

SULFONAMİD HASSASİYET DENEMELERİ HAKKINDA

Dr. ÖZDEM ANĞ

İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Enstitüsü

GİRİŞ

Bakterilerin antibiyotiklere mukavemetlerinin artışı ile sulfonamidler yeniden ehemmiyet kazanmağa başlamışlardır. Zira bir kaç antibiyotiğe mukavim bakterilere bazı sulfonamidler tesirli olabilmektedir (1). Bundan başka yapılan çalışmalarla yeni sulfonamidlerin tâli tesirleri azaltılmış, çözünürlükleri arttırılmış, yavaş itrah edilmeleri, organizmada parçalanmadan fazla dayanmaları temin edilmiştir (2).

Konjunktivit vak'alarının tedavisinde antibiyotikler kullanılabilir ve bundan evvelki bir çalışmamızda akut konjunktivit vak'alarından izole ettiğimiz bakterilerin antibiyotiklere karşı hassasiyet denemelerinin neticeleri bildirilmiştir (3). Diğer taraftan bilhassa hafif seyreden konjunktivitlerde sulfonamidler de antibiyotikler kadar kullanılmaktadır. Bu vak'alarda sulfonamidlerin kullanılmasyla antibiyotiklerin fazla miktarda kullanılması önlenmiş ve ciddi infeksiyonlar için tesirli olarak saklanması temin edilmiş olmaktadır.

Bakterilerin sulfonamidlere karşı hassasiyet tecrübelerinde kullanılmak üzere muhtelif besiyerleri tavsiye edilmiştir. Antibiyotiklere hassasiyetin denenmesi için kullanılan besiyerleri sulfonamidlere hassasiyetin denenmesinde elverişli değildir. Çünkü bu besiyerlerinde antisulfonamid tesirli bazı maddeler mevcuttur ve bunların en ehemmiyetlisi peptonlardır. Hemoliz olmuş at eritrositlerinin bu maddelerin tesirine mani olduğu bilinmektedir (4, 5). Akut konjunktivit vak'alarından elde etmiş olduğumuz bakterilerin sulfonamidlere hassasiyetlerini araştırmak, aynı zamanda antibiyotikler ile sulfonamidlerin bu bakterilere tesirleri arasında bir mukayese yapabilmek gayesi ile bu çalışma yapılmış ve muhtelif şekilde hazırlanan besiyerlerinin sulfonamid hassasiyet denemelerindeki kıymeti de araştırılmıştır.

MATERYEL VE METOD

Akut konjunktivit teşisi konulan hastaların gözlerinden steril eküviyonla materyel alınarak Petrideki Levinthal besiyerlerine ekilmiş ve 37°C. lik etüvde 24 saat bekletildikten sonra husule gelen kolonilerden eğri jeloz besiyerlerine pasaj yapılmış, elde edilen saf kültürler hassasiyet tecrübelerinde kullanılmıştır. Hassasiyeti denenen suşların 22 si Staphylococcus aureus, 6 sı Staphylococcus albus haemolyticus ve 7 si Staphylococcus albus anhaemolyticus'dur. Tecrübelerimizde aşağıda bildirilen besiyeri kullanılmıştır.

Et suyu	1000 cm ³
Na ₂ HPO ₄	2 gr.
NaCl	3 gr.
Glikoz	1 gr.
Agar	20 gr.

pH = 7,4

Bu besiyerine hemoliz olmuş at eritrositleri ilâve edildiğinde besiyerinin antisulfonamid tesiri kalkmaktadır (4). Tecrübelerimizde kobay, tavşan, köpek, tavuk ve insan eritrositlerinin antisulfonamid tesiri olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için at eritrositleri ilâve edilmiş besiyeri ile mukayeseli olarak, bildirilen muhtelif cins eritrositlerle besiyerleri hazırlanmış ve denenmiştir. Bu besiyerlerini hazırlamak için muhtelif hayvanlardan ve insanlardan alınan kan boncuklu şişelerde defibrine edilmiş, santrifüje edilmiş, eritrositler % 10 nispetinde damıtık suya konulmuş ve hemoliz olduktan sonra 60°C lik benmaride 1 saat ısıtılmıştır. Buradan 2 cm³ alınarak Petri kutusuna konulmuş ve üzerine 100°C de eritilerek 50°C ye soğutulmuş 18 cm³ besiyeri ilâve edilmiş ve Petri kutuları hafifçe sallanarak kanla besiyerinin karışması temin edilmiştir.

