

SROVNÁNÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU CEFALOSPORINŮ IN VITRO

Prof. MUDr. Miroslav HEJZLAR, DrSc.

Katedra lékařské mikrobiologie lékařské fakulty hygienické Univerzity Karlovy
v Praze

Úvod

Značná rozdílnost v citlivosti na cefalosporiny jednak uvnitř bakteriálních rodů, jednak mezi jednotlivými deriváty navzájem, jednak v závislosti na různých světových lokalitách vyžaduje nezbytně místní studie a především analýzu citlivosti jednotlivých derivátů na identické sestavě bakteriálních kmenů. V této studii šlo především o vzájemné porovnání účinnosti jednotlivých cefalosporinových derivátů, nikoliv o absolutní hodnoty MIC₉₀, které se mohou lišit v závislosti na místě původu testovaných kmenů, výběru a také na náhodném nahromadění multirezistentních bakterií, které mají dosti často vyšší hodnoty MIC.

Materiál a metody

Velké sestavy kmenů byly testovány standardizovaným diskovým difúzním testem na Mueller-Hinton agaru Imuna při inokulu cca 5 až $8,5 \times 10^6$ /ml. Použili jsme disky vlastní výroby podle chráněného výrobního způsobu. Disky měly ve všech případech obsah 30 mikrogramů antibiotika/disk. Bylo testováno 115 kmenů *Enterobacter* spp., 68 kmenů *Morganella-Providencia*, 247 kmenů *Pseudomonas aeruginosa*. U kmenů *Pseudomonas aeruginosa* byly použity také tyto disky: karbenicilin 100 µg, tikarcilin 50 µg, azlocilin 50 µg, gentamicin, sisomicin, tobramycin, netilmicin vesměs 10 µg, amikacin 30 µg, polymyxin B 300 mj.

Kvantitativní citlivost byla určována mikrometodou s použitím půdy Brain Heart Infusion Oxoid doplněné 1 % IsoVitaleXu a 5 % koňského séra. Příprava vlastních testů prováděna na standardních mikrodestičkách s pomocí poloautomatů firmy Dynatech s použitím 0,2 ml pro jamku média s inokulem i naředěným antibiotikem. U kvantitativní metody byla použita antibiotika dodaná laskavostí výrobců: cefalotin (Spofa), cefazolin (Kefzol) Eli Lilly, cefoxitin (Mefoxin) Merck, Sharp, Dohme, cefuroxim (Zinacef) Glaxo, cefoperazon (Cefobid) Pfizer, ceftriaxon (Rocephin) Roche, cefotaxim (Claforan) Hoechst-Roussell, ceftazidim (Ceftazidime) Glaxo. Jako kontrola sloužila sestava mezinárodních bakteriálních kmenů o známé citlivosti (Hejzlar et al., 1983).

Výsledky

Výsledky diskových testů dokládají tabulky 1—4. První z nich porovnává účinek cefalospo-

rinů všech tří generací na 115 kmenů *Enterobacter* spp. Jednotlivé sloupky označují procento kmenů citlivých k danému derivátu. Zajímavé je, že v diskovém testu je něco více než pětina kmenů citlivá k cefalotinu, přes 60 % k cefazolinu, zatímco k cefalosporinům druhé generace (cefoxitin, cefuroxim, cefamandol) je citlivých asi 60—80 % kmenů. Deriváty třetí generace účinkují téměř na všechny testované enterobaktery.

Rozdíl v účinku jednotlivých generací cefalosporinů je dobře patrný v tabulce 2, prezentující sestavu 68 kmenů *Morganella-Providencia*. Zároveň je zřejmé, že také vůči derivátům třetí generace existuje řada rezistentních kmenů.

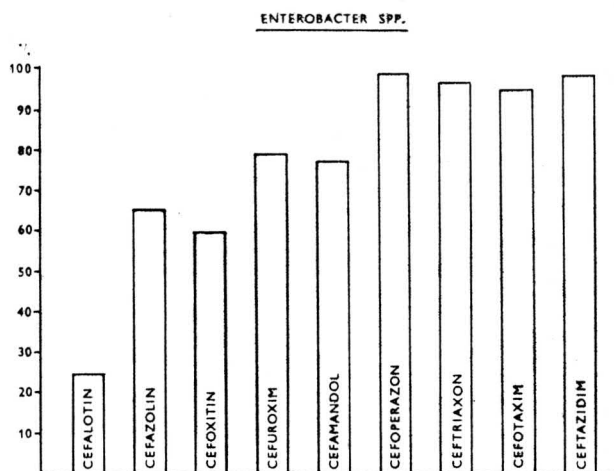
Tabulka 3 dokládá nutnost použití derivátů třetí generace v léčbě pseudomonádových infekcí. Největší počet citlivých pseudomonád, nad 90 % kmenů, mají cefoperazon a ceftazidim, zatímco naopak cefotaxim má největší procento (57,5 %) rezistentních.

