

# Vankomisin ile Rifampisin, Amikasin, Siprofloksasin ve İmipenem Kombinasyonlarının *Staphylococcus aureus* Suşlarına In Vitro Sinerjik Etkisi

Fügen Çokça<sup>1</sup>, Dilek Arman<sup>2</sup>, Gültekin Altay<sup>1</sup>

**Özet:** Vankomisin ile rifampisin, amikasin, siprofloksasin ve imipenem kombine edilerek, beş metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve beş metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşu için in vitro sinerjizm test edildi. Sinerjik etki "dama tahtası" mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. MSSA suşları için, vankomisin-amikasin ve vankomisin-siprofloksasin kombinasyonları sinerjik etkili bulundu. MRSA suşlarına karşı yalnız vankomisin-imipenem kombinasyonu sinerjik etki gösterdi. Vankomisin-rifampisin kombinasyonunun gerek MSSA gerekse MRSA suşları için sonuç etkinliği, indifera olarak belirlendi.

**Anahtar Sözcükler:** *Staphylococcus aureus*, vankomisin, in vitro sinerjizm.

**Summary:** In vitro synergic activity of vancomycin with rifampin, amikacin, ciprofloxacin and imipenem against *Staphylococcus aureus* strains. Vancomycin was combined with rifampin, amikacin, ciprofloxacin and imipenem in order to test in vitro synergism against five methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and five methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. Synergic activity was determined by checkerboard microdilution method. Vancomycin-amikacin and vancomycin-ciprofloxacin combinations were found synergic for MSSA strains. The only combination showing synergic activity for MRSA strains was vancomycin-imipenem. The final effect of vancomycin-rifampin for both MSSA and MRSA strains was determined as indifferent.

**Key Words:** *Staphylococcus aureus*, vancomycin, in vitro synergism.

## Giriş

Antimikrobiyal tedavi konusunda yıllar içerisinde hızlı gelişmeler olmasına karşın, stafilokoksik infeksiyonların tedavisinde halen güçlüklerle karşılaşmaktadır. Metisiline dirençli stafilokokklar sadece beta-laktam antibiyotiklere değil, kinolonlar, kloramfenikol, klindamisin, tetrasiklin ve aminoglikozidler gibi diğer antibiyotiklere de direnç gösterirler. Ayrıca hastane epidemilerine yol açabilmeleri nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu oluşturlar.

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) infeksiyonlarında tedavi seçeneği vankomisin veya teikoplanindir. Teikoplaninin serum düzeyleri ile klinik etkinliği arasındaki korelasyon tüm MRSA infeksiyonları için yeterince incelenmediğinden, özellikle ciddi MRSA infeksiyonlarında tercih edilen antimikrobiyal ajan vankomisin (1).

Stafilokoksik infeksiyonlarda, daha etkili tedavi seçenekleri oluşturabilmek için, çeşitli antibiyotik kombinasyonları in vitro test edilmektedir (2-5). Bu çalışmada, vankomisin, rifampin, amikasin, siprofloksasin ve imipenem ile in vitro sinerjik etkisi, metisiline duyarlı ve dirençli *S.aureus* suşları için araştırılmıştır.

## Yöntemler

Hastanede yatan hastaların kan, pü ve kateter örneklerinden izole edilen beş MRSA ve beş MSSA suşu ile çalışıldı. *S.aureus* ATCC 29213 kontrol suşu olarak kullanıldı. Testte yer alan antibiyotikler, vankomisin (Lilly), rifampisin (Sifar), amikasin (Eczacıbaşı), siprofloksasin (Bayer), imipenem (MSD) üretici firmalardan temin edildi.

Metisiline dirençli suşlar, 1 µg oksasilin diski kullanılarak disk difüzyon testi ile tanımlandı. Tüm antimikrobialerin, çalışılacak bakteri suşları için minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi (6). "Dama tahtası" mikrodilüsyon panellerindeki antibiyotik konsantrasyonları, önceden belirlenen MİK değerleri dikkate alınarak hazırlandı (7). Mikroplakların yatay ve dikey eksenindeki ilk sıraları, kombinasyondaki antibiyotiklerin MİK değerlerini yansıtıyordu. Aradaki kuyucuklarda ise iki antibiyotiğin MİK sırasındaki konsantrasyonlarına eşdeğer konsantrasyonda kombinasyonları bulunuyordu. Bakteri inokulumu  $1.5 \times 10^5$  olacak şekilde ayarlandı. Mikroplaklar bir gece 35°C'de inkübe edildikten sonra, antibiyotiklerin hem tek başına hem de kombine buldukları kuyucuklarda görünür üremenin inhibe olduğu konsantrasyonlar belirlendi. Vankomisin-rifampisin, vankomisin-amikasin, vankomisin-siprofloksasin ve vankomisin-imipenem kombinasyonlarının, MRSA ve MSSA suşları için fraksiyone inhibisyon konsantrasyonları (FİK) ve fraksiyone inhibisyon konsantrasyon indeksleri (FİKİ) he-