Sulfonamid hassasiyet tecrübelerinde net inhibisyon sahalari elde edebilmek için besiyerlerinin sathına az miktarda bakteri ekilmesi icabetmektedir (6, 7). Bu maksatla mikroorganizmaların 18 saatlik buyyon kültürlerinden Pasteur pipeti ile 10 cm³ tuzlu suya 4 damla damlatılmış, buradan da 2 damla alınarak 4 cm³ tuzlu suya ilâve edilmiştir. Buradan Petri kutusundaki katı besiyerinin sathına 1 damla damlatıldıktan sonra yavrulu tüple yayılmıştır. Besiyerlerinin kurummasını müteakip sulfonamid solüsyonu emdirilmiş disk-

ler besiyerinin sathına konmuştur. Umumiyetle bu tecrübelerde yüksek konsantrasyonlarda sulfonamid ihtiva eden diskler kullanılmaktadır (8). Bunun gibi disklerimiz 100μ gr. sulfonamid ihtiva edecek şekilde hazırlanmıştır. Her suş için iki Petri kutusu kullanılmış, bir Petri kutusunda 4, diğesinde de 4 sulfonamid denemiştir. Sulfonamidlerin besiyerine diffuzyonu yavaş olduğundan diskler konduktan sonra Petri kutuları beş saat odada bekletilmiş, sonra ters çevrilerek 37°C lik efüve kaldırılmış, burada 1 gece bekletilmiş ve ertesi gün neticeler okunmuştur. İnhibisyon sahaları diskin kenarından üremenin başladığı yere kadar mm. olarak ölçülmüştür. İnhibisyon sahalarının büyüklüğüne göre suşlar hassas, az hassas ve mukavim olarak tasnif edilmişlerdir. 8 mm. ve daha fazla inhibisyon gösterenler hassas 4-7 mm. inhibisyon sahası bulunanlar az hassas ve hiç inhibisyon bulunmayanlarla 1-3 mm. inhibisyon gösterenler mukavim kabul edilmişlerdir.

Hassasiyet denemelerinde şu sulfonamidler kullanılmıştır:
ultraseptyl (sulfanilamide-methylthiazol)
sulfathiazole (sulfanilamide-thiazol)
sulfametoxypyridazin (sulfanilamide-metoxypyridazin)
protocid (sulfanilamide methylpyrimidine + sulfanilamide ethylthiodiazol)
irgafen (sulfanilamide-dimethyl-benzamide)
sulfamezathine (sulfanilamide-dimethylpyrimidine)
sulfana (sulfanilamide)
pentalom (sulfanilamide-methylene-sulfonate)

Disk metodu, sulfonamid hassasiyet denemelerinde uygun bir metoddur ve bunun neticelerine göre tatbik edilen tedavi umumiyetle muvaffak olmaktadır (7, 9).

BULGULAR

Hemoliz olmuş at, kobay, tavşan, köpek, tavuk ve insan eritrositleri ilâve edilerek hazırlanan besiyerleri ile yapılan sulfonamid hassasiyet tecrübelerinin neticelerinde büyük farklar müşahede edilmemiştir. Hepsinde keskin hudutlu inhibisyon sahaları teşekkül etmiş ve değişik kanlar kullanıldığında inhibisyon sahalarının büyüklüğünün çok az değiştiği tespit edilmiştir. Buna göre kullandığımız diğer kanların da at kanı gibi antisulfonamid tesire mani oldukları anlaşılmaktadır.

Aşağıda hemoliz olmuş at eritrositleri ilâve edilen besiyerindeki neticeler bildirilmiştir.

Hassasiyetlerini deneğimiz 22 *Staphylococcus aureus* suşu pentalom hariç diğer sulfonamidlere umumiyetle hassas bulunmuştur.