Pro srovnání s cefalosporiny testovali jsme řadu penicilínových a aminoglykosidových antibiotik spolu s polymyxinem B na 247 kmenech *Pseudomonas aeruginosa*. Výsledky podává tabulka 4, která ukazuje praktickou neúčinnost karbenicilinu, pod 50 % kmenů citlivých na tikarcilin, azlocilin, gentamicin, sisomicin, kolem 60 % citlivých na tobramycin a suverénní pozici netilmicinu, amikacinu a farmakokineticky méně použitelného polymyxinu B.

Daleko spolehlivější podklady pro srovnání antibakteriální potence cefalosporinů podávají další dvě tabulky, uvádějící minimální inhibiční koncentrace antibiotik postihující 90 % testovaných bakterií. Tabulka 5 ukazuje situace u vybraných gram pozitivních koků, gonokoků a hemofilů. U stafylokoků mají zřetelně nižší MIC deriváty první a druhé generace, což však již neplatí pro streptokoky a pneumokoky. MIC₉₀ pro enterokoky leží mimo hranice terapeutické aplikace, přestože některé individuální kmeny jsou dobře citlivé. MIC₉₀ cefotaximu, ceftriaxonu a ceftazidimu je 10—20krát nižší ve srovnání s MIC₉₀ derivátů první a druhé generace — a to u kmenů *Neisseria gonorrhoeae*. Také na kmeny hemofilů účinkují deriváty třetí generace zřetelně silněji.

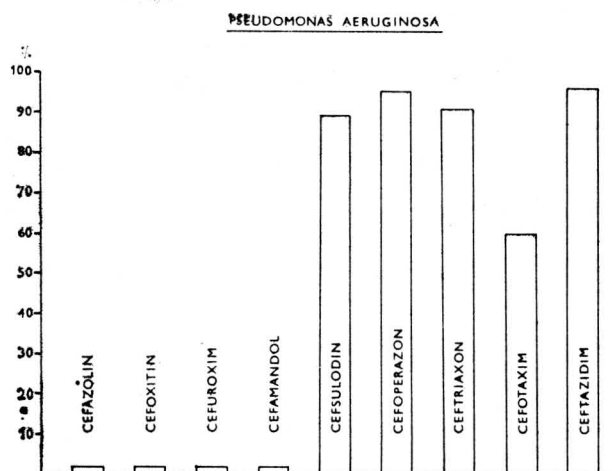
Srovnání účinku cefalosporinů na gramnegativní tyčinkové bakterie podává tabulka 6. Preparáty třetí generace jsou vesměs významně účinnější než obě generace předchozí. Zvláště dobře patrné je to u pseudomonád, enterobakterů, serácií a kmenů skupiny *Morganella-Providencia*.

Tab. 1



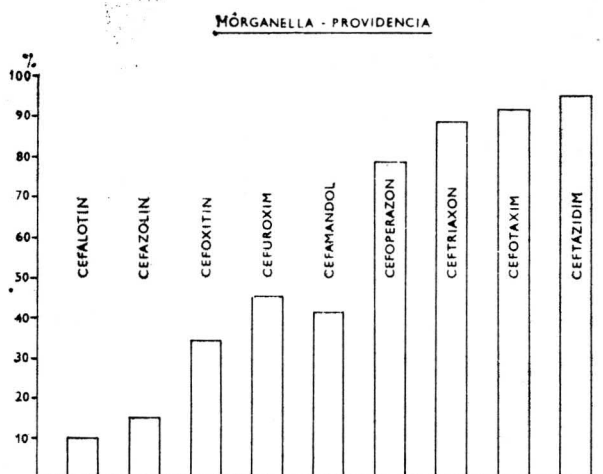
Legenda: v jednotlivých sloupcích znázorněno procento citlivých kmenů *Enterobacter* spp. k devíti cefalosporinům 1.—3. generace (cefalotin a cefazolin 1. gen., cefoxitin, cefuroxim a cefamandol 2. gen., ostatní 3. gen.).

Tab. 3



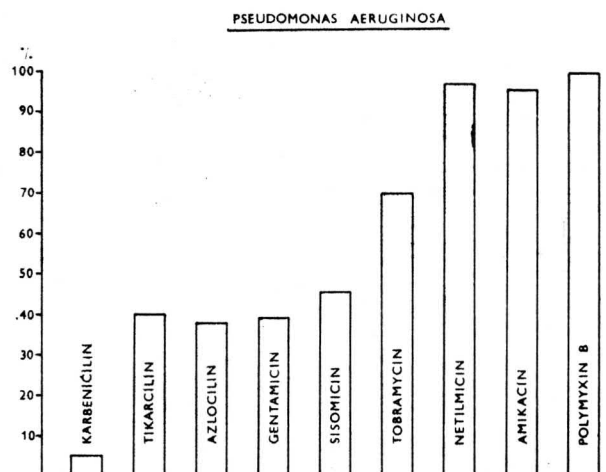
Legenda: v jednotlivých sloupcích znázorněno procento citlivých kmenů *Pