3.2.0|Heptane-2-
carboxylate

Sulbaktam-ampisilin suda kolay çözünen, beyaz, kristalle bir tozdur. Bu kombinasyonda bakterisit elemanı ampisilindir. Sulbaktam Na, Neisseriaceae'ye olan etkisi dışında herhangi bir antibakteriyel aktiviteye sahip değildir. Penisiline dirençli bakterilerin oluşturduğu çeşitli β-laktamaz-

ları irreversibl olarak inhibe eder.

Sulbaktam-ampisilin klinik önemi olan birçok Gram pozitif ve Gram negatif aerop ve anaerop mikroorganizmaya etkilidir. Başta stafilokoklar ve streptokoklar (ampisiline dirençli suşlar ve enterokoklar dahil) olmak üzere Gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde yüksek bir aktivitesi vardır.

Gram negatif patojenlerin Sulbaktam-ampisilin'e duyarlılıkları farklılık gösterir. Haemophilus influenzae, indol negatif Proteus, N.gonorrhoeae ve Acinetobacter'in ampisilin'e dirençli suşları sulbaktam-ampisiline duyarlıdırlar. Klebsiella pneumoniae ve ampisilin'e duyarlı E.coli üzerinde de etkisi fazladır. Sulbaktam-ampisilin, Enterobacter aerogenes, E.cloacae, indol pozitif Proteus, Serratia, Providencia ve ampisilin'e dirençli E.coli karşısında orta derecede duyarlıdır. P.aeruginosa ise sulbaktam-ampisiline dirençlidir. Anaeroplardan B.fragilis, B.melaninogenicus ve diğer bacteroides türleri, Clostridium perfringens ve Clostridium türleri, Gram pozitif anaerop çomaklar ve koklar yüksek düzeyde duyarlıdırlar. Fusobacterium türleri ise dirençlidir.

Sulbaktam-ampisilin'in bu antibakteriyel etki tablosuna bağlı olarak etkili olduğu hastalıkların da geniş bir alan kapladığı görülmektedir. Sulbaktam-ampisilin Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae'nin duyarlı suşlarının yol açtığı üst solunum yolu infeksiyonlarında;

H.influenzae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Branhamella catarrhalis ve Klebsiella pneumoniae'nin duyarlı suşlarının yol açtığı alt solunum yolu infeksiyonlarında;

S.aureus, S.epidermidis, E.coli, Klebsiella türleri (K.pneumoniae dahil), proteus türleri (indol pozitif ve indol negatif), Bacteroides türleri (B.fragilis dahil olmak üzere), Enterobacter türleri (E.aerogenes dahil olmak üzere) ve Morganella morgani'nin duyarlı suşlarının yol açtığı deri ve yumuşak doku infeksiyonlarında;

E.coli, Klebsiella türleri (K.pneumoniae dahil) ve proteus türleri (indol pozitif ve indol negatif) nin duyarlı suşlarının yol açtığı idrar yolları infeksiyonlarında;

E.coli, Klebsiella türleri (K.pneumoniae dahil olmak üzere), Bacteroides türleri (B.fragilis dahil olmak üzere), Enterobacter türleri (E.aerogenes dahil olmak üzere), Peptococcus türleri (P.aerogenes dahil olmak üzere), Staphylococcus türleri (S.aureus dahil), S.epidermidis ve streptococcus türleri (S.pyogenes dahil)'nin duyarlı suşlarının yol açtığı intra-abdominal infeksiyonlarda;

E.coli, Bacteroides türleri (B.fragilis dahil), Peptococcus türleri (P.aerogenes dahil), Klebsiella türleri (K.pneumoniae dahil), Enterobacter türleri (E.aerogenes dahil) ve Streptococcus türleri (S.pyogenes dahil olmak üzere)'nin duyarlı suşlarının yol açtığı jinekolojik infeksiyonlarda;

E.coli ve Staphylococcus türleri (S.aureus dahil olmak üzere)'nin duyarlı suşlarının yol açtığı bakteriyel septisemilerde;

S.aureus'un duyarlı suşlarının yol açtığı kemik ve eklem infeksiyonlarında;

H.influenzae'nin duyarlı suşlarının yol açtığı merkezi sinir sistemi infeksiyonlarında;

Neisseria gonorrhoeae'nin duyarlı suşlarının yol açtığı gonokok infeksiyonlarında; ampisiline duyarlı mikroorganizmaların ve β -laktamaz üreten mikroorganizmaların neden olduğu mikst enfeksiyonlar için sulbaktam-ampisilin tedavisinin uygun olduğu ve başka bir antibiyotik ilavesine gerek olmadığı bildirilmektedir(3,5,8,15,16,20,26,29,30,32).

Sulbaktam-ampisilin im ve iv yollardan verildiğinde hemen bütün vücut sıvı ve dokularına süratle yayılır. Beyin omurilik sıvısına geçişi zayıftır. Damar içi ve kas içi uygulamayı takiben kanda sulbaktam ve ampisilin yüksek konsantrasyonları oluşur ve her iki maddenin yarı ömrü yaklaşık bir saattir. 24 saatte üriner yoldan atılma oranı Sulbaktam için % 85.15, ampisilin için % 83.2'dir. Her ikisi de periton sıvısına % 92'nin üzerinde penetere olurlar(44). Sağlıklı erkek gönüllülerde 1 g ampisilin ve 0.5 g sulbaktamın intramüsküler uygulaması sonucunda sırasıyla 18 mcg/ml ve 13 mcg/ml'lik zirve konsantrasyonları elde edilmiştir.

2 g ampisilin ve 1 g sulbaktamın intravenöz uygulamasından sonra elde edilen en yüksek serum konsantrasyonları sırasıyla 124 mcg/ml ve 68 mcg/ml'dir(17).

DENEYSEL KISIM GEREÇ VE YÖNTEMLER

1- GEREÇLER

Bakteriler

İn vitro dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri ile antibiyotiklerin antibakteriyel etkilerinin araştırılmasına İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gelen idrar, cerahat, boğaz salgısı, periton sıvısı, beyin-omurilik sıvısı, balgam, üretra salgısı gibi muayene örneklerinden etken olarak izole edilen 59 Pseudomonas aeruginosa, 40 Escherichia coli, 40 Proteus cinsi, 40 Klebsiella cinsi, 10 Salmonella cinsi ve 40 Staphylococcus aureus suşu olmak üzere toplam 229 bakteri suşu kullanılmıştır.

Besiyerleri

İn vitro dilüsyon ve diffüzyon yöntemlerinde ve antibiyotiklerin öldürme zamanı tayininde Müeller-Hinton buyyonu (Oxoid) ve Müeller-Hinton agarı (Oxoid) kullanılmıştır.

Antibiyotikler

Aktivitesi 913 mcg/mg olan sulbaktam-ampisilin Pfizer İlaç Fabrikasından, aktivitesi 914 mcg/mg olan ampisilin Na, Mustafa Nevzat İlaç Fabrikasından sağlanmıştır.

Antibiyotik stok çözeltileri steril damıtık su ile hazırlanmış ve +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Standart Diskler

Sulbaktam-ampisilin'in 20 mcg'lık diskleri (10 mcg sulbaktam +10 mcg ampisilin) (Oxoid lot 24643 EXP) kullanılmıştır.

Çözeltiler

1 N NaOH (USP XX)
pH 6 Fosfat tamponu (USP XX)
% 0.5 Fenol kırmızısı çözeltisi
% 1'lik Nişasta çözeltisi
% 1'lik İyot çözeltisi

Kullanılan Araç ve Aygıtlar

Mettler H 72 hassas terazi
KB 600 Heareus marka etüv
SD 505 Aseptia marka otoklav
KS tipi Ender Marka Pasteur Fırını
Su banyosu (Köttermann)
Mitutoya saatli kompas
Buzdolabı (AEG Marka)
Pipetler: 1 cm³ (Witeg), 5 cm³, 10 cm³ (opticolor)
Petri kutuları
Girdap karıştırıcı (Elektro mag)
Pipettör (Oxford)

2- YÖNTEMLER

2.1. Sıvı Besiyerinde Dilüsyon Yöntemi

BİR seri aglütinasyon tüpüne otomatik pipettör yardımı ile serinin ilk tüpü boş kalmak üzere 0.5'er ml besiyeri dağıtılmış, sonra 1. ve 2. tüplere dereceli 1 ml'lik pipet ile 1000 mcg/ml konsantrasyondaki antibiyotik çözeltisinden 0.5'er ml konmuştur. 1 ml'lik pipetle ikinci tüpten itibaren 0.5 ml alınarak seri dilüsyon yöntemine göre antibiyotik çözeltisi birer kat sulandırılmıştır. Son tüpe antibiyotik çözeltisi konmamış ve kontrol olarak bırakılmıştır. Bakterilerin 18-24 saatlik kültürleri 1000 kez sulandırıldıktan sonra antibiyotik çözeltisinin birer misli sulandırıldığı tüplere 0.5 ml miktarlarda ilâve edilmiştir. 37°C'lik etüvde 18 saatlik inkübasyondan sonra tüplerdeki bulanıklıklar gözle incelenmiştir. Bulanıklık görülmeyen tüpteki antibiyotik miktarı, yani üremeyi inhibe eden en az miktar "Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MIC)" olarak alınmıştır.

2.2. Diffüzyon Yöntemi

9 cm çapında Petri kutularına 100°C'de eritilmiş ve 56°C'ye soğutulmuş katı besiyerinden 15'er ml konmuştur. Besiyerleri donduktan ve yüzeyleri 37°C'lik etüvde kurutulduktan sonra bakterinin sıvı besiyerindeki bir gecelik kültürü 100 kez sulandırıldıktan sonra Pastör pipeti ile Petri kutusundaki katı besiyerine yayılmış, fazlası çekildikten sonra besiyeri yüzeyi kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan yüzeye bir standart disk yerleştirilmiştir. Petri kutuları etüvde bir gece bekletildikten sonra disklerin etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları saatli kompas yardımıyla ölçülmüş ve mm cinsinden kaydedilmiştir. Değerlendirme şu şekilde yapılmıştır: Sulbaktam-ampisilin için ≤ 11 mm çapında zon verenler dirençli, 12-13 mm çapında zon verenler orta derecede duyarlı, ≥ 14 mm çapında zon verenler duyarlı olarak kabul edilmiş-

tir(25,27).

İn vitro dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri arasındaki ilgi için serpilme diyagramları çizilmiş, korelasyon katsayıları hesaplanmış ve anlamlılık testi olarak da bağımsızlık testi kullanılarak P değerleri hesaplanmıştır(39).

2.3. Antibiyotigin Öldürme Zamanının Tayini

Antibiyotigin öldürme zamanı tayininde her gruptan birer bakteri seçilerek canlı sayım ile öldürücü etkileri karşılaştırmalı olarak saptanmıştır. Bunun için tüplerdeki besiyerlerine minimal inhibitör konsantrasyonlarının katları alınarak hesaplanan konsantrasyonlardaki antibiyotikler ilâve edilmiştir. Bu karışıma bir gecelik bakteri kültürü, tüplerdeki son konsantrasyon 10^6 bakteri/ml olacak şekilde sulandırdıktan sonra eklenmiştir.

Bu tüpler 37°C su banyosuna konarak 1-2-4-7-24 saatlik inkübasyon sürelerinden sonra tüplerdeki karışımlar katı besiyerleri ile karıştırılarak Petri kutularına dökülmüş ve bir gece etüvde bekletildikten sonra canlı bakteri sayımı yapılarak grafik çizilmiştir.

2.4. Bakterilerde β -laktamaz Tayini

2.4.a. Bakteride β -laktamaz Tayini İçin Asidometrik Yöntem

1 gr fenol kırmızısı 30 ml 0.1 N NaOH içinde çözülmüş, distile su ile 200 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece hazırlanan % 0.5'lik fenol kırmızısı çözeltisinden 2 ml alınarak 16.6 ml steril distile suya konmuştur. Bu çözeltinin içine 20 milyon ünite Penisilin G potasyum tartılarak konmuş, çözeltinin pH'sı 1 N NaOH çözeltisi ile 8.5'a ayarlanmıştır.

Bu çözeltilerden 0.1 ml alınarak küçük test tüplerine aktarılmış, bakterinin saf kültüründen öze ile alınarak ilave edilmiş ve yoğun, bulanık bir süspansiyon elde edilmiştir.

β -laktamaz üreten kültürlerde çözeltilerin sarı renge döndüğü gözlenmiştir. Birçok durumda 1 dakika içinde sarı renk oluşurken stafilokoklar'da renk değişimi 1 saat içinde olabilmektedir. β -laktamaz üretmeyen kültürlerde renk kırmızı kalmıştır(37).

2.4.b. Bakteride β -laktamaz Tayini İçin İyodometrik Yöntem

Penisilin G potasyumun 6000 mcg/ml konsantrasyonda bir çözeltisi pH 6 Fosfat tamponunda hazırlanmıştır. Diğer yandan 1 gr nişasta 100 ml distile suda çözülerek % 1'lik nişasta çözeltisi ve 2.03 gram iyot ve 53.2 gram Potasyum iyodürün 100 ml distile suda çözünmesi ile iyot çözeltisi hazırlanmıştır.

Penisilin çözeltilerinden 0.1 ml küçük tüplere konmuş, bakterinin 18-24 saatlik saf kültüründen öze ile alınarak, bu çözelti içinde yoğun, bulanık bir süspansiyon hazırlanmıştır. 30 saniye karıştırılmış, β -laktamazın penisilini parçalayarak penisiloin aside dönüştürmesi için oda sıcaklığında bir saat süreyle karıştırıp, bekletilmiştir. Bir saat sonunda bakteri-penisilin süspansiyonu üzerine 2 damla nişasta çözeltisi damlatılıp, karıştırılmış, daha sonra buna bir Pastör pipeti ile 1 damla iyot çözeltisi ilâve edilmiştir.

Çözelti iyotla nişastanın tepkimesi sonucu birden mavileşecektir. 1 dakika daha karıştırıldıktan sonra çözeltilerde hızlı bir renksizleşme β -laktamaz üretildiğini gösterir. Eğer çözelti 10 dakikadan daha uzun bir süre mavi kalırsa kültür enzimi üretmiyor demektir(37).

B U L G U L A R

Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin'e karşı denenen tüm suşların, dilüsyon yöntemine göre saptanan MIC'ları ve kümülatif yüzdeleri Tablo 1'de, diffüzyon yöntemine göre alınan sonuçlar Tablo 2'de, β -laktamaz yapan suşlar da Tablo 3'de verilmiştir.

59 *Pseudomonas aeruginosa* suşu karşısında sulbaktam-ampisilin'in MIC'ları 0.65 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 18.6'sı 83.2 mcg/ml, % 6.7'si 20.8 mcg/ml, % 5.08'i 10.4 mcg/ml, % 3.38'i 5.2 mcg/ml, % 1.69'u 0.65 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 2). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 5.1'i duyarlı, % 1.7'si orta derecede duyarlı, % 93.2'si dirençli bulunmuştur (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 3'de görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.86$; $P < 0.001$).

Ampisilin'in 59 *P.aeruginosa* suşu karşısında MIC'ları 0.97 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların 5.8'i 125 mcg/ml, % 3.38'i 62.5 mcg/ml, % 1.69'u 0.97 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 2).

Sulbaktam-ampisilin'in 40 *Proteus* cinsi suş karşısında MIC'ları 5.2 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değişmektedir

Suşların % 62.5'u 83.2 mcg/ml, % 50'si 41.6 mcg/ml, % 42.5'u 20.8 mcg/ml, % 25'i 10.4 mcg/ml, % 2.5'u 5.2 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 4). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 32.5'u duyarlı, % 32.5'u orta derecede duyarlı, % 35'i dirençli bulunmuştur (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 5'de görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.72$; $P < 0.001$).

Ampisilin'in 40 Proteus cinsi suş karşısında MIC'leri 15.6 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 20'si 62.5 mcg/ml, % 10'u 31.2 mcg/ml, % 2.5'u 15.6 mcg/ml ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 4).

Sulbaktam-ampisilin'in 40 Klebsiella cinsi suş karşısında MIC'leri 5.2 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 37.5'u 83.2 mcg/ml, % 32.5'u 41.6 mcg/ml, % 17.5'u 10.4 mcg/ml, % 7.5'u 5.2 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 6). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 20'si duyarlı, % 20'si orta derecede duyarlı, % 60'i dirençli bulunmuştur (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 7'de görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.75$; $P < 0.001$).

Ampisilin'in 40 Klebsiella cinsi suş karşısında MIC'leri 62.5 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 20'si 125 mcg/ml, % 10'u 62.5 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 6).

Sulbaktam-ampisilin'in 40 Escherichia coli suşu karşısında MIC'leri 1.3 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 87.5'u 83.2 mcg/ml, % 82.5'u 41.6 mcg/ml, % 72.5'u 20.8 mcg/ml, % 60'ı 10.4 mcg/ml, % 40'ı 5.2

mcg/ml, % 22.5'u 2.6 mcg/ml, % 7.5'u 1.3 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 8). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 80'i duyarlı, % 10'u orta derecede duyarlı, % 10'u ise dirençli bulunmuşlardır (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 9'da görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.77$; $P < 0.001$).

Ampisilin'in 40 E.coli suşu karşısında MIC'leri 1.95 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 47.5'u 125 mcg/ml, % 40'ı 62.5 mcg/ml, % 35'i 31.2 mcg/ml, % 32.5'u 15.6 mcg/ml, % 20'si 7.8 mcg/ml, % 17.5'u 3.9 mcg/ml, % 10'u 1.95 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 9).

Sulbaktam-ampisilin'in 40 Staphylococcus aureus suşu karşısında MIC'leri 0.65 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 95'i 10.4 mcg/ml, % 92.5'u 5.2 mcg/ml, % 85'i 2.6 mcg/ml, % 52.5'u 1.3 mcg/ml, % 27.5'u 0.65 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 10). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 95'i duyarlı, % 2.5'u orta derecede duyarlı, % 2.5'u dirençli bulunmuştur (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 11'de görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.70$; $P < 0.001$).

Ampisilin'in 40 S. aureus suşu karşısında MIC'leri 1.95 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 72.2'si 62.5 mcg/ml, % 67.5'u 31.2 mcg/ml, % 60'ı 15.6 mcg/ml, % 50'si 7.8 mcg/ml, % 35'i 3.9 mcg/ml, % 22.5'u 1.95 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 10).

Sulbaktam-ampisilin'in 10 Salmonella cinsi suş karşısında MIC'leri 41.6 mcg/ml ile ≥ 166.4 mcg/ml arasında değiş-

mektedir. Suşların % 50'si 83.2 mcg/ml, % 10'u 41.6 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 12). Diffüzyon yönteminde ise suşların % 20'si duyarlı, % 80'i orta derecede duyarlı bulunmuştur (Tablo 2). Dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri sonuçlarına göre çizilen serpilme diyagramı Şekil 13'de görülmektedir. Bu iki yöntem arasındaki ilgi anlamlı bulunmuştur ($r = -0.70$; $0.01 < P < 0.02$).

Ampicilin'in 10 *Salmonella* cinsi suş karşısında MIC'ları 125 mcg/ml ile ≥ 250 mcg/ml arasında değişmektedir. Suşların % 50'si 125 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır (Tablo 1; Şekil 12).

Her gruptan birer bakteri seçilerek yapılan antibiyotiklerin öldürme zamanı tayininde; *Pseudomonas aeruginosa* 3932 suşu, sulbaktam-ampisilin'in 41.6 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile 2 saatlik sürede öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 2500 mcg/ml konsantrasyonda 4 saat sonunda bakteriyi öldürmüştür (Şekil 14).

Proteus mirabilis 922 suşu, sulbaktam-ampisilin'in 41.6 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile 4 saatlik sürede öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 125 mcg/ml konsantrasyonda 7 saatlik süre sonunda bakteriyi öldürmüştür (Şekil 15).

Klebsiella pneumoniae B suşu, sulbaktam-ampisilin'in 20.8 mcg/ml konsantrasyonu ile 2 saatlik sürede öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 625 mcg/ml'lik konsantrasyonda 4 saat sonunda bakteriyi öldürmüştür (Şekil 16).

Escherichia coli 3329 suşu, sulbaktam-ampisilin'in 10.4 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile 7 saatlik süre sonunda öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 7.8 mcg/ml konsantrasyonda 24 saat sonunda bakteriyi öldürmüştür (Şekil 17).

Staphylococcus aureus 7807 suşu, sulbaktam-ampisilin'in 10.4 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile 2 saatlik süre sonunda öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 625 mcg/ml konsantrasyonda 7 saat sonunda bakteriyi öldürmüştür (Şekil 18).

Salmonella typhi murium 3 suşu, sulbaktam-ampisilin'in 1666 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile 7 saatlik süre sonunda öldürülmüştür. Ampisilin Na ise 2500 mcg/ml konsantrasyonda 24 saatlik süre sonunda aynı bakteri suşunu öldürmüştür (Şekil 19).

12 *P.aeruginosa* suşundan 2'si β -laktamaz üretmiştir. Her ikisi de ampisilin Na'a dirençlidir. Bu suşlardan, sulbaktam-ampisilin'e 1'i dirençli, 1'i duyarlıdır. Suşların her ikisi de ampisiline Na'a dirençlidir. *P.aeruginosa* suşlarından 10'u ise β -laktamaz üretmemiştir. Bu 10 suşun 9'u sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'a dirençli, 1'i ise her iki antibiyotiğe duyarlı bulunmuştur (Tablo 3).

15 *Proteus* cinsi suştan 6'sı β -laktamaz üretmiştir. Bu suşlardan, sulbaktam-ampisilin'e 4'ü duyarlı 2'si dirençlidir. Suşların 6'sı da ampisilin Na'a dirençlidir. *Proteus* cinsi suşlardan 9'u β -laktamaz üretmemiştir. Bu 9 suşun 2'si sulbaktam-ampisilin'e duyarlı, 7'si dirençlidir. Ampisilin Na'a ise 9 suş da dirençlidir (Tablo 3).

15 *Klebsiella* cinsi suştan 9'u β -laktamaz üretmiştir. Bu suşlardan 3'ü sulbaktam-ampisilin'e duyarlı, 6'sı dirençlidir. Ampisilin Na'a ise bu 9 suşun hepsi dirençlidir. *Klebsiella* cinsi suşlardan 6'sı β -laktamaz üretmemiştir. Bu 6 suşun 4'ü sulbaktam-ampisilin'e duyarlı 2'si dirençlidir. Ampisilin Na'a ise 6 suş da dirençlidir (Tablo 3).

26 *E.coli* suşundan 14'ü β -laktamaz üretmiştir. Bu suşlardan 10'u sulbaktam-ampisilin'e duyarlı, 4'ü dirençlidir. Suşların 14'ü de ampisilin Na'a dirençlidir. *E.coli* suşlarının

dan 12'si ise β -laktamaz üretmemiştir. Bu 12 suşun 7'si sulbaktam-ampisilin'e duyarlı, 5'i dirençlidir. Ampisilin Na'a ise 2 suş duyarlı, 10 suş dirençlidir (Tablo 3).

16 S.aureus suşundan 12'si β -laktamaz üretmiştir. Bu suşlardan 10'u sulbaktam-ampisilin'e duyarlı 2'si dirençlidir. Suşların 12'si de ampisilin Na'a dirençlidir. S.aureus suşlarından 4'ü ise β -laktamaz üretmemiştir. Bu 4 suşun tamamı sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'a duyarlıdır (Tablo 3).

10 Salmonella cinsi suştan 8'i β -laktamaz üretmiştir. Bu 8 suşun tamamı sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'a dirençlidir. Salmonella cinsi suşlardan 2'si ise β -laktamaz üretmemiştir. Her iki suş da sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'a dirençlidir (Tablo 3).

TARTIŞMA

Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakası hücre duvarının yüzeyinde olduğundan Gram pozitif bakteriler için β -laktam antibiyotiklerin hedefe ulaşmasında önemli bir engel bulunmaz. Gram pozitif bakterilerin peptidoglikan örgüsü molekül ağırlığı 100.000 dalton kadar olan moleküller için geçirgendir. Molekül ağırlıkları 300-700 dalton arasında değişen β -laktam antibiyotikler bu tabakadan çok daha kolay diffüze olur(28). Bu nedenle sefalosporinlerin Gram pozitif bakterilere etkisinde bu antibiyotiklerin PBP'lere bağlanma afinitesi ve bakterinin oluşturduğu β -laktamazlara direnci rol oynar. Gram negatif bakteri hücre duvarında ise peptidoglikan tabakası üzerinde lipoprotein, iki tabakalı lipit ve en dışta da lipopolisakkarit tabakaları vardır. Ortamdaki moleküller bu dış tabakadaki porin denilen kanallardan geçerek periplazmik mesafeye ve peptidoglikan tabakaya ve onun altındaki sitoplazma zarının dış yüzünde bulunan PBP'lere erişirler. Gram negatif bakterilerin hücre duvarının dış tabakasının geçirgenliği β -laktam antibiyotigin çeşidine ve bakteriye göre değişir. Bu geçişin sürati ilacın periplazmik mesafedeki penisilinazlarla tahrip olmadan peptidoglikan tabakaya ulaşması yüzünden önemlidir. Özellikle Serratia ve Pseudomonas cinslerinde porinlerin yapısı ve dolayısı ile dış tabakanın ilaca geçirgenliği değişmiş mutantların üçüncü jenerasyon sefalosporinlere dirençli olabildikleri ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere de çapraz direnç gösterdikleri bildirilmiştir(41).

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde, β -laktam antibiyotikler PBP'e bağlanarak etkilerini gösterirler. Bu proteinlerin antibiyotiğe duyarlılığının değişmesi bakteride direnç artışına neden olur. Bakterilerde peptidoglikan sentezinde rol alan çeşitli PBP'ler vardır ve çeşitli β -laktam antibiyotiklerin bunlara duyarlılığı farklıdır. Bu proteinlerinde değişiklik olan mutant bakteriler ilacın etkisine belli bir oranda direnç gösterirler.

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin birçoğunda bulunan β -laktamaz enzimleri, β -laktam antibiyotiklerin β -laktam halkasını hidrolize ederek onları tesirsiz maddelere dönüştürebilir. Bakterilerin oluşturduğu β -laktamaz enzimi bakteri kromozomu veya bir plazmit tarafından kodlanabilir. β -laktamaz enziminin hidrolitik etkisi bir seri reaksiyonu içerir. Bu reaksiyonlar sonucu β -laktam antibiyotik inaktive olur ve enzim rejenere olur. β -laktamazlar sert, sınırlı bir yapıya sahip değıllerdir. Esnek bir yapıları vardır. İlk kademede bir reversibl enzim substrat kompleksinin oluşumudur, bunu asillenmiş enzimin meydana gelişi izler. Son irreversibl kademe ise hidroliz olmuş inaktif substratın açığa çıkması ve tam enzimin rejenerasyonudur.

Gram pozitif bakterilerin oluşturduğu β -laktamazlar ekzo enzimlerdir. Beta-laktam antibiyotikleri peptidoglikan tabakasına difüze olmadan ortamda hidrolize ederler. Gram negatif bakterilerin oluşturdukları β -laktamazlar ise periplazmik mesafede yer alır ve etki gösterirler. Bakteri kromozomu tarafından kodlanan (genetik şifresi bakteri kromozomunda bulunan) β -laktamazlar penisilinleri hidrolize eden penisilinaz sefalosporinleri hidrolize eden sefalosporinaz ya da her iki grup β -laktam antibiyotiğı hidrolize eden geniş spektrumlu β -laktamaz enzimlerdir. Bunlar genellikle konstitütif enzimlerdir ve ortamda β -laktam antibiyotik bulunmadığında da sentez edilirler. Ancak bazı Enterobacteriaceae cinslerinde (Enterobacter, Serratia, Providencia) ve Pseudo-

monas cinsinde indüklenebilen sefalosporinazlar bulunur. Bunlar bakteri tarafından ortamda sefalosporin bulunduğunda sentez edilmeye başlarlar(28). Bu indüklenebilen sefalosporinazlar birçok birinci ve ikinci jenerasyon sefalosporinleri hidrolize edebilirler ve bakteriyi çok yüksek konsantrasyondaki ilaca dirençli kılabilirler. Son bulgular Gram negatif bakterilerde kromozom tarafından kodlanan beta-laktamazların çok fazla miktarda sentez edildiğinde, ilacı hidrolize ederek değil fakat bloke ederek, üçüncü jenerasyon sefalosporinlere de direnç sağlayabileceğini göstermiştir(41). Fazla miktarda sentez edilen enzim ilaçla birleşir, onu hidrolize etmediği halde PBP'e ulaşmasını ve peptidoglikan sentezini durdurmasını engeller ve bakteri yeterli konsantrasyonda ilaç bulunduğu halde üremesine devam eder (Şekil 1b).

Plazmit (R faktörleri) tarafından kodlanan β -laktamazlar özellikle Gram negatif bakterilerde geniş spektrumludur. Enterobacteriaceae ailesindeki bakterilerde bugüne kadar plazmit tarafından kodlanan bir düzineden fazla β -laktamaz tesbit edilmiştir (TEM-1, TEM-2, TEM-3, OXA-2, OXA-3, SHV, SHV-1, HMS-1, PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE-4)(23,28). Enterobacteriaceae suşlarındaki β -laktamazların % 75'ini oluşturan TEM-1 en sık rastlanan β -laktamazdır ve H.influenzae, H.gonorrhoeae, P.aeruginosa gibi Enterobacteriaceae dışındaki bakterilerde de bulunur. PSE olarak adlandırılan 4 β -laktamaz P.aeruginosa suşlarından elde edilmiştir ve bugün numara sırasına göre, CARB-2, OXA-4, CARB-3, CARB-1 olarak adlandırılmaktadır.

β -laktamazlara bağlı direncin klinik infeksiyonlarda gittikçe artması ve bu direnç gelişmesini önlemek için başvuru geleneksel yaklaşımların başarısızlığı bu sorunu çözmek için yeni yöntemlere gereksinim olduğunu ortaya koymuştur. Dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyonları kontrol altına almak için ya β -laktamaza dayanıklı antibiyotikler üretme ya da β -laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesi yoluna

gidilmiştir. Sulbaktam intihar tipi β -laktamaz inhibitörlerindendir ve beraberce verildiği β -laktam antibiyotikleri enzimatik hidrolizden korur.

İn vitro duyarlılık çalışmaları sulbaktamın, daha önce dirençli bulunan birçok mikroorganizmaya karşı β -laktam grubu antibiyotiklerin minimal inhibitör konsantrasyonlarını düşürdüğünü göstermiştir. Sulbaktam, duyarlı mikroorganizmalara karşı β -laktam antibiyotiğin antimikrobik etkisini antagonize etmemektedir. Ampisiline dirençli bakterilerle yapılan in vitro çalışmalar ampisilinle kombine edilen sulbaktamın metisiline dirençli *S.aureus*, *H.influenzae*, *N.gonorrhoeae* ve *B.fragilis*'e karşı tamamiyle etkili olduğunu göstermiştir.

Sulbaktam ve ampisilinin 1:1; 1:2; 2:1; 1:8; 8:1 gibi oranları, değişik çalışmalarda kullanılmış ve antibakteriyel etkide önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir(15,30). Çalışmamızda kullanılan sulbaktam-ampisilin'in oranı 1:2'dir.

Çalışmamızda 59 *P.aeruginosa* suşunun yaklaşık % 5'i sulbaktam-ampisilinin 10.4 mcg/ml'lik konsantrasyonlarında inhibe olmuşlardır. Diffüzyon yönteminde ise suşların % 3'ü duyarlı olarak bulunmuştur. 59 suşun % 2'si ise ampisilinin 0.97 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile inhibe olmuştur. Çetin ve arkadaşları, English ve arkadaşları, Grimm ve diğer araştırmacıların sonuçları ile bulgularımız benzerlik göstermektedir(14, 15,16,19).

40 *Proteus* cinsi suşun yaklaşık % 25'i sulbaktam-ampisilinin 10.4 mcg/ml konsantrasyonu ile inhibe olmuştur. Diffüzyon yönteminde ise suşların % 32.5'i duyarlı olarak bulunmuştur. 40 suşun % 2.5'i ampisilinin 15.6 mcg/ml'lik konsantrasyonu ile inhibe olmuştur. Çetin ve arkadaşları, English ve arkadaşları, Greenwood ve Eley, Grimm'in sonuçları ile bulgularımız benzerlik göstermektedir(14,16,18,19). Pitts ve arkadaşları 35 *Proteus* cinsi suştan 11'ini sulbaktam-ampisiline

dirençli bulmuşlardır. Duyarlı suşların % 50'sini inhibe eden konsantrasyonun 2 mcg/ml, % 90'nını inhibe eden konsantrasyonun 8 mcg/ml olduğu bildirilmiştir(30). Indol pozitif 29 Proteus cinsi suş ile yapılan diğer bir çalışmada sulbaktam-ampisilinin etki alanının MIC değerlerinin 1 mcg/ml ile 256 mcg/ml arasında değiştiği; bu suşların % 50'sini inhibe eden konsantrasyonun 5 mcg/ml, % 90'nını inhibe eden konsantrasyonun 185 mcg/ml olduğu bildirilmiştir. Aynı suşlar için ampisilinin etki alanının MIC değerlerinin 16 mcg/ml ile >512 mcg/ml'lik konsantrasyonlar arasında değiştiği ve suşların % 50'sini inhibe eden konsantrasyonun 250 mcg/ml, % 90'nını inhibe eden konsantrasyonun >512 mcg/ml olduğu bildirilmiştir(15,31,32,43).

Çalışmamızda ise Proteus cinsi suşların MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri sıra ile 41.6 mcg/ml ve \geq 166.4 mcg/ml'dir.

40 Klebsiella cinsi suşun yaklaşık % 18'i sulbaktam-ampisilinin 10.4 mcg/ml'lik konsantrasyonları ile inhibe olmuşlardır. Diffüzyon yönteminde ise suşların % 20'si duyarlı olarak bulunmuştur. 40 Klebsiella cinsi suşun tamamı ampisiline dirençlidir. Grimm, 20 Klebsiella cinsi suşun 4'ünü sulbaktam-ampisiline dirençli, 15'ini ise orta derecede duyarlı bulmuştur(19). Çetin ve arkadaşlarının sonuçları ile bulgularımız benzerlik göstermektedir(14). Pitts ve arkadaşları 51 Klebsiella cinsi suşun 36'sını sulbaktam-ampisiline dirençli bulmuşlardır(30). Retsema ve arkadaşları 94 Klebsiella cinsi suşun % 50'sini inhibe eden sulbaktam-ampisilin konsantrasyonunun 4 mcg/ml, % 90'nını inhibe eden konsantrasyonunda 281 mcg/ml olduğunu, aynı suşlar için ampisilinin MIC₅₀'sinin 63 mcg/ml, MIC₉₀'nının 335 mcg/ml olduğunu bildirmişlerdir(31, 32). English ve arkadaşları, Wise ve arkadaşları 110 Klebsiella suşu ile yaptıkları çalışmada, ampisiline dirençli bu suşların sulbaktam-ampisilinin 0.5 mcg/ml ile >512 mcg/ml arasındaki konsantrasyonları ile inhibe edildiklerini, MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerlerinin sıra ile 4 mcg/ml ve 28 mcg/ml olduğunu

bildirmişlerdir(16,43).

Çalışmamızda ise Klebsiella cinsi suşların MIC₅₀'si 83.2 mcg/ml ile 166.4 mcg/ml arasında MIC₉₀'ünü ≥ 166 mcg/ml'dir.

40 E.coli suşunun % 60'ı 10.4 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonu ile inhibe olmuşlardır. Diffüzyon yönteminde ise suşların % 80'i duyarlı bulunmuştur. 40 E.coli suşunun % 33'ü 15.6 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonu ile inhibe olmuştur. Çetin ve arkadaşları, English ve arkadaşları, Greenwood ve Eley, Grimm, Retsema ve arkadaşlarının sonuçları ile bulgularımız benzerlik göstermektedir(14,16,19, 18,31,32).

40 S.aureus suşunun yaklaşık % 95'i 10.4 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonu ile inhibe olmuşlardır. Diffüzyon yönteminde ise suşların % 95'i duyarlı olarak görülmüştür. Bu 40 suşun % 60'ı 15.6 mcg/ml'lik ampisilin konsantrasyonu ile inhibe olmuşlardır. Barry ve arkadaşları, Çetin ve arkadaşları, English ve arkadaşları, Greenwood ve Eley, Pitts ve arkadaşları, Retsema ve arkadaşlarının sonuçları ile bulgularımız benzerlik göstermektedir(4,14,16,18,30, 31,32).

10 Salmonella cinsi suşun % 20'si diffüzyon yönteminde Sulbaktam-ampisiline duyarlı bulunmuştur. Tüpte dilüsyon yönteminde ise suşların tamamı sulbaktam-ampisilin ve ampisiline direnç göstermişlerdir. Literatürlerde bu suşlarla yapılmış fazla çalışma yoktur. English ve arkadaşları 1 Salmonella suşu ile yaptıkları çalışmada bu suşun sulbaktam-ampisiline duyarlı olduğunu bulmuşlardır(16). Aswapokee ve Neu 2 Salmonella suşunun 25 mcg/ml'lik sulbaktam-ampisilin konsantrasyonu ile inhibe olduğunu bildirmişlerdir(3).

β -laktamaz yapan ve ampisiline dirençli 51 suşun 28'i sulbaktam-ampisiline duyarlı olduğu halde 23'ü sulbaktam-ampisiline direnç göstermiştir. Bu bulgular göstermektedir ki, bu suşlar sulbaktam-ampisiline β -laktamaza bağlı dirençten farklı mekanizmalarla bir direnç oluşturmaktadır.

Sonuç olarak S.aureus ve E.coli suşları dışında diğer Gram negatif suşlar üzerinde sulbaktam-ampisilin ampisiline belirgin bir üstünlüğü görülmemiştir. Hastanelerimizde, antibiyotiklere çoğul dirençli suşların, tedavide güçlükler yaratmaya devam edeceği görülmektedir.



Ö Z E T

Bu çalışmada çeşitli muayene maddelerinden etken olarak izole edilmiş *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* cinsi olmak üzere toplam 229 suşa karşı sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un antibakteriyel etkileri dilüsyon ve diffüzyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Minimal inhibitör konsantrasyonlar Mueller-Hinton buyyon ve agarı kullanılarak tayin edilmiştir.

P.aeruginosa suşlarının % 5'i, *E.coli* suşlarının % 60'ı, *S.aureus* suşlarının % 95'i, *Klebsiella* cinsi suşların % 18'i, *Proteus* cinsi suşların % 25'i sulbaktam-ampisiline duyarlı, *Salmonella* cinsi suşların tamamı ise sulbaktam-ampisiline dirençli bulunmuştur.

Sulbaktam-ampisilinin ve ampisilinin öldürme zamanları karşılaştırmalı olarak her cinsten birer suş üzerinde araştırılmıştır.

6 bakteri cinsinden 94 suşun 51'i β -laktamaz üretmiştir.

S U M M A R Y

In this study the antibacterial activity of sulbactam-ampicillin and ampicillin sodium were investigated against totally 229 strains belonging to *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Salmonella* groups isolated as causative agents from various clinical materials. Tube dilution and agar diffusion methods were employed to test the antibacterial activities. Minimal inhibitory concentrations were determined in Mueller Hinton broth and agar media.

The percentage of strains susceptible to sulbactam - ampicillin, respectively, were: *P.aeruginosa* 5%; *E.coli* 60%, *S.aureus* 95%; *Klebsiella* spp 18%; and *Proteus* spp 25%, whereas *Salmonella* strains were all resistant to this combination.

Killing curves of sulbactam-ampicillin and ampicillin were compared against given strains from each genera.

It was observed that 94 strains belonging to 6 bacterial genera, 51 of them produced β -lactamase.

KAYNAKLAR

- 1- Akman M: Antibiyotiklere dirençli enterik bakteri suşlarının artışı ve (R) faktörleri, 18. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Rapor ve Ana Konuları, s.61 (1978).
- 2- Anđ Ö, Töreci K: Bazı bakterilerin gentamisine hassasiyetleri, İst Tıp Fak Mecm 31:656 (1968).
- 3- Aswapokee N, and Neu HC: Sulphone β -lactam compounds which acts as a β -lactamase inhibitor, J Antibiot 31:1238 (1978).
- 4- Barry LA, Jones NR, Tornsberry C: Interpretive standards and quality control limits for susceptibility test with ampicilin sulbactam combination disks, J Clin Microb 19:134 (1984).
- 5- Black JR, Sparling PF: Neisseria gonorrhoea in Mandell GL, Douglas RG Jr, Bennet JE (eds): Principles and practice of Infectious Diseases, ed 2 New York, John Wiley & Sons, pp.1195-1205 (1985).
- 6- Bozok C: Antibiyotikler arası ilgilerin (Sinergist, antagonist, additif, indefferens) in vitro deneylerle araştırılması, Doktora tezi, Matematik Araştırma Enstitüsü, İstanbul (1971).

- 7- Bush K, Sykes RB: β -lactamase inhibitors in perspective, J Antimicrob Chemother 11:97 (1983).
- 8- Chin NX, Neu HC: Abstracts of 7th International Symposium on Future Trends in Chemotherapy, Tirrenia, Pisa, p.116 (1986).
- 9- Çetin ET: Antibiyotiklere dirençli bakterilerin çoğalması, Türk Bioloji Derg 10:49 (1960).
- 10- Çetin ET (ed): Hastane infeksiyonu (Nosocomial infection) Semineri Kitabı, İst Tıp Fak Mecm, Çeliker Matbaacılık Sanayi ve Ticaret Kollektif Şirketi, 41:Suppl 75 (1978).
- 11- Çetin ET, Ang Ö, Kasımoğlu Ö, Ersoy M, Gence H: State of susceptibility to antibiyotics of 832 bacterial strains isolated in Istanbul 1960-61, Pathol Microbiol 27:54 (1964).
- 12- Çetin ET, Ang Ö, Töreci K: 1958-1959 senelerinde izole ettiğimiz 405 bakteri suşunun antibiyotiklere ve Furadantine hassasiyetlerinin denenmesi, İst Tıp Fak Mecm 23: 143 (1960).
- 13- Çetin ET, Ang Ö, Töreci K, Gence H, Kadısoy N: 1962-1963 yıllarında izole ettiğimiz 1284 bakteri suşunun antibiyotiklere hassasiyeti, İst Tıp Fak Mecm 27:254 (1964).
- 14- Çetin ET, Töreci K, Badur S, Erdeniz H: Muayene maddelerinden izole edilen bakterilerin bazı aminoglikozid, sefalosporin, penisilin grubu antibiyotiklere, β -laktam inhibitörleri ile birlikte kullanılan penisilinlere ve ofloksasin'e duyarlılıkları, Ankem Dergisi 1:131 (1987).
- 15- Data On File, Pfizer International, (1984).

- 16- English AR, Retsema JA, Girard AE, et al: Cp-45, 899, a β -lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of β -lactams: Initial bacteriological characterization, *Antimicrob Agents Chemother* 14:414 (1978).
- 17- Foulds G, Stanekwich JP, Knirsch AK, et al: The Pharmacokinetics of sulbactam and ampicillin in normal subjects, *Proceedings of the 13th International Congress of Chemotherapy, Vienna, Part 23:12* (1983).
- 18- Greenwood D, Eley A: In vitro evaluation of sulbactam, a penicillanic acid sulphone with β -lactamase inhibitory properties, *J Antimicrob Chemother* 10:117 (1982).
- 19- Grimm H: The in vitro activity of sulbactam/ampicillin. *Proceedings of the 13th International Congress of Chemotherapy, Vienna p.19,24* (1983).
- 20- Güneren MF, et al: Clinical experience with sulbactam/ampicillin IM in the outpatient treatment of various infections. Results of a multicenter trial. Abstracts of the Seminar of Sulbactam/ampicillin in Clinical Practice Munich (January/1987).
- 21- Labia R, Greenwood D, Sabath DL, Sanders CC: Experience with antibiotic resistance: roundtable discussion, *Therapeutic Conferences Advanced Therapeutic Communications, Inc p.35* (1984).
- 22- Labia R, Lelievre V, Morand A, Mationi D, Kazmierczak A: Concept of β -lactamase inhibition: Role of sulbactam, *Mini Press, p.13* (1985).
- 23- Laden SK, Hamilton CW, Romankiewicz JA, Acar JF: Overview of antimicrobial agent resistance: Editor Acar JF; *Therapeutic Conferences, Advanced Therapeutics Communications Inc, p.7* (1985).

- 24- Langmack H: Prevalance of drug resistance of bacteria (1975-1978); results of an international study. Proceedings of the 11th International Congress of Chemotherapy and 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemother Boston, (October/1979).
- 25- Lennette E (ed): Manual of Clinical Microbiology, Washington DC (1980).
- 26- Mehtar S, Crofts RJ: A study of parenteral ampicilin and sulbactam in clinical infection. Proceedings of the 13th International Congress of Chemotherapy Vienna, p.55-62 (1983).
- 27- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 'Performance Standards for antimicrobial disc susceptibility test'. Order code M 2-T 3 ISSNO 3:273 (1983).
- 28- Neu HC: Relation of structural properties of β -lactam antibiotics on antibacterial activity, Am J Med 79:2 (1985) Supp 2A.
- 29- Pitts NE, et al: β -lactamase blocking agents, 14th International Congress of Chemotherapy Kyoto, Japan (1985).
- 30- Pitts NE, Knirsch AK, Leesl L, et al: Experience with sulbactam/ampisilin. Proceeding of the 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto Japan (June/1985).
- 31- Retsema JA, English AR, Girard AE: Cp-45, 899 in combination with penicilin or ampicilin against penicilin - resistant Staphylococcus, H.influenzae and Bacteroides. Antimicrob Agents Chemother 17:615 (1980).

- 32- Retsema JA, English AR, Girard AE, et al: Sulbactam and ampicilin; Sinergistic antibacterial activity against hospital isolates of Enterobacteriaceae, methicillin resistant Staphylococcus and anaerobes. Proceedings of the 13th International Congress of Chemotherapy. Vienna p.1-5 (Aug/1983).
- 33- Richmond MH: The β -lactamase stability of a novel β -lactam antibiyotic containing a 7-methoxyoxacephem nucleus, J Antimicrob Chemother 6:445 (1980).
- 34- Sanders CC: Novel resistance selected by the new expanded-spectrum Cephalosporins: a concern, J Infect Dis 147:585 (1983).
- 35- Schassan HH: Die antimikrobielle Wirksamkeit von sisomicin II. Untersuchungen zum synergismus von sisomicin Und β -lactam antibiotika, Infection 4:324 (1976) Suppl 4.
- 36- Smith DH: R factors for aminoglycoside antibiyotics, J Infect Dis 119:378 (1969).
- 37- Thornsberry C: Rapid laboratory tests for β -lactamase production by bacteria. Center for infectious diseases centers for diseases Control, Atlanta p.27 (1977).
- 38- Töreci K, Çetin ET, Anđ Ö, Kasımoğlu Ö: 1976-1977 yıllarında muayene maddelerinden izole edilen 11385 bakteri suşunun kemoterapötiklere duyarlılıkları, 18 Türk Mikrobiyoloji Kongresi Rapor ve Ana Konuları, s.70 (1978).
- 39- Velicangil S: Bıyoloji, Tıp ve eczacılık bilimlerinde istatistik metodları, Sermet Matbaası, İstanbul (1975).

- 40- Watson AW, Errick KJ, Russo J, Lode H: Overview chemotherapy of infectious disease, Therapeutic Conferences, Advanced Therapeutic Communications Inc., p.3 (1986).
- 41- Williamson R: Experience with β -lactamase inhibitors: Overview of antimicrobial agent resistance, "JF Acar (ed): β -lactamase inhibition: Pharmacology, Antimicrobial Activity and Pharmacokinetics" Advanced Therapeutics Communication, p.40 (1985).
- 42- Wise R: β -lactamase inhibitors, J Antimicrob Chemother 9:41 (1982) Suppl B.
- 43- Wise R, Andrews JM, Bedford KA: Clavulanic acid and Cp-45, 899; a comparison of their in vitro activity in combination with penicillins, J Antimicrob Chemother 6:197 (1980).
- 44- Wise R, Andrews JM, Hancox J: Comparative Pharmacokinetic and tissue penetration of sulbactam and ampicillin after concurrent intravenous administration, Antimicrob Agents Chemother 21:565 (1982).
- 45- Yokota T, Azuma E: Biochemical aspects of bacterial resistance to new β -lactam drug non-hydrolysable by β -lactamase in. Mitsuhashi A, Rosival L, Krcmery V (eds): Antibiotic resistance; transposition and other mechanism. Praque, Avicenum pp.333-337 (1980).



EK BÖLÜM

TABLO 1- Sıvı besiyerinde sulandırma yöntemi ile sulbaktam-ampisilin ve Ampisilin Na'nun 229 bakteri suşu üzerindeki antibakteriyel etkileri

Bakteriler	Minimal İnhibitör Konsantrasyonlar - MIC (mcg/ml)									
	Antibiyotikler	1.3	2.6	5.2	10.4	20.8	41.6	83.2	≥166.4	
Pseudomonas aeruginosa (59 suş)	Sulbaktam-ampisilin Ampisilin Na	1.95	3.9	7.8	15.6	31.25	62.5	125	≥250	
		1 (1.69) ³		1 (3.38)	1 (5.08)	1 (6.7)	1 (3.38)	7 (18.6)	48 (100)	
Proteus cinsi (40 suş)	Sulbaktam-ampisilin Ampisilin Na			1 (2.5)	9 (25)	7 (42.5)	3 (50)	5 (62.5)	15 (100)	
				1 (2.5)	1 (2.5)	3 (10)	4 (20)	5 (62.5)	32 (100)	
Klebsiella cinsi (40 suş)	Sulbaktam ampisilin Ampisilin Na			3 (7.5)	4 (17.5)		6 (32.5)	2 (37.5)	25 (100)	
							4 (10)	4 (20)	32 (100)	
E.coli (40 suş)	Sulbaktam-ampisilin Ampisilin Na	3 (7.5)	6 (22.5)	7 (40)	8 (60)	5 (72.5)	4 (82.5)	2 (87.5)	5 (100)	
		4 (10)	3 (17.5)	3 (20)	3 (32.5)	1 (35)	2 (40)	3 (47.5)	21 (100)	
S.aureus (40 suş)	Sulbaktam-ampisilin Ampisilin Na	10 (52.5)	12 (85)	4 (92.5)	1 (95)		2 (72.2)		2 (100)	
		9 (22.5)	5 (35)	6 (50)	4 (60)	3 (67.5)			11 (100)	
Salmonella cinsi (10 suş)	Sulbaktam-ampisilin Ampisilin Na						1 (10)	4 (50)	5 (100)	
								5 (50)	5 (100)	

¹SAM = Sulbaktam-ampisilin

²AMP = Ampisilin Na

³Sayılar inhibe olan suşları, parantez içindeki değerler inhibe olan suşların kümülatif yüzdelerini göstermektedir.

TABLO 2- Agarda diffüzyon yöntemi ile sulbaktam-ampisilinin denenen suşlar üzerindeki antibakteriyel etkileri

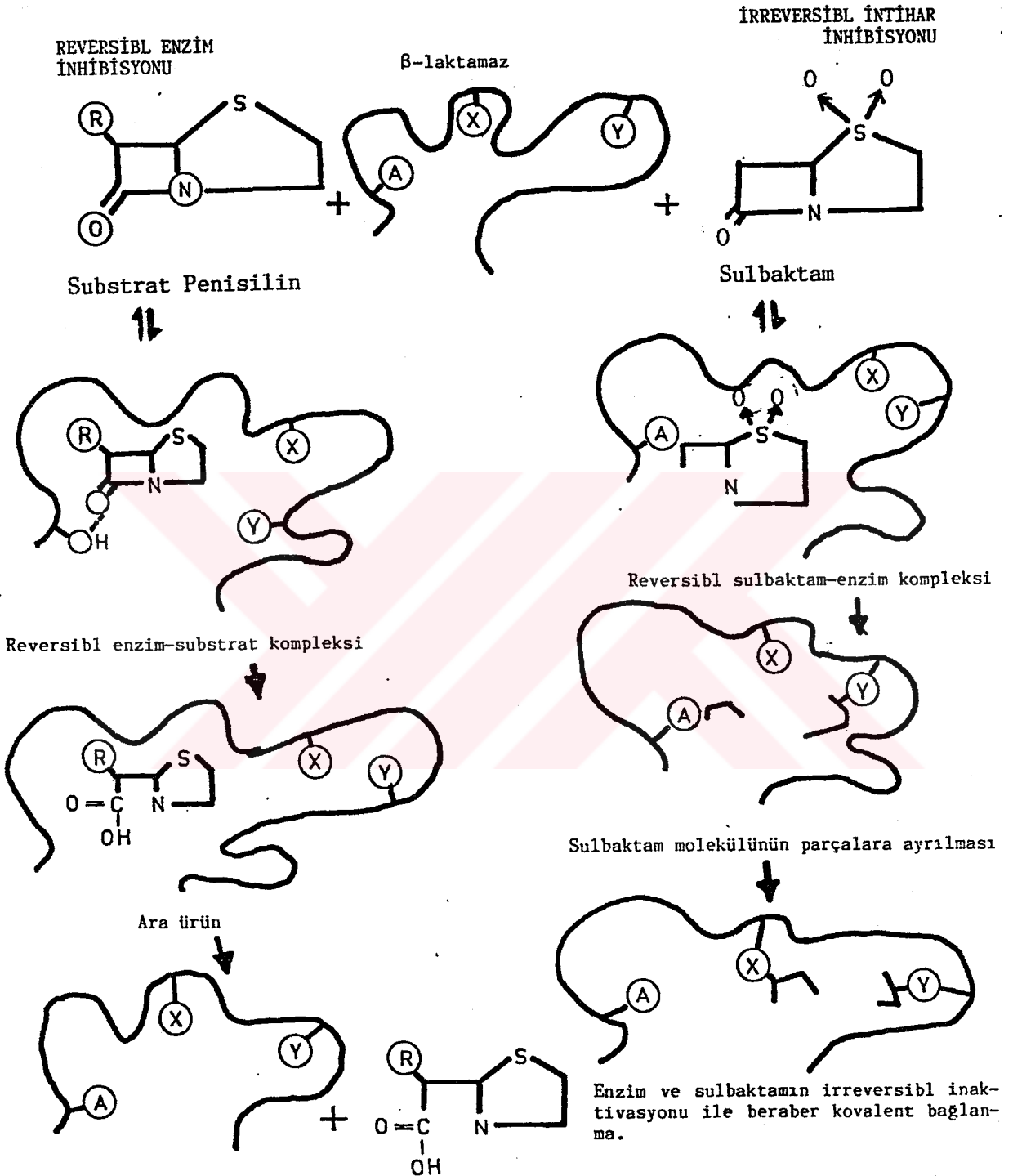
Bakteriler	<u>Inhibisyon Zonlarının Çapları (mm)</u>		
	<u>≤11 mm</u>	<u>12-13</u>	<u>≥14</u>
P.aeruginosa (59 suş)	55 (93.2) ¹	1 (1.7)	3 (5.1)
Proteus cinsi (40 suş)	14 (35)	13 (32.5)	13 (32.5)
Klebsiella cinsi (40 suş)	24 (60)	8 (20)	8 (20)
E.coli (40 suş)	4 (10)	4 (10)	32 (80)
S.aureus (40 suş)	1 (2.5)	1 (2.5)	38 (95)
Salmonella cinsi (10 suş)	-	8 (80)	2 (20)

¹Sonuçlar inhibe olan suşların sayısını, parantez içindeki değerler de inhibisyon yüzdelerini göstermektedir.

TABLO 3- 6 bakteri cinsinden 94 suşun asidometrik ve iyodometrik yöntemlerle β-laktamaz üretme yetenekleri¹

Bakteriler	β-laktamaz Yapan				β-laktamaz Yapmayan			
	Sulbaktam-ampisilin		Ampisilin Na		Sulbaktam-ampisilin		Ampisilin Na	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
P.aeruginosa (12 suş)	1	1	-	2	1	9	1	9
Proteus cinsi (15 suş)	4	2	-	6	2	7	-	9
Klebsiella cinsi (15 suş)	3	6	-	9	4	2	-	6
E.coli (26 suş)	10	4	-	14	7	5	2	10
S.aureus (16 suş)	10	2	-	12	4	-	4	-
Salmonella cinsi (10 suş)	-	8	-	8	-	2	-	2

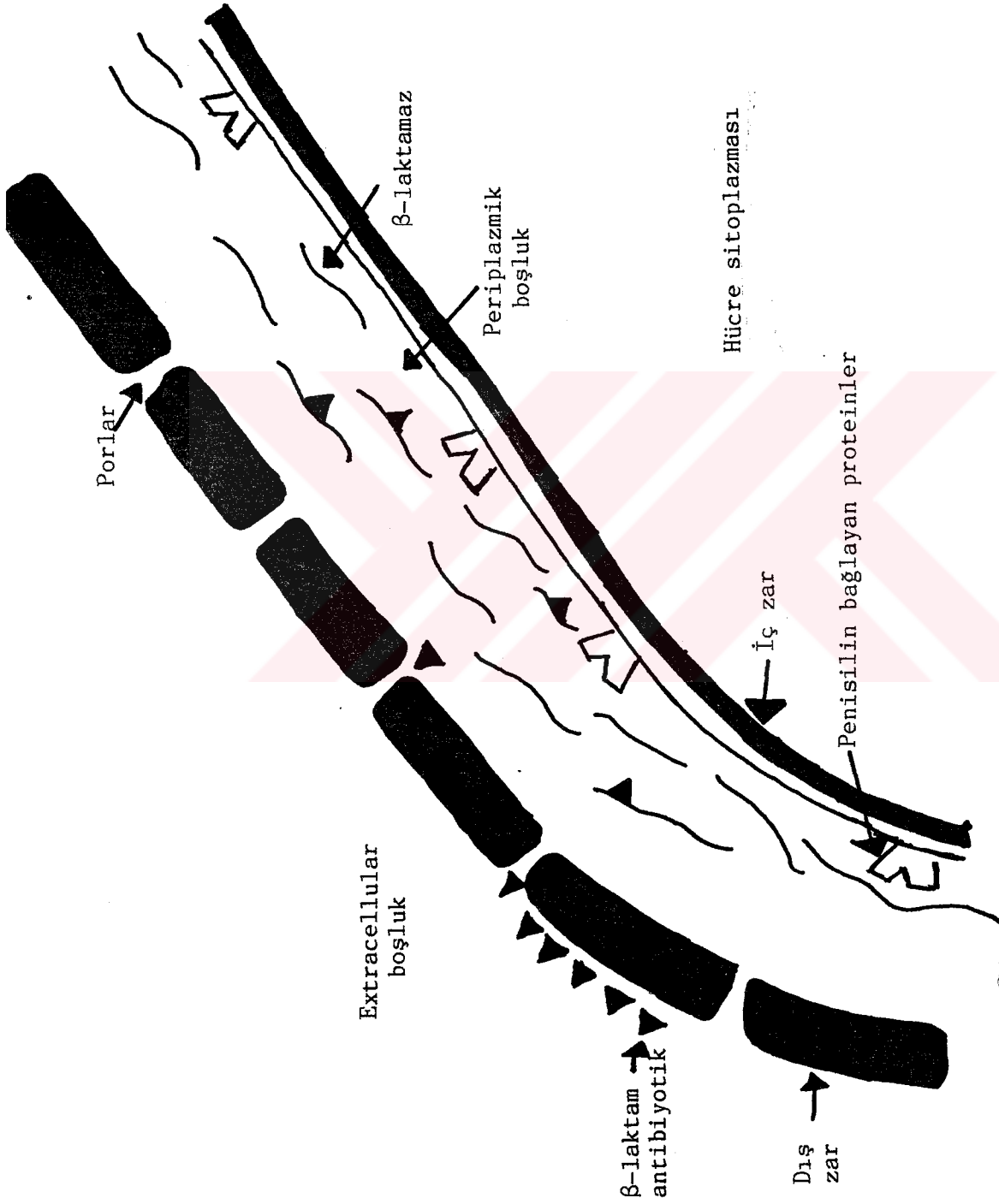
¹Her iki yöntemle de aynı sonuçlar alınmıştır.



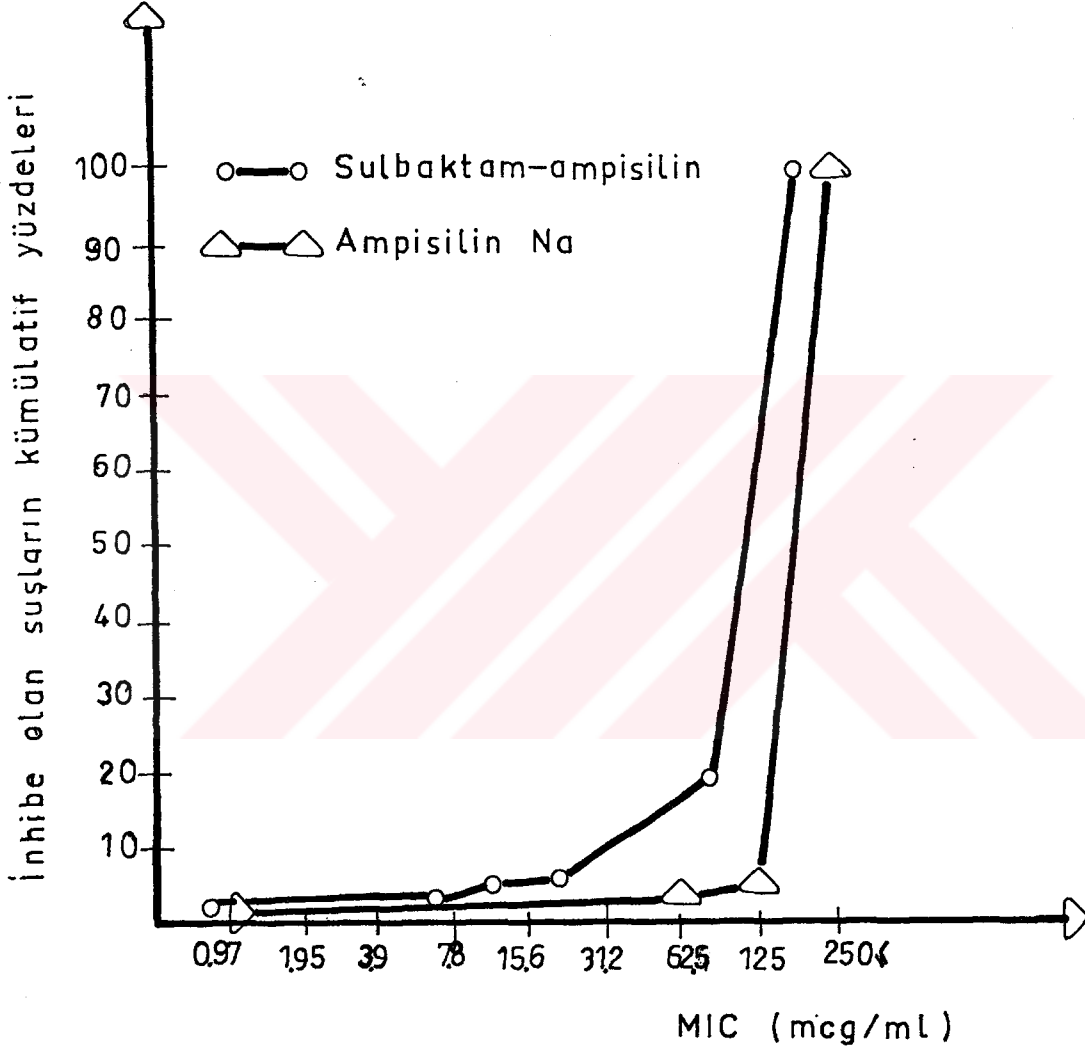
Bütünyle yeniden oluşmuş tam β-laktamaz, hidroliz olmuş inaktif substrat penisilin