- (1) Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Sıhhiye-Ankara
- (2) Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Beşevler-Ankara

**Tablo 1. Vankomisin, Rifampin, Amikasin, Siprofloksasin ve İmipenem'in *S.aureus* Suşları İçin MİK Değerleri (µg/ml)**

Antibiyotik	MSSA (n=5)	MRSA (n=5)
Vankomisin	0.5-1	0.5-1
Rifampisin	0.0022-0.009	0.009->0.6
Amikasin	1-2	0.25->64
Siprofloksasin	0.003-0.25	>2
İmipenem	0.12	0.12-8

MSSA: metisiline duyarlı *S.aureus*, MRSA: metisiline dirençli *S.aureus*

saplandı. FİKİ ≤0.5 sinerjik, 0.5<FİKİ<4 indifera, FİKİ≥4 antagonist etki olarak değerlendirildi (7).

### Sonuçlar

Antimikrobiyal ajanların, *S. aureus* suşları için belirlenen MİK'leri Tablo 1'de verilmiştir. Vankomisin dışındaki antibiyotiklerin MRSA suşları için MİK değerlerinin genel olarak yüksek olduğu gözlemlendi.

Antibiyotik kombinasyonlarının FİK indeksleri ile belirlenen etkileşim şekilleri Tablo 2'de belirtilmiştir. Vankomisin-rifampisin kombinasyonu ile, hem MSSA hem de MRSA suşları için in vitro sinerjik etkileşim gözlenmedi. Vankomisin, amikasinle birlikte tüm MSSA suşları için sinerjik iken aynı etkileşim tek bir MRSA için saptandı. MRSA'lar üniform olarak siprofloksasine de dirençli idi. MRSA'lar için vankomisin-siprofloksasin kombinasyonu indifera iken, aynı kombinasyon MSSA'ların çoğuna sinerjik etkili idi. MRSA suşlarının hepsi için sinerjik etkili tek kombinasyon vankomisin-imipenem çiftiydi. Çalışılan antibiyotik kombinasyonları ile antagonizm saptanmadı.

### İrdeleme

Stafilokoklar tüm dünyada problem olarak nitelenen mikroorganizmaların başında gelir. Metisiline dirençli stafilokokların özellikle hastanelerde hızla yayılması,

**Tablo 2. Antibiyotik Kombinasyonlarının Test Edilen *S. aureus* Suşları İçin In Vitro Etkileşimi**

	V+R	V+A	V+S	V+İ
<b>MSSA</b>				
1	İndifera	Sinerjik	Sinerjik	İndifera
2	İndifera	Sinerjik	Sinerjik	İndifera
3	İndifera	Sinerjik	Sinerjik	İndifera
4	İndifera	Sinerjik	İndifera	İndifera
5	İndifera	Sinerjik	İndifera	İndifera
<b>MRSA</b>				
1	İndifera	İndifera	İndifera	Sinerjik
2	İndifera	Sinerjik	İndifera	Sinerjik
3	İndifera	İndifera	İndifera	Sinerjik
4	İndifera	İndifera	İndifera	Sinerjik
5	İndifera	İndifera	İndifera	Sinerjik

V: vankomisin, R: rifampisin, A: amikasin, S: siprofloksasin, İ: imipenem

konunun önemini artırmaktadır. MRSA'ların beta-laktam antibiyotikler için heterojen direnç gösterdiği bilinmektedir. Başlangıçta duyarlı görünen bakteri popülasyonu içerisindeki heterojen dirençli suşlar, antibiyotik kullanımını ile seleksiyona uğrayıp, homojen direnç olarak karşımıza çıkabilmektedir. Vankomisin için de benzer bir durum MRSA suşları için Japonya'dan bildirilmiştir. Vankomisine heterojen direnç gösteren bakteri popülasyonunun, vankomisin kontrolsüz kullanımı ile homojen dirençli bakteriler haline gelebileceği tehlikesine dikkat çekilmiştir (8).

Stafilokoksik infeksiyonlarda daha etkin tedavi seçenekleri oluşturabilmek için, çeşitli antibiyotik kombinasyonları ile in vitro çalışmalar yapılmaktadır. İmipenem-sefalosporin, vankomisin/teikoplanin-imipenem/meropenem, vankomisin-rifampisin kombinasyonları bu çalışmalardan bazılarının konusunu oluşturmuştur (9-12).

Birden çok patojenin infeksiyon etkeni olarak düşünüldüğü durumlarda veya immünoşüpresyon altındaki konakçıların ciddi infeksiyonlarında, empirik tedavide kombine antibiyotik kullanımı tercih edilebilmektedir. Bu çalışmada vankomisin, test edilen antibiyotiklerden amikasin, siprofloksasin ve imipenemle bazı stafilokok suşları için sinerjik etkili bulunmuştur.

Vankomisin, stafilokoksik endokardit, osteomyelit gibi ciddi infeksiyonlarda rifampisin ile kombine kullanılabilmekle beraber, bizim çalışmamızda bu iki antibiyotik arasında sinerjik etki saptanmamıştır. Brandt ve arkadaşları (2)'nin çalışmasında da metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis* ile oluşturulan deneysel endokardit modelinde, vankomisin ve rifampisin arasında sinerjik etki gözlenmediği bildirilmiştir. Genel olarak vankomisin ile rifampisin etkileşiminin suştan suşa farklılık gösterebileceği kanısı yaygındır.

Glikopeptid antibiyotiklerin imipenem veya meropenemle birlikte, MRSA suşları için sinerjik etkili olabildikleri belirtilmektedir (11,12). Bizim sonuçlarımızda da MRSA suşlarının hepsi için in vitro sinerjik etki gösteren tek kombinasyon vankomisin-imipenem idi. Bu kombinasyonla elde edilen MİK değeri, tek başına imipenem MİK'inden 16-32 kat daha düşük bulundu. Çalışmamızın sonucu, ciddi MRSA infeksiyonlarında bu iki antimikrobiyal ajanın kombine kullanımını destekler niteliktedir. Ancak in vitro sinerji testleri, in vivo antibiyotik uygulanması sırasında zaman içerisinde ortaya çıkacak konsantrasyon değişikliklerini yansıtmamaktadır. Dolayısıyla elde edilen in vitro sonuçların, her zaman in vivo sonuçlarla uyumlu olmayabileceği, ayrıca çalışılan suşa bağlı olarak sonuçların farklılık gösterebileceği akılda bulundurulmalıdır.

### Kaynaklar

- Çetinkaya Y, Ünal S. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonları. *Flora* 1996; 1 (Ek 3): 3-16
- Brandt CM, Rouse MS, Tallan BM, Laue NW, Willson WR, Steckelberg JM. Effective treatment of cephalosporin-rifampin combinations against cryptic methicillin-resistant beta-lactamase producing coagulase-negative staphylococcal experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1815-9

3. Mülazimoğlu L, Drenning SD, Yu VL. In vitro activities of two novel oxazolidinones (U 100592 and U 100766), a new fluoroquinolone (trovafloxacin) and dalbapristin-quinupristin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agent Chemother* 1996; 40: 2428-30
4. Zinner SH, Lagast H, Klastersky J. Antistaphylococcal activity of rifampin with other antibiotics. *J Infect Dis* 1981; 144: 365-71
5. Proctor RA, Wick P, Hamill J, et al. In vitro studies of antibiotic combinations for multiply-resistant coagulase-negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1987; 20: 223-31
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Third Information Supplement*. NCCLS Document M100 S3. Villanova, Pa: NCCLS, 1991
7. Moody JA. Synergism testing: broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Isenberg HD ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol. 1. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992: 5.18.128.
8. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997; 350:1670-73
9. Matsuda K, Asahi Y, Sanada M, Nakagawa S, Tanaka N, Inoue M. In vitro activity of imipenem combined with beta-lactam antibiotics for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27: 809-15
10. Oka S, Goto M, Koji Y, et al. Synergic activity of imipenem/cilastatin combined with cefotiam against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1993;31:533-41
11. Barr JG, Symth ET, Hogg GM. In vitro antimicrobial activity of imipenem in combination with vancomycin or teicoplanin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9(11):804-9
12. Edwards JR. Meropenem: a microbiologic overview. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36(Suppl A): 1-17