En tesirli sulfonamid olan ultraseptyl'e 17 suş hassas, 2 suş az hassas ve 3 suş mukavimdir. Gerek sulfametoxypridazin ve gerekse protocid'e 16 suşun hassas, 3 suşun az hassas ve 3 suşun mukavim olduğu tespit edilmiştir. Sulfathiazol'e ise 17 suş hassas, 1 suş az hassas ve 4 suş mukavimdir. Irgafen'e hassas olan suşların sayısı 12, az hassaslar 8 ve mukavimler 2 tanedir. Sulfamezathine'e 12 suş hassas, 5 er suş az hassas ve mukavimdir. Sulfana'ya 8 er suşun hassas ve mukavim, 6 suşun ise az hassas olduğu tespit edilmiştir. En az tesirli sulfonamid pentalom'dur. Bu sulfonamide 17 suş mukavim 3 suş hassas ve 2 suş da az hassastır.

6 *Staphylococcus albus haemolyticus* suşu da sulfonamidlere genel olarak hassastır. Sulfametoxypridazin, protocid ve sulfathiazol'e suşların hepsi hassastır. Ultraseptyl'e 5 suş hassas, 1 suş az hassas, ırgafen'e 4 suş hassas, 2 suş az hassas, sulfamezathine'e 3 suş hassas, 3 suş az hassastır. Sulfana'ya 1 suş hassas, 4 suş az hassas ve 1 suş mukavimdir. Pentalom'a ise 1 suş hassas, 5 suş mukavimdir.

Hassasiyetleri denenen 7 *Staphylococcus albus anhaemolyticus* suşunun hepsi sulfathiazol ve sulfana'ya hassastır. Protopid'e 6 suş hassas, 1 suş az hassastır. Ultraseptyl'e 5 suş hassas, 1 suş az hassas ve 1 suş mukavimdir. Sulfametoxypridazin ve ırgafen'e hassas 4, az hassas 2 ve mukavim 1 suş vardır. Sulfamezathine'e 5 suş hassas, 2 suş mukavim, pentalom'a ise 3 suş hassas, 2 suş az hassas, 2 suş mukavimdir. Bütün bu bulgular Tablo 1. de gösterilmiştir.

MÜNAKAŞA

Sulfonamid hassasiyet tecrübelerinde kullanılacak metodun vasıfları arasında en önemlileri elde edilen neticelerin yani inhibisyon sahalarının kesin hudutlu olması, besiyerinin patojen bakterilerin üremesine elverişli olması, tekniğin ekonomik, basit ve çabuk olmasıdır. Mütad besiyerlerinde bu şartların gerçekleşmesine en büyük engel antisulfonamid maddelerin mevcudiyetidir. Bu maddeler inhibisyon zonlarının teşekkülüne mâni olurlar veya kenarları

SuŒlar	Ultraseptyl	Protocid	Sulfame- toxypryri- dazin	Sulfathi- azole	Irgafen	Sulfame- zathine	Sulfana	Pentalom
	H A M	H A M	H A M	H A M	H A M	H A M	H A M	H A M
S. aureus	17 2	3 16 3	3 16 3	3 17 1	4 12 8	2 12 5	5 8 6	8 3 2 17
S. albus haemolyticus	5 1	6	6	6	4 2	3 3	1 4 1	1 5
S. albus anhaemolyticus	5 1	6 1	4 2 1	7	4 2 1	5	7	3 2 2

Tablo: 1. Sulfonamidlere hassas (H), az hassas (A) ve mukavim (M) staphylococcus suŒlarının sayısı.

belirli olmayan inhibisyon zonlarının teşekkülüne sebep olurlar ve neticelerin okunmasını güçleştirirler (10, 11, 12). Antisulfonamid tesir en ziyade peptonlarda bulunur ve değişik peptonlarda farklı miktardadır. Tarif edilen şekilde at eritrositleri ilâve edilerek sulfonamid antagonistleri nötralize edilmiş olan buyyona jeloz ilâvesi ile hazırlanan besiyerinde antisulfonamid tesir görülmemiş ve bu tesirin jelozda olmadığı anlaşılmıştır.

Bakterilerin sulfonamidlere karşı hassasiyetlerinin tâyin edilmesi maksadıyla antisulfonamid tesiri olmayan çeşitli besiyerleri tarif edilmiştir. Sulfonamidler yüksek konsantrasyonda kullanıldıklarında bakterisid olabilmektedirler. Maamafih esas tesirleri bakterilerde para-aminobenzoik asidin yerine geçerek bakteriyo-statiktir. McLeod, besiyerlerinde antisulfonamid tesiri olan maddenin para-aminobenzoik asid olmadığını göstermiş ve sulfonamid antagonistlerini ihtiva etmeyen basit sentetik bir besiyeri hazırlamıştır (11). Daha sonra Frisk azot kaynağı olarak kazein hidrolizati ilâve ettiği yarı sentetik bir besiyeri bildirmiştir (13). Bunlardan başka kan ilâve edilmiş peptonsuz infüzyon besiyeri (6), karaciğer buyyonu (11), plâsenta infüzyonu (6) ve peptonsuz tavşan eti infüzyonu (14) da bu maksatla kullanılmıştır.

Hemoliz olmuş at eritrositleri ilâve edilen besiyerinin sulfonamid hassasiyet tecrübelerinde iyi neticeler verdiği bilinmektedir. At kanının tesir mekanizması hakkında bir takım görüşler ileri sürülmüştür. İlk defa Harper ve Cawston (4) at kanının sulfonamid antagonistlerini nötralize edici bir kudreti bulunduğunu, bu hassasının yalnız at kanında mevcut olduğunu ve eritrositlerle alâkalı olduğundan hemoliz vukuunda tesirin arttığını bildirmişlerdir. Antisulfonamid etkiyi önleyen bu aktivitenin hemoglobine veya 15 dakika 75°C de ısıtılmakla inaktive olabilen bir maddeye ait olduğu düşünülmüştür. İkinci bir fikir de at kanının sulfonamid tesirini kuvvetlendirdiğidir (4, 5). Diğer taraftan bu iki faktörün beraberce rol oynayabildiği (5) ve ayrıca bu kanın ilâvesinin diffüzyon ve üreme üzerine tesir ettiği de söylenmiştir. Bulgularımıza göre bildirilen diğer kanlar da sulfonamid hassasiyet tecrübelerinde muvaffakiyetle kullanılabilir. Her nevi jeloza katılması icabeden kanların yüzdesi değişik olmakla beraber umumiyetle % 5-10 nispeti kabul edilmektedir.

Ekilen bakteri miktarının da sulfonamid hassasiyet tecrübelerinin neticelerine geniş ölçüde tesirli olduğu ve bakteri miktarının arttığı nispette sulfonamid tesirinin azaldığı bildirilmiştir (6, 9).

Ekilen bakterilerin 1000 misli artması ile sulfonamidin bakteriye tesirinin 5-25 defa azaldığı bulunmuştur (15). Bu hususun izahı için bilhassa bazı staphylococcus, streptococcus, pneumococcus ve proteus suşlarının sulfonamid ihtiva eden katı besiyerlerinde ekstrasellüler sulfonamid inhibitörleri teşkil ettikleri iddia edilmiştir (14). Staphylococcus aureus suşlarında bu maddelerin yapılması ile sulfonamid mukavemeti arasında münasebet vardır.

Antisulfonamid tesirli maddelerin muhtelif bakteriler ile yapılan tecrübelerdeki tesirleri de değişiktir. Bu tesire karşı en az hassas olanlar menengococcus, gonococcus (5, 16), pneumococcus (6, 10) ve pseudomonas (5) suşlarıdır; en çok hassas olanlar ise staphylococcus, hemolitik streptococcus, salmonella, shigella, proteus bakterileri ve escherichia grubunun ekserisidir (5, 6, 10, 11). Mikrop nevilerinde bu hassasiyet suştan suşa farklı olabilmektedir. Erlanson'a göre, coliform bakterilerin % 14 ü bu tesire hassas değildir (6). Antisulfonamid maddelere karşı bildirilen bu hassasiyet farklarının in vivo ehemmiyeti belirli değildir.

Hassasiyetleri denenen staphylococcus suşlarının umumiyetle sulfonamidlere hassas oldukları tespit edilmiştir. Buna göre hafif infeksiyonlar sulfonamidler ile tedavi edilebilir ve patojen ajanların antibiyotiklere mukavemet kazanmaları önlenir.

NETİCE

1 — Sulfonamid hassasiyet tecrübelerinde antisulfonamid tesiri olmayan besiyerleri kullanılmalıdır. Besiyerlerine at eritrositleri gibi tavşan, kobay, köpek, tavuk ve insan eritrositleri ilâve edilerek de antisulfonamid tesir kaldırılabilir.

2 — Akut konjunktivit vak'alarından izole ettiğimiz staphylococcus suşları umumiyetle sulfonamidlere hassastır. Bundan dolayı, bilhassa hafif seyreden böyle infeksiyonlar sulfonamidlerle tedavi edilmeli ve âmillerin antibiyotiklere mukavemet kazanmaları önlenmelidir.

SUMMARY

1 — In the sulfonamide sensitivity tests, it is necessary to use media which have no antisulfonamid effect. This effect can be inhibited also with addition of the red cells of rabbit, guinea-pig, dog, chicken and human as well as the red cells of horse.

2 — The strains of staphylococci isolated from the cases of acute conjunctivitis were generally sensitive to sulfonamides. For this reason especially the mild cases of this kind must be treated with sulfonamides and probable antibiotic resistance of the pathogen agents must be prevented.

LİTERATÜR

- 1 — Çetin, E. T., Anđ, Ö., Önöz, E., Töreci, K.: 1958 ve 1959 senelerinde izole ettiğimiz 405 bakteri suşunun sulfonamidlere hassasiyetlerinin denenmesi. Tıp Fak. Mec., 1960
- 2 — Helwig, B.: Neue erkenntnisse auf dem gebiet der chemotherapeutica und glucocorticosteroide. Deutsche Apotheker-Zeitung, 99: 879, 1959.
- 3 — Anđ, Ö.: Akut konjunktivit âmilleri ve antibiyotiklere mukavemetleri. Tez henüz neşredilmedi.
- 4 — Harper, G. J., Cawston, W. C.: The in-vitro determination of the sulphonamide sensitivity of bacteria. J. Path. Bact., 57: 59, 1945.
- 5 — Walker, N., Philip, R. P., Smyth, M. W., McLeod, J. W.: Observation on the prevention of bacterial growth, with special reference to the Harper and Cawston effect. J. Path. Bact., 59: 631, 1947.
- 6 — Erlanson, P.: Determination of the sensitivity in vitro of bacteria to chemotherapeutic agents. Acta. Path. Microb. Scand. suppl. 85, 1951.
- 7 — Chabbert, Y., Boyer, F., Dechavassine, M.: Determination de la sensibilité microbienne aux sulfamides par une méthode de disques séchés. Ann. Inst. Pasteur, 85: 56, 1953.
- 8 — Legler, F., Gerner, G.: Unter welchen Bedingungen sind die Ergebnisse von sulfonamid-Empfindlichkeitsprüfungen für die Praxis werwertbar. Münch. Med. Wschr, 35: 1255, 1957.
- 9 — Rhodes, R. E., McCaughan, J. A.: The determination of bacterial sensitivity to Sulfaethylthiodiazole by the filter paper disc method. Antibio. Chemo., 1: 25, 1957.
- 10 — Nitti, F., Tabone, J.: Etudes sur le pouvoir antisulfamide I.-le comportement de l'acide p-aminobenzoique et des peptones vis-a-vis de quelques espaces microbiennes. Ann. Inst. Pasteur, 68: 360, 1942.

- es of
For
eated
pat-
- 9 se-
dlere
- temo-
eker-
- mu-
- on of
, 57:
- W.:
spe-
Path.
- ro of
crob.
- on de
hode
- d die
r die
57.
- bac-
aper
- le I.-
ones
Pas-
- 11 — McLeod, C. M.: The inhibition of the bacteriostatic action of sulfonamide drugs by substances of animal and bacterial origin. *J. Exp. Med.*, 72: 217, 1940.
 - 12 — Woods, D. D.: The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of the action of sulphanilamide. *Brit. J. Exp. Path.*, 21: 74, 1940.
 - 13 — Frisk, A. R.: Sulfanilamide derivatives. *Acta. Med. Scand. suppl.* 142, 1943.
 - 14 — Pike, R. M., Zimmerman Foster, A.: Demonstration of sulfonamide inhibitor production by bacteria on agar containing sulfonamide. *J. Bact.*, 47: 97, 1944.
 - 15 — Fleming, A.: Observations on the bacteriostatic action of sulphanilamide and M B 693 and on the influence thereon of bacteria and pepton. *J. Path. Bact.*, 50: 69, 1940.
 - 16 — Hagerman, G.: Studien zur chemoresistenz der gonokokken. *Acta. Path. Microb. Scand. suppl.* 46, 1942.
-