

## Siprofloksasin'in Mycobacterium Tuberculosis Suşlarına İn-Vitro Etkisi<sup>∞</sup>

Ayşe YÜCE\*, Mine YÜCESOY\*, Beril ÖZBAKKALOĞLU\*\*

\* D.E.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

\*\* Göğüs Hastalıkları Hastanesi

### ÖZET

Balgam örneklerinden soyulmuş 54 Mycobacterium tuberculosis suşunun siprofloksine (CF) in vitro duyarlılığı minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri ile araştırıldı. Standart bakteri süspansiyonları, 0.39-12.5mg/l miktarında CF içeren Löwenstein-Jensen besiyerine ekildi ve 4-6 hafta sonra MIC değerleri saptandı. MIC değerleri 17 suş (%31.48) için 3.12mg/l, 11 suş (%20.37) için 6.25mg/l, 8 suş (%14.81) için 12.5mg/l, 8 suş (%14.81) için 0.78mg/l, 7 suş (%12.96) için 1.56mg/l, 3 suş (%5.55) için 0.39mg/l olarak saptandı. Kümülatif olarak denenen suşların çoğu (%79.6) 0.78-6.25mg/l MIC'a duyarlı bulundu.

**Anahtar sözcüklere** Siprofloksasin, Minimum İnhibitör konsantrasyon (MIC), Mycobacterium tuberculosis.

İnsan tüberkülozunun etkeni olan Mycobacterium tuberculosis ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkeler yanında gelişmiş ülkeler için de önemli bir sorun olmaktadır. Tüberküloz tedavisinde karşılaşılan güçlükler tıp dünyasını yeni bir antitüberküloz ilaç arayışı içine sokmuştur.

Yeni florokinolonlar olarak bilinen ve bakteri DNA giraz enzimini inhibe ederek etki gösteren CF ve oflaksasin gibi ilaçların Mycobacterium tuberculosis ve nontüberküloz mycobacteriumlara

### SUMMARY

*In Vitro Effect of Ciprofloxacin on Mycobacterium Tuberculosis Strains*

Fifty-four strains of Mycobacterium tuberculosis that had been isolated from sputum, were investigated to determine their in-vitro susceptibility to ciprofloxacin (CF) with minimum inhibitory concentration (MIC) values. Standardized bacteria suspensions were inoculated to Löwenstein-Jensen medium which contained different amounts of ciprofloxacin between 0.39mg/l and 12.5mg/l. After 4-6 weeks the results were evaluated. MIC values were found to be 3.12mg/l against 17 strains (%31.48), 6.25mg/l against 8 strains (%14.81), 1.56mg/l against 7 strains (%12.96), 0.39mg/l against 3 strains (%5.55). Cumulatively most of the strains (%79.6) were susceptible to the MIC values between 0.78mg/l and 6.25mg/l.

**Key words:** Ciprofloxacin, Minimum inhibitory concentration (MIC), Mycobacterium tuberculosis.

karşı değişik derecelerde etkili olduğuna ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır(1-11). Yeni florokinolonlar geniş spektrumları yanı sıra düşük toksisitesi ve oral uygulanması nedeni ile özellikle kronik tüberküloz sağaltımında bilinen antitüberkülozlara bir alternatif olarak düşünülmektedir.

Çalışmamızın amacı alternatif olarak düşünülen CF'nin Mycobacterium tuberculosis suşları üzerine in vitro etkisini araştırmaktır.

∞

V. Ulusal Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 1989-1990 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Göğüs Hastalıkları Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına gönderilen balgam örneklerinden soyulmuş ve standart biyokimyasal testler ile identifiye edilen 54 Mycobacterium tuberculosis suşu kullanıldı. CF hammaddesi ise Fako İlaçları Anonim Şirketi tarafından sağlandı.

Çalışmada tüm suşlar için MIC değerleri araştırıldı. Bunun için Collins ve arkadaşlarının (2) yöntemi kullanıldı.

Hazırlanan gliserinli Löwenstein-Jensen besiyerlerine distile suda çözündürülüş 0.39mg/l, 0.78/mg/l, 1.56/l, 3.12mg/l, 6.25mg/l, 12.5mg/l oranlarında CF ilave edilerek tüplere döküldü ve koagülasyon işlemi yapıldı(2). Ayrıca CF eklenmemiş Löwenstein besiyerleri de hazırlanarak kontrol olarak kullanıldı.