A = Aktif bağlanma yeri
X ve Y = Belirlenmemiş diğer bağlanma yerleri

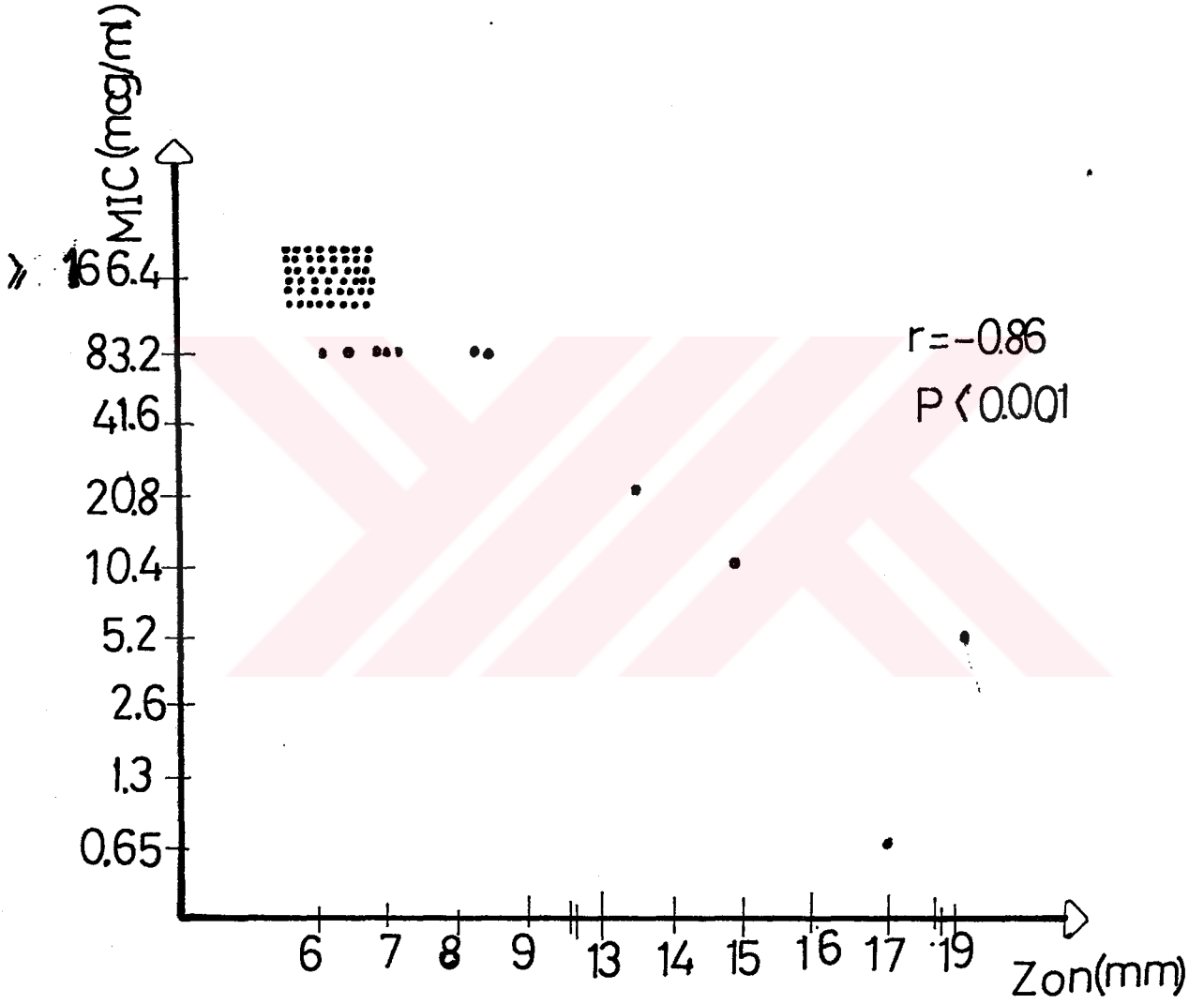
ŞEKİL 1a- β-laktamaz inhibisyonunun şematik olarak gösterilmesi(40).



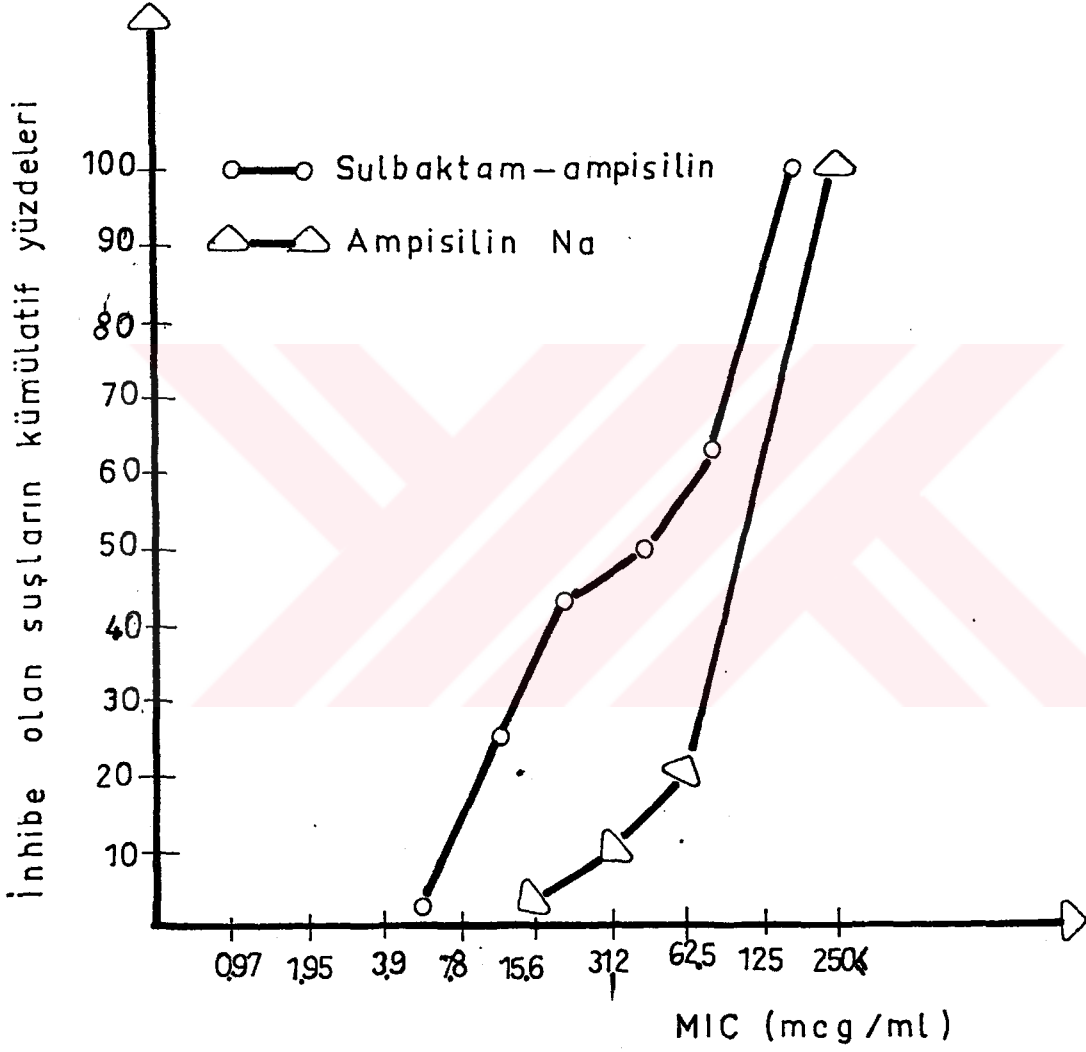
ŞEKİL 1b- Hidrolitik olmayan β-laktamaz kontrolündeki antibiyotik direncinin şeması. β-laktam antibiyotikle karşılaştırıldığında β-laktamaz moleküllerinin fazlalığı, ilacın sıkı sıkıya bağlanması ve penisilin bağlayan proteinlere ulaşmaması ile sonuçlanır. Böylece antimikrobik madde hidrolize uğramadan biyolojik olarak inaktif olur(34).



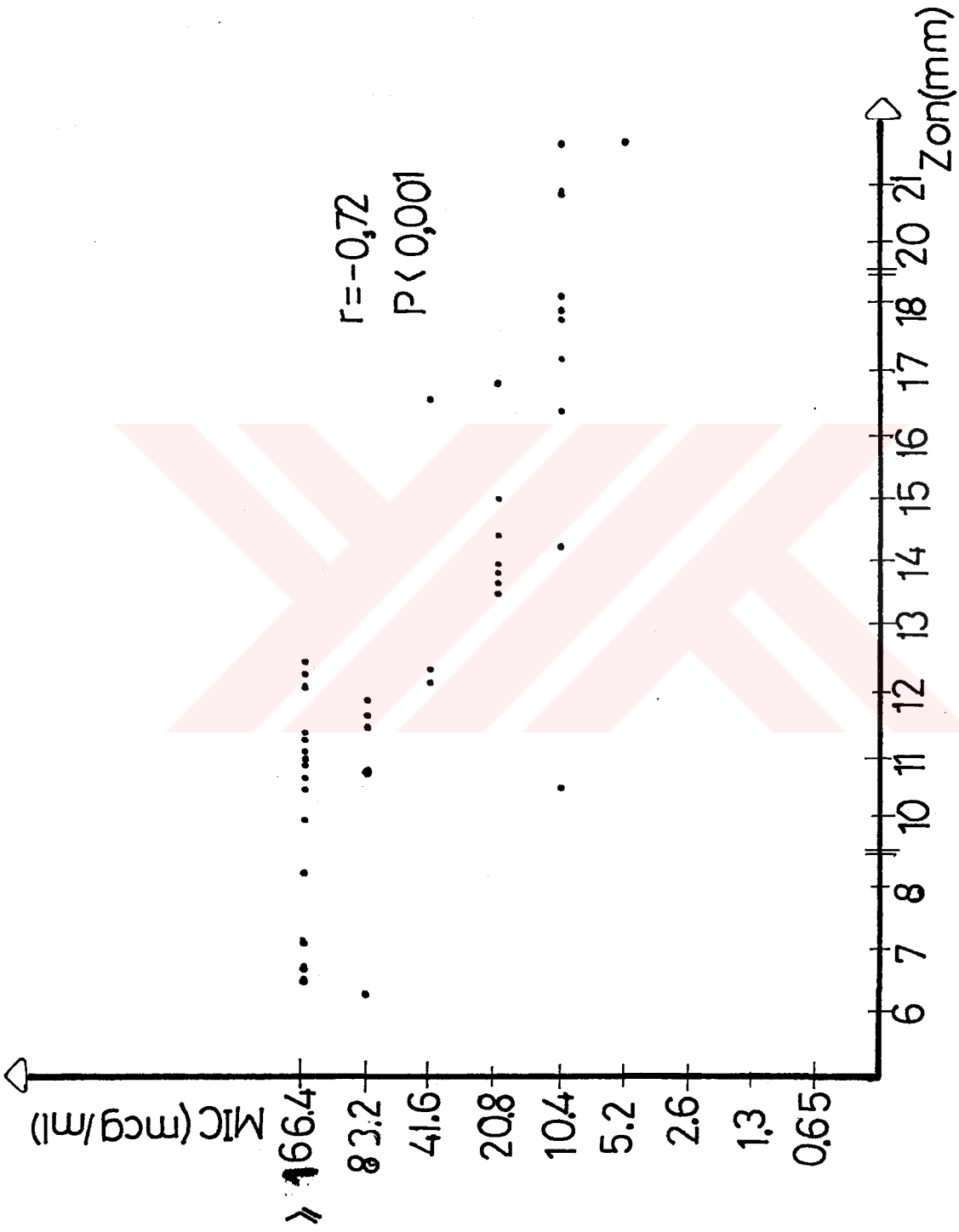
ŞEKİL 2- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 59 *P.aeruginosa* suşu üzerindeki antibakteriyel etkileri.



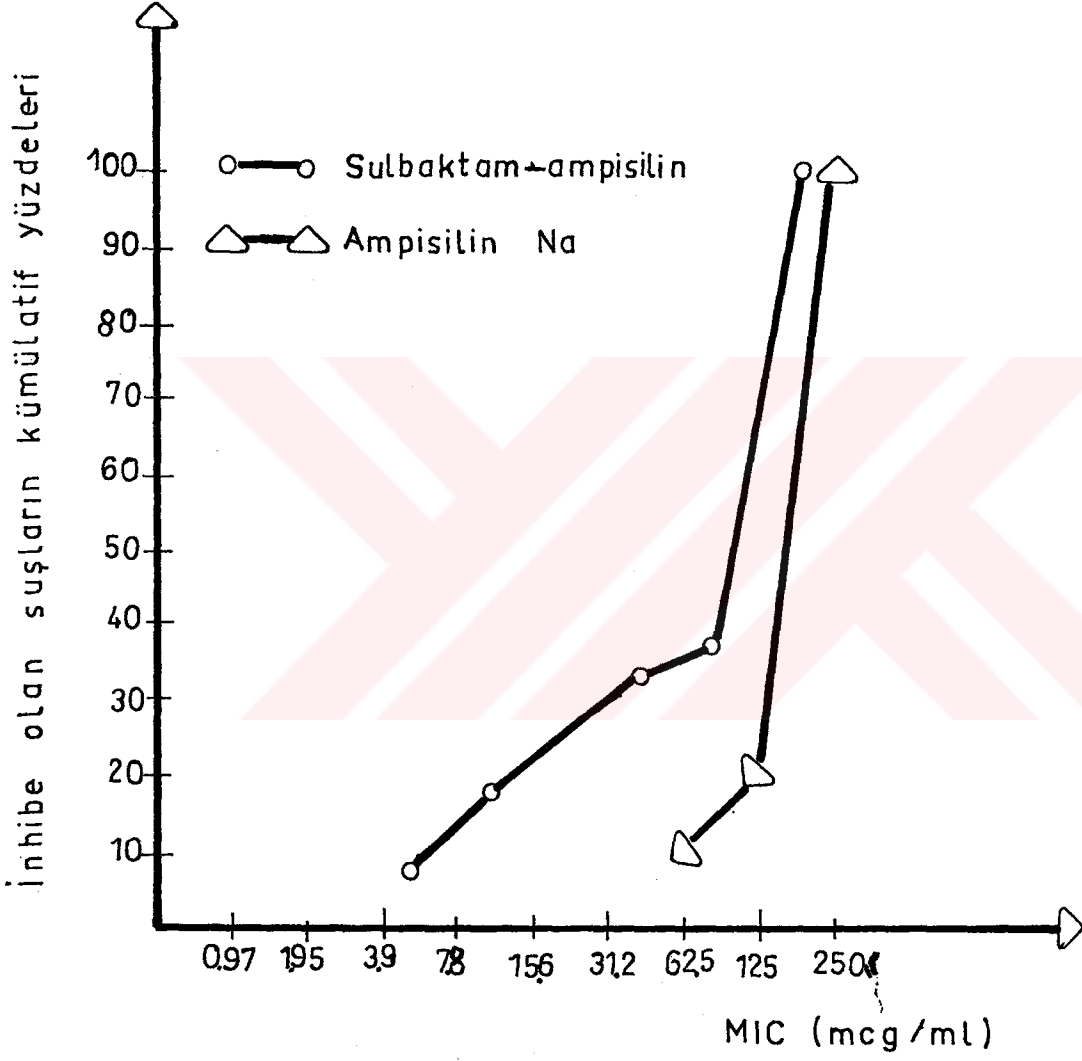
ŞEKİL 3- 59 P.aeruginosa suşu karşısında sulbaktam-ampisilin'le elde edilen serpilme diyagramı.



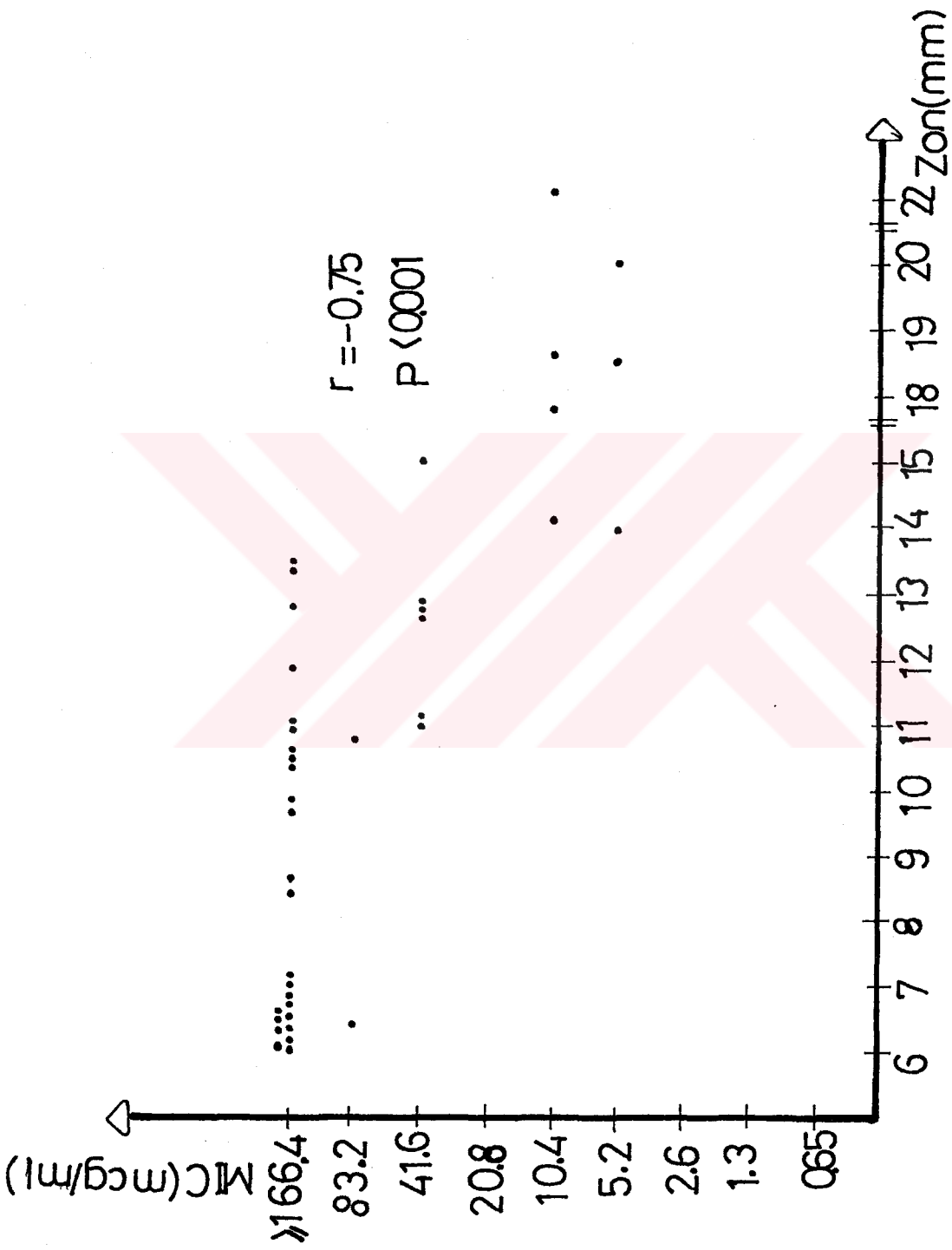
ŞEKİL 4- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 40 Proteus cinsi suş üzerindeki antibakteriyel etkileri.



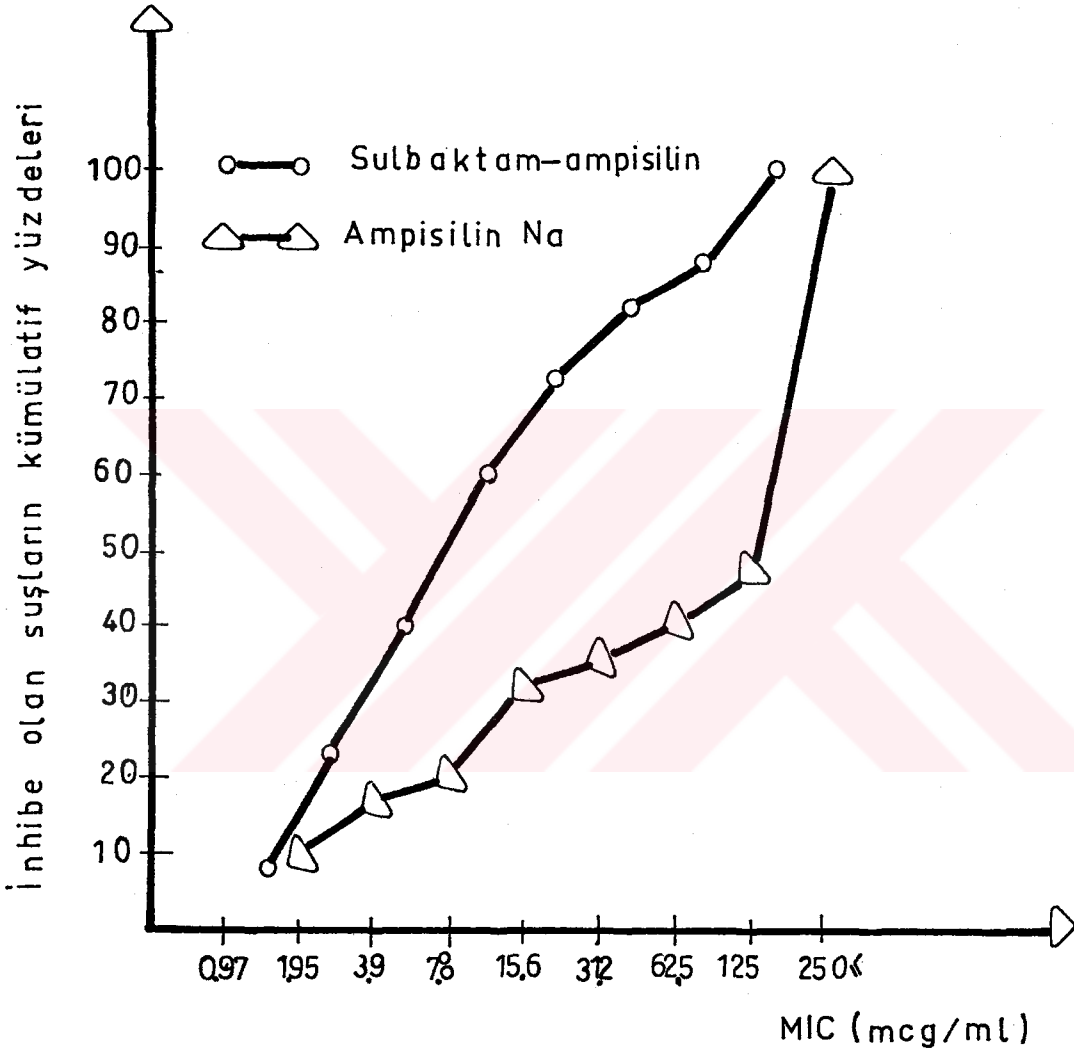
ŞEKİL 5- 40 Proteus cinsi suş karşılarında sulbaktam-ampisilin'le elde edilen serpilme diyagramı.



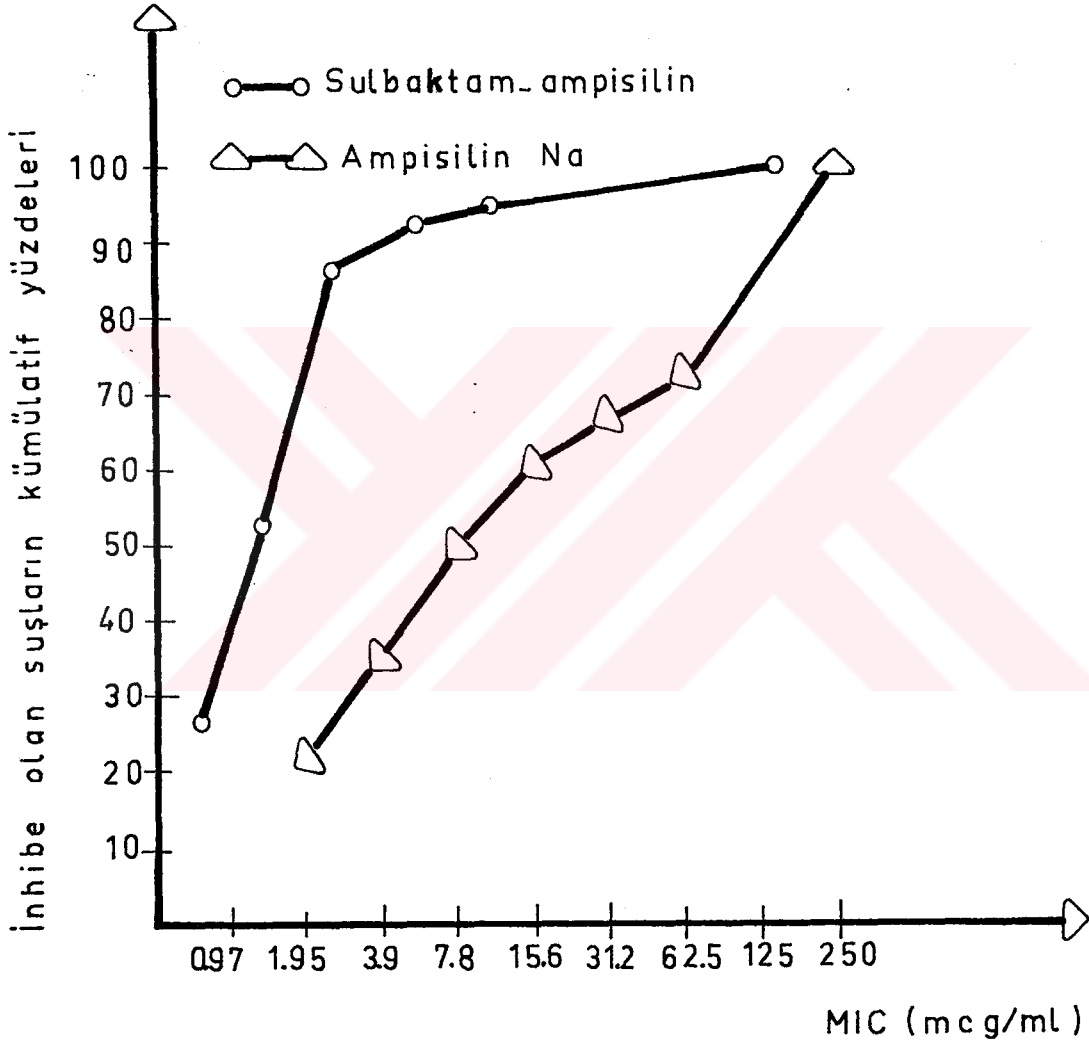
ŞEKİL 6- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 40 Klebsiella cinsi suş üzerindeki antibakteriyel etkileri.



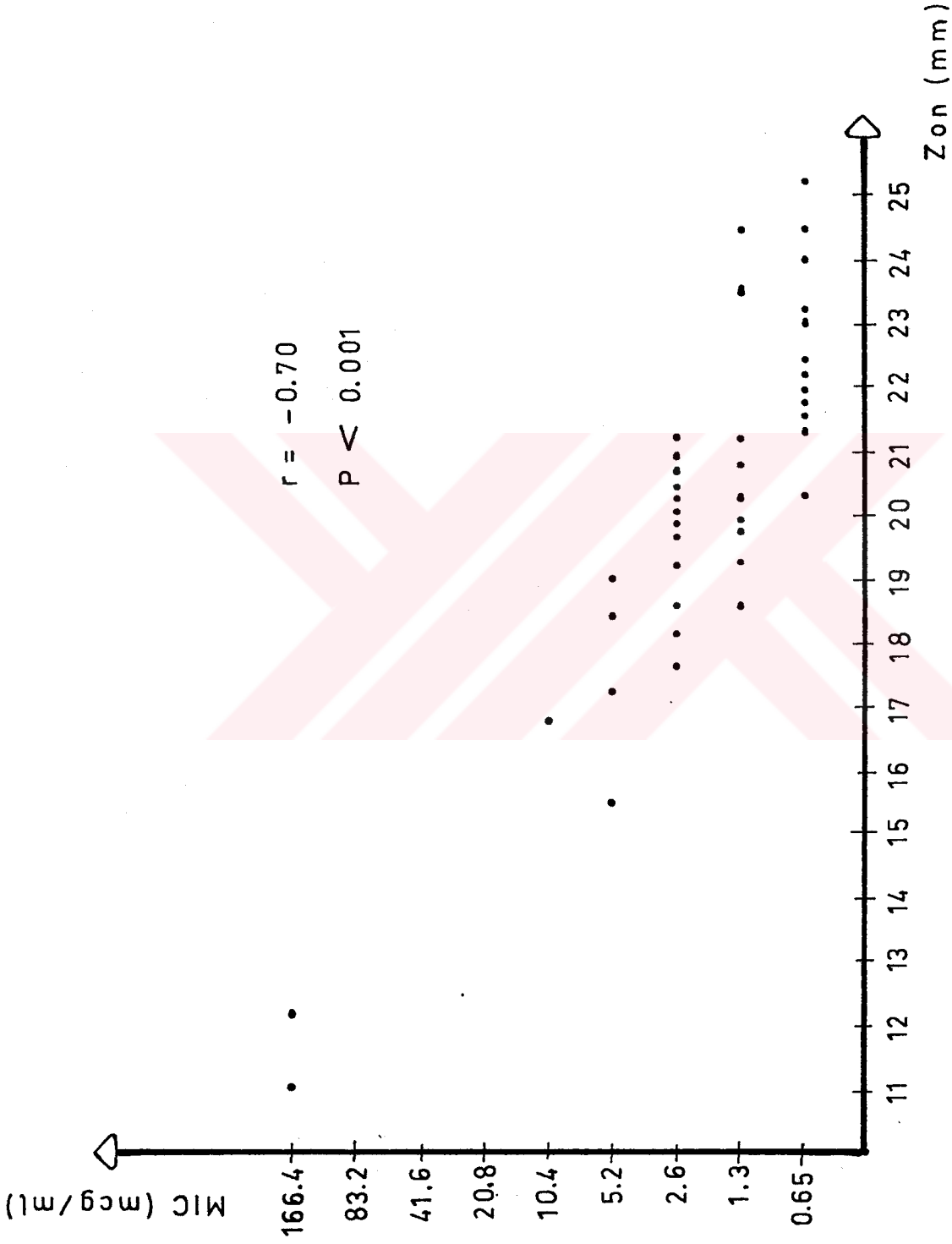
ŞEKİL 7- 40 Klebsiella cinsi suş karşılarında sulbaktam-ampisilin'le elde edilen serpilme diyagramı.



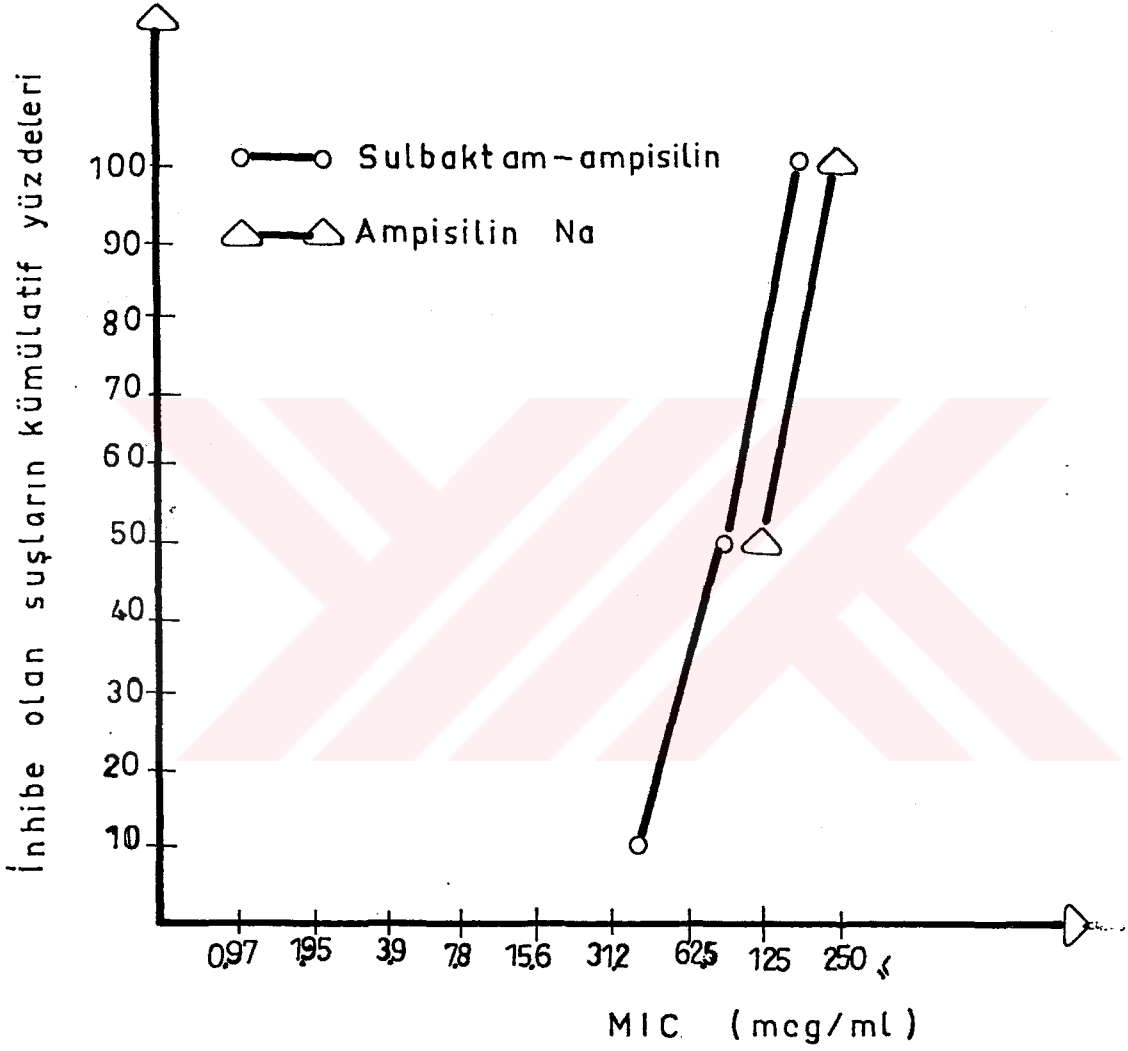
ŞEKİL 8- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 40 E.coli suşu üzerindeki antibakteriyel etkileri.



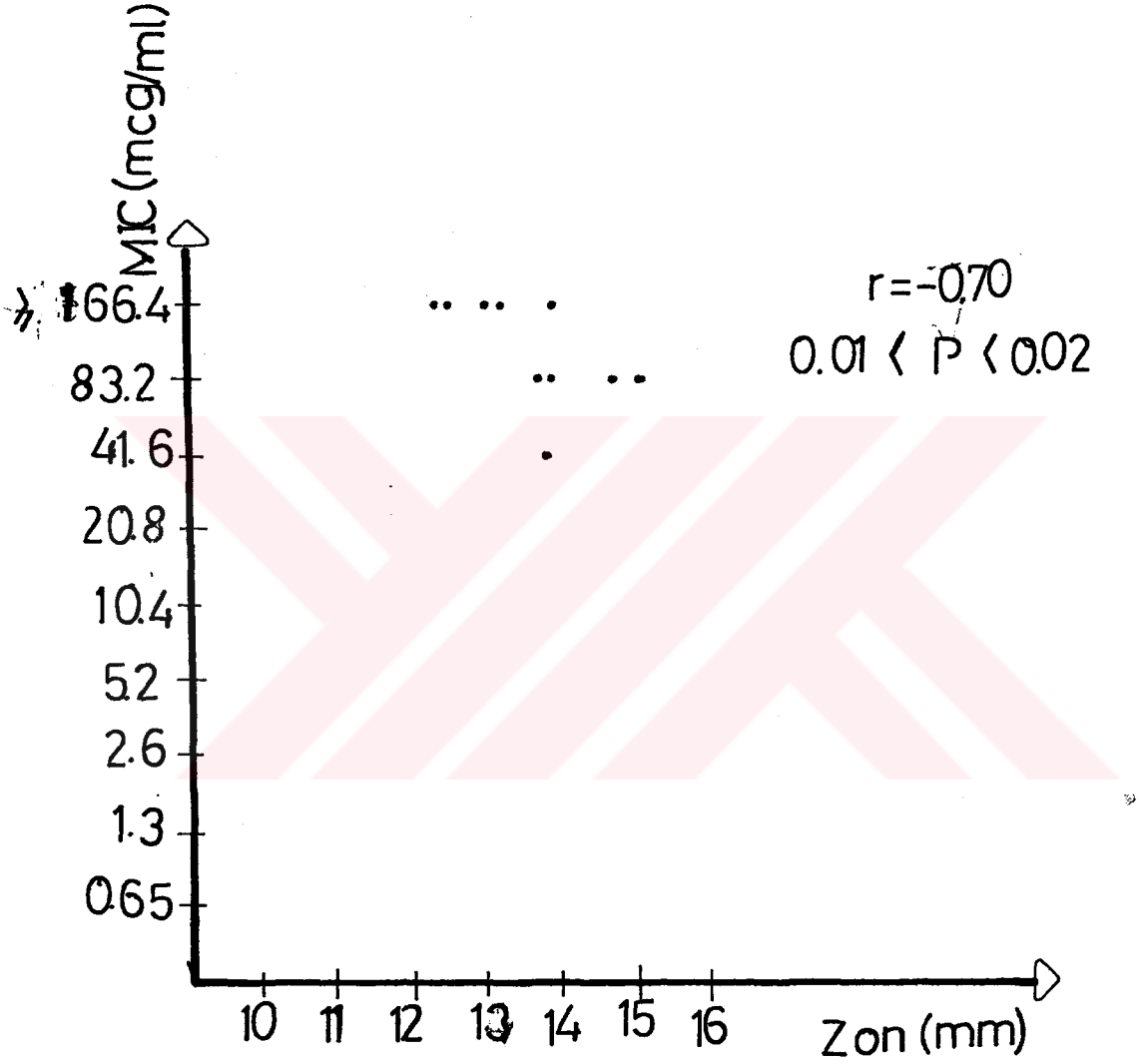
ŞEKİL 10- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 40 S.aureus suşu üzerindeki antibakteriyel etkileri.



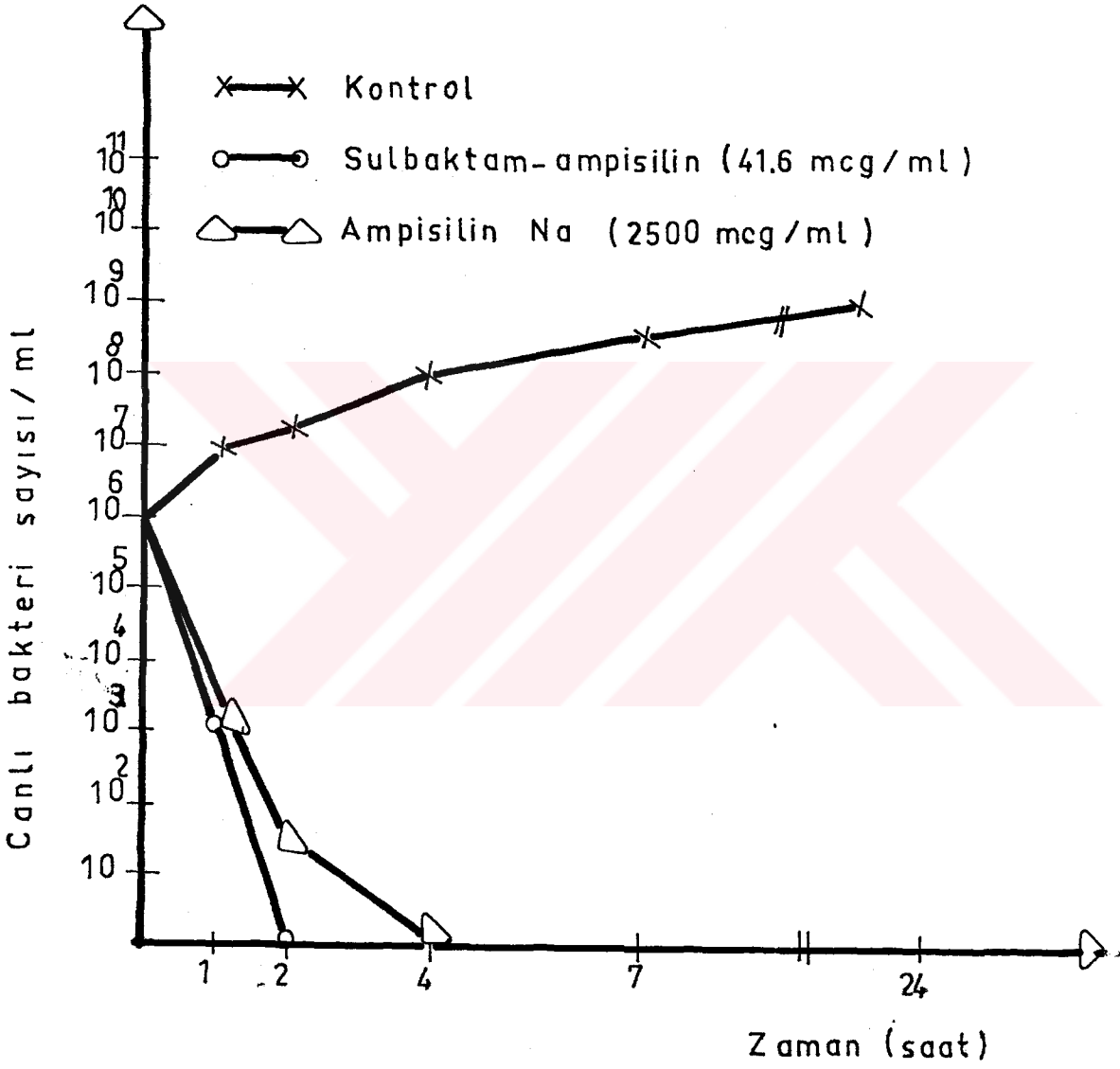
ŞEKİL 11- 40 S.aureus suşu karşısında sulbaktam-ampisilin'le elde edilen serpilme diyagramı.



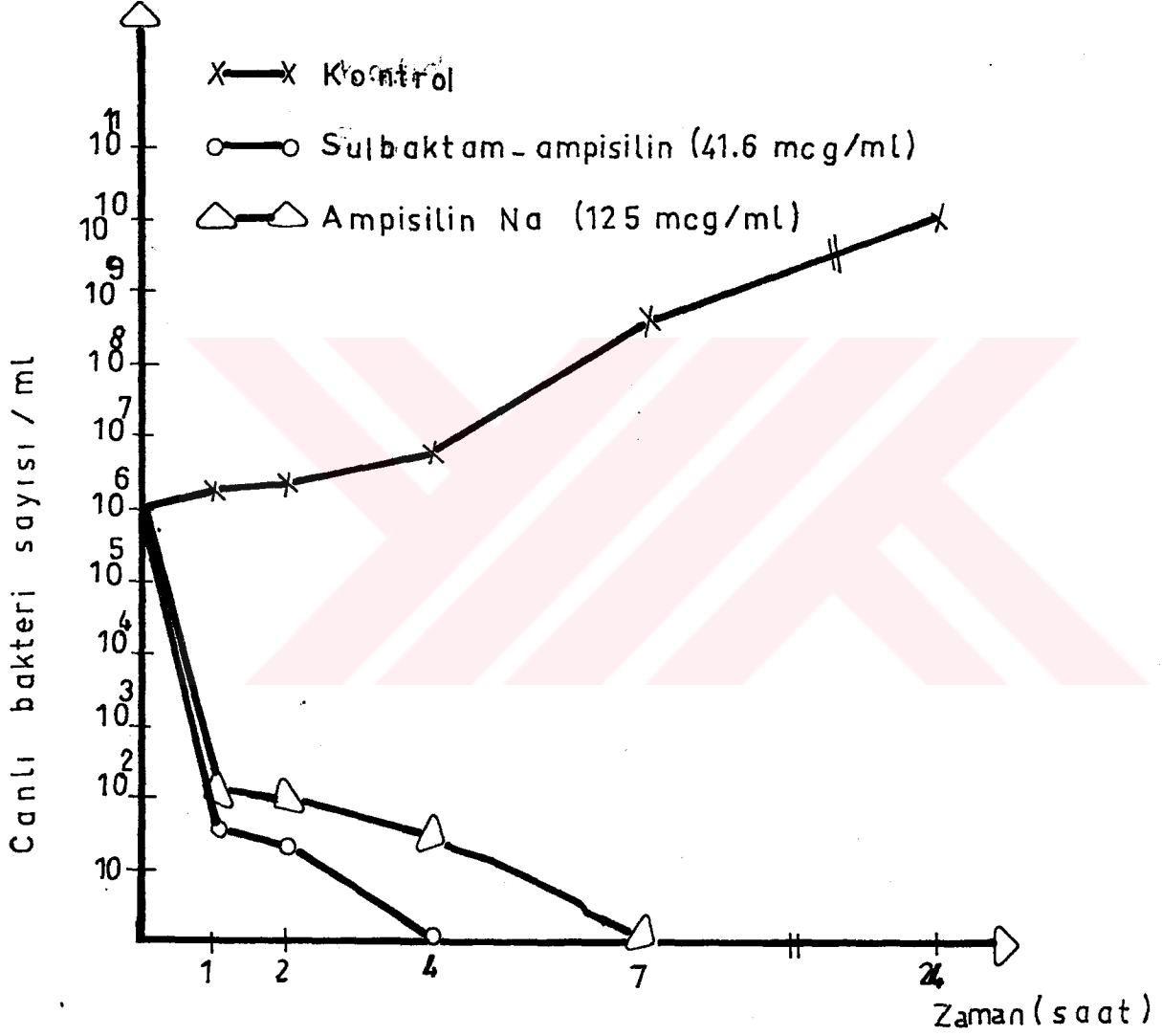
ŞEKİL 12- Sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un 10 Salmonella cinsi suş üzerindeki antibakteriyel etkileri.



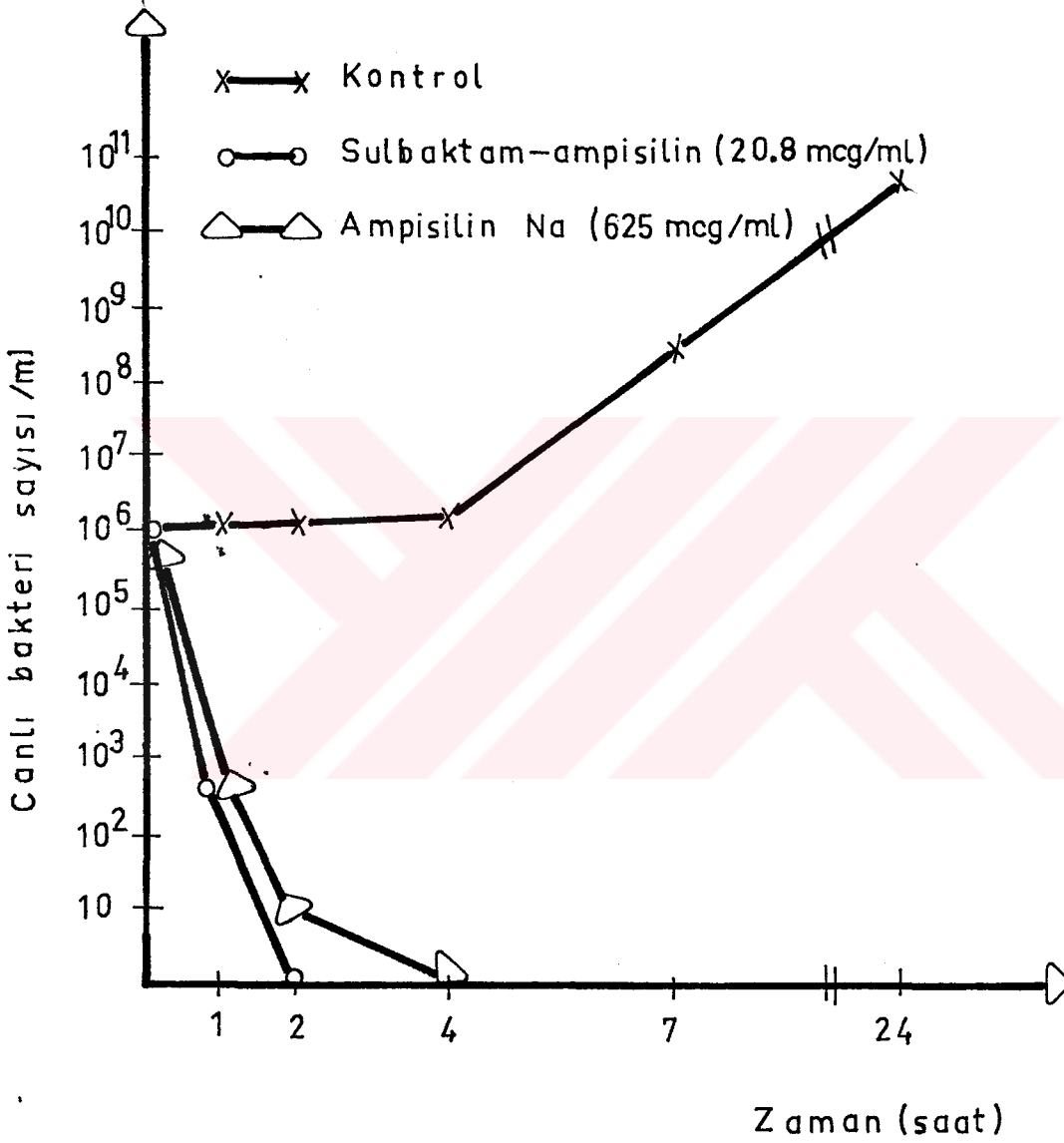
ŞEKİL 13- 10 Salmonella cinsi suş karşısında sulbaktam-ampisilinle elde edilen serpilme diyagramı.



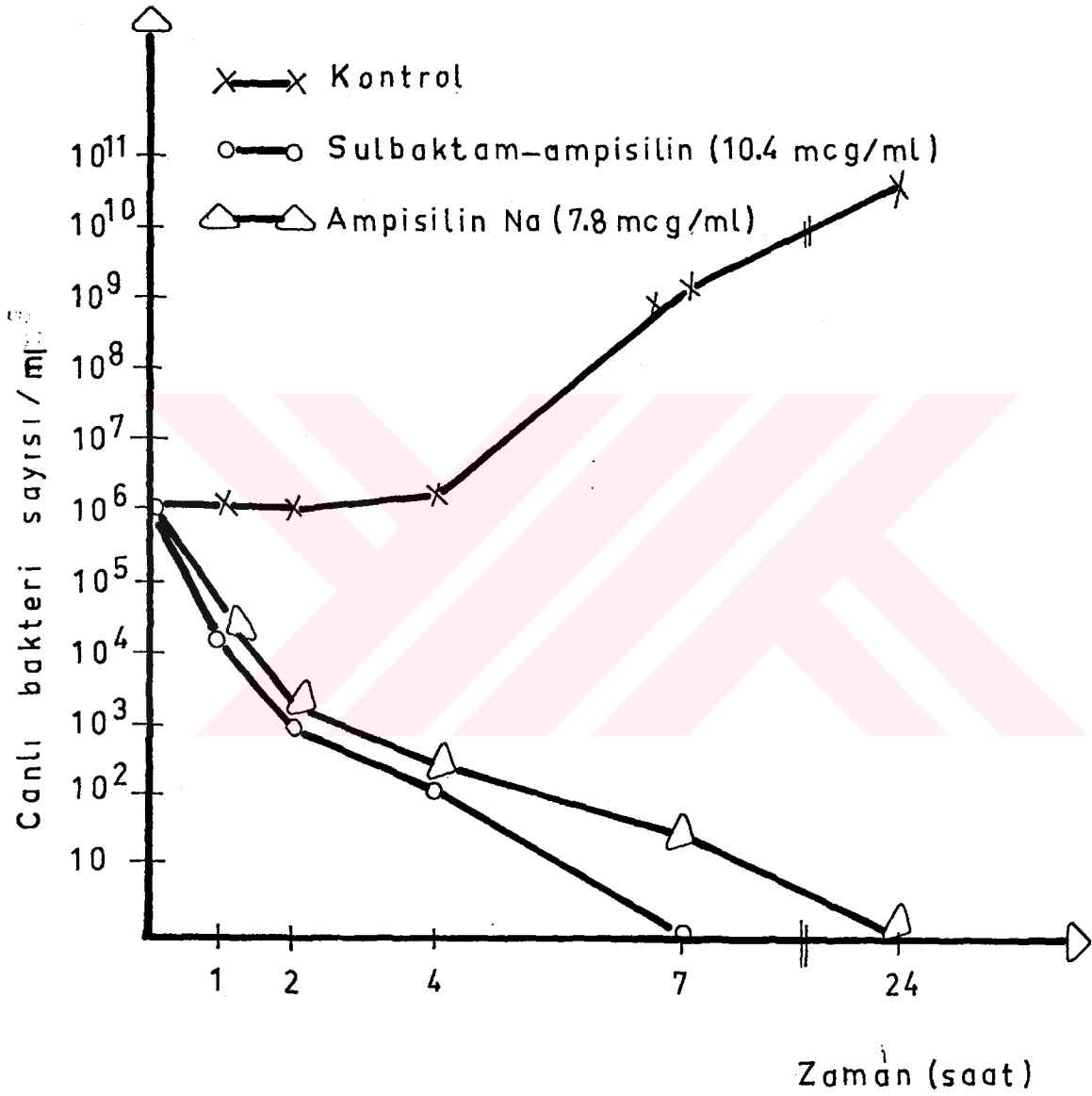
ŞEKİL 14- *Pseudomonas aeruginosa* 3932 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.



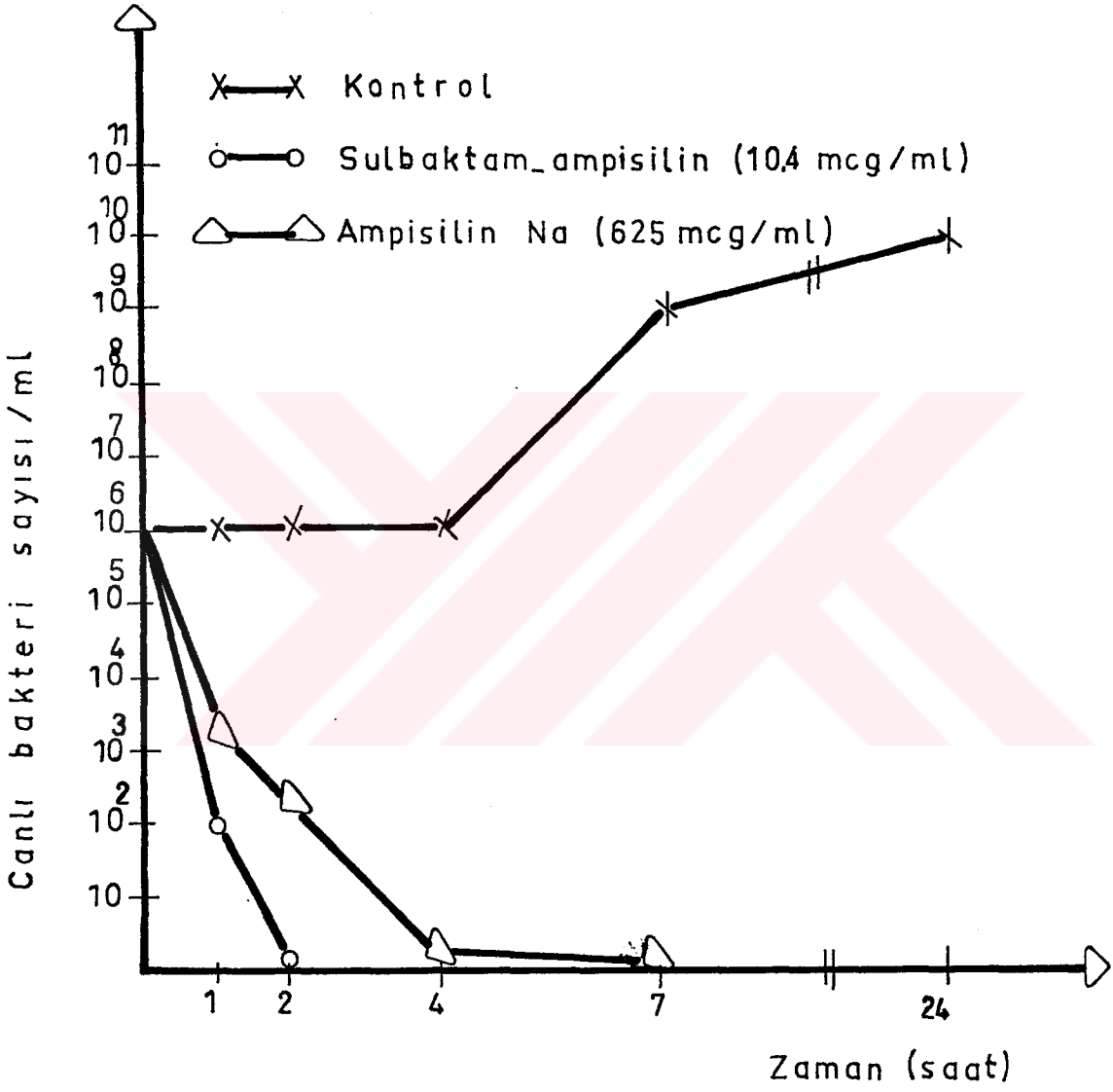
ŞEKİL 15- Proteus mirabilis 922 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.



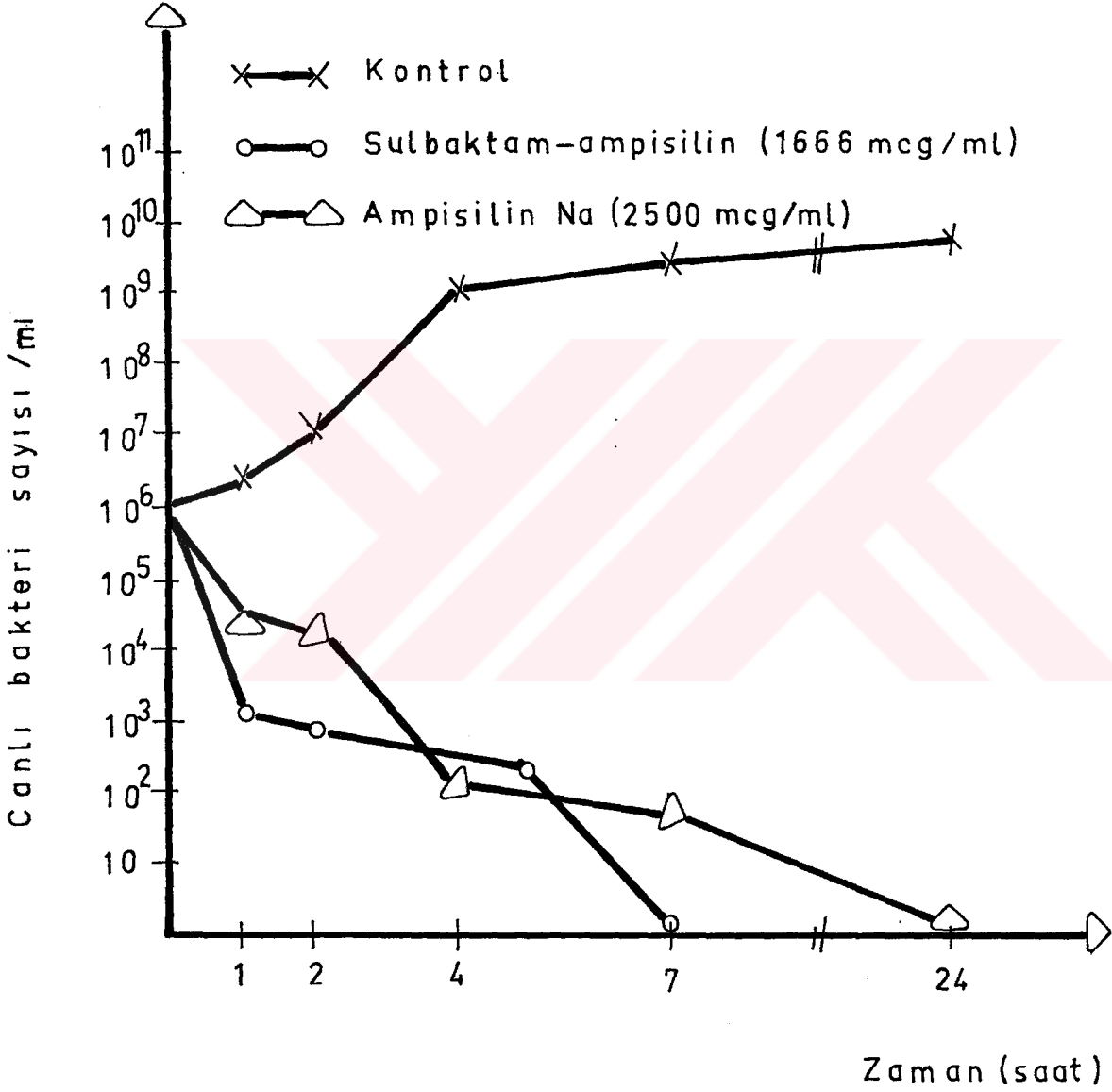
ŞEKİL 16- *Klebsiella pneumoniae* 4 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve Ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.



ŞEKİL 17- Escherichia coli 3329 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.



ŞEKİL 18- Staphylococcus aureus 7807 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.



ŞEKİL 19- Salmonella typhi murium 3 suşu üzerinde sulbaktam-ampisilin ve ampisilin Na'un öldürme zamanlarının tayini.