Daha önce balgam örneklerinden Löwenstein-Jensen besiyerlerinde üretilerek izole edilmiş 54 Mycobacterium tuberculosis suşlarından 10'ar bakteri kolonisi 3cc 7H9 Middlebrook sıvı

besiyerine konularak rotatorda beş dakika çevrildi ve homojen süspansiyon haline gelmesi sağlandı. Mc Farland No:1'e göre ayarlanan (1,12) bu süspansiyon 2cc miktarında farklı oranlarda CF içeren ve kontrol grubu olarak hiç CF içermeyen Löwenstein besiyerine ekildi.Ekim işleminden sonra tüplerinin pamukları yakılarak ağızları parafin ile kapatıldı.

Dört-altı hafta süre ile yatık olarak 37<sup>0</sup> C'de enkübe edildikten sonra kontrol tüpleri ile karşılaştırmalı olarak sonuçlar değerlendirildi. On veya daha az koloni bulunan tüplerden en yüksek CF konsantrasyonuna sahip olan değer MIC olarak kabul edildi (2).

## BULGULAR

Çalışılan 54 Mycobacterium tuberculosis suşunun MIC değerleri; 17 suş (%31.48) için 3.12mg/l, 11 suş (%20.37) için 6.25mg/l, 8 suş (%14.81) için 12.5mg/l, 8 suş (%14.81) için 0.78mg/l, 7 suş (%12.96) için 1.56mg/l, 3 suş (%5.55) için 0.39mg/l olarak saptanmış olup sonuçlar Tablo 1'de gösterildi. Total olarak denenen suşların çoğu (%79.6) 0.78-6.25mg/l rakamları arasındaki MIC değerlerine duyarlı bulundu.

**Tablo I.** Mycobacterium tuberculosis suşlarının MIC değerleri (mg/l) ve yüzdeleri

| CF'nin MIC değerleri (mg/l) | 0.39 | 0.78  | 1.56  | 3.12  | 6.25  | 12.5  | Toplam |
|-----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Suş Sayısı                  | 3    | 8     | 7     | 17    | 11    | 8     | 54     |
| Yüzdesi %                   | 5.5  | 14.81 | 12.96 | 31.48 | 20.37 | 14.81 |        |

## TARTIŞMA

Nalidiksik asit ve diğer heterosiklik karbonik asit deriveleri yıllardır öncelikle lokalize üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Son yıllarda bu gruba norfloksasin ve CF gibi iki yeni madde eklenmiştir. In vitro çalışmalar bu iki ilacın Mycobacteriumlar da dahil olmak üzere çok geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olduklarını göstermektedir (11,13,14,15). Yapılan preliminier çalışmalar bilinen antimikobakteriyel ajanlara dirençli mycobacteriumların CF, ofloksasin ve norfloksasin ile inhibe olduğunu göstermektedir (1-6,8-11,12).

Çalışmamızda elde ettiğimiz CF için MIC değerleri suşların çoğu (%79.6) için 0.78-6.25mg/l arasındadır. Bu sonuçlar Trimble ve arkadaşlarının(12) sonuçları ile uyum içindedir. Bu araştırmacıların 1987 yılında BACTEC sistem ve makrobuyyon dilüsyon yöntemi ile yaptığı çalışmada MIC olarak 0.4-6.2mg/l arasında değerler bulunmuştur. Ancak CF'nin Mycobacterium tuberculosis için MIC değerleri Berlin ve arkadaşları(1) tarafından disk difüzyon yöntemi ile 1.0mg/l Collins ve arkadaşları(2) tarafından 1.56mg/l, Davies ve arkadaşları(3) tarafından 1.25mg/l veya daha az, Fenton ve arkadaşları(4) tarafından agar dilüsyon yöntemi ile 0.25-0.50µg/ml, Göral ve arkadaşları (13) tarafından modifiye Davies yöntemi ile 0.3-2.5µg/ml, Gay ve arkadaşları (5) tarafından %1 standart oranlama metodu ile 1.0µg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler bizim sonuçlarımız ile uyum göstermemektedir. Elde ettiğimiz yüksek MIC değerleri yöntem farkından, inokulum miktarındaki farklılıktan ve çalışmalarda kullanılan Mycobacterium tuberculosis suşlarının direnç özelliklerinin farklı olmasından ileri gelebilir. Ayrıca protein içeriği daha yüksek olan Löwenstein-Jensen besiyeri kullanımında, florokinolonların %30'unun insan serum proteinlerine bağlanabilme özelliğinden

dolayı daha yüksek MIC değerleri elde edilebileceği bildirilmiştir(3).

CF, oral olarak 250mg, 500mg ve 1000mg'lık dozlar şeklinde verildiğinde 1-2 saat sonra beklenen serum düzeyleri sırasıyla 1.0-1.3mg/l, 2.0-2.7mg/l ve 4.0mg/l'dir(2). Öte yandan bu ilaç ekstrasellüler sıvılara, sekresyonlara ve akciğer dahil dokulara çok iyi dağılmaktadır. İlacın doku sıvılarındaki düzeyi ise nispeten daha düşüktür (1.5µg/ml) (16). Sonuçlarımız ilacın serum ve doku düzeyleri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde 54 Mycobacterium tuberculosis suşunun 35'i (%64.8) CF'nin serum ve doku düzeylerinin altında MIC değerleri ile ona duyarlıdır.

Birden çok ilaca dirençli Mycobacterium tuberculosis olgularının sağaltımı oldukça zordur ve minor antitüberkülo ilaçların çoğu iyi tolere edilmezler. Ayrıca özellikle mayor antitüberkülozlarla dirençli atipik mikobakteri enfeksiyonlarında etkili bir ilaca gereksinim duyulmaktadır. Yeni florokinolonlar ve özellikle CF bu konuya ışık tutmuştur. Fare deneyleri başarılı bulunmakla birlikte(17), in vitro sonuçlar klinik sonuçları tam desteklemeyebilir(6).

Sonuç olarak in vitro çalışmalar klinik bulgularla desteklendiği takdirde bizim ve birçok araştırmacının çalışmasında Mycobacterium tuberculosis üzerinde in vitro belirgin bir etkiye sahip olduğu saptanan CF'nin birinci sınıf antitüberküloz ilaçlara dirençli olgularda alternatif olarak veya bakterisidal ya da bakteriyostatik etkiyi arttırmak amacıyla kombine sağaltımda kullanılabilceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Berlin OG, Young LS, And Bruckner DA. In vitro activity of six fluorinated quinolones against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1987; 19: 611-615.
2. Collins CH and Uttley Anne HC. Invitro susceptibility of *Mycobacteria* to ciprofloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1985; 16: 575-580.
3. Davies S, Sparham PD, and Spencer RC. Comparative in-vitro activity of five fluoroquinolones against *Mycobacteria*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1987; 19: 605-609.
4. Fenlon CH, and Cynamon MH. Comparative in vitro activities of ciprofloxacin and other 4-quinolones against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium intracellulare*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1986; 29: 386-388.
5. Gay J, Deyoung DR, and Roberts GD. In vitro activities of norfloxacin and ciprofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium* complex, *M. Chelonae*, *M. fortuitum* and *M. kansasii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1984; 26: 94-96.
6. Göral G, Aydın Ö. Siprofloksasin'in *Mycobacterium tuberculosis* suşlarına invitro etkisi. *Ege Tıp dergisi* 1990; 29(3): 690-693.
7. Ichiyama S, Tsukamura M. Ofloxacin and the treatment of pulmonary disease due to *Mycobacterium fortuitum*. *Chest* 1987; 92(6): 1110-1112.
8. Tsukamura M. In vitro antituberculosis activity of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280). *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 348-351.
9. Tsukamura M, Nakamura, E, Yoshii S, and Amano H. Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280) on pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 352-356.
10. Vidinel I, ve Uçan ES. Ofloksasin (Ofloxacin)'in antitüberkülo etkisinin in vitro araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1988; 2(2): 113-122.
11. Young LS, Berlin OG, Inderlied CB. Activity of ciprofloxacin and other fluorinated quinolones against *Mycobacteria*. *The American Journal of Medicine* 1987; 82: 23-26.
12. Trimble AK, Clark BR, Eugene W, Frankel WJ, Cacciatore R, and Valdez H. Activity of ciprofloxacin against *Mycobacteria* in vitro: Comparison of BACTED and macrobroth dilution methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1987; 19: 617-622.
13. Grimm H. Invitro study with ciprofloxacin: Interpretive criteria of agar diffusion test according to standards of the NCCLS and DIN. *The American Journal of Medicine* 1987; 376-380.
14. Ridgway GL, Mumtaz G, Gabriel FG, Oriel JD. The activity of ciprofloxacin and other 4-quinolones against *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasmas* in vitro. *Eur J Clin Microb Current Topics: Ciprofloxacin* 1988; 19-21.
15. Shrire L, Saunders J, Traynor R, Kornhof JA. Laboratory assessment of ciprofloxacin and comparable antimicrobial agents. *Eur. Journal of Clinical Microbiology. Current Topics Ciprofloxacin* 1986; 3-7.
16. Neu HC. Quinolones *Med Clin N Amer* 1988; 623-636.
17. Chadwich M, Nicholson G, Gaya H. Combination chemotherapy with ciprofloxacin for infection with *M. Tuberculosis* in mouse models. *The American Journal of Medicine* 1989; 87: 35-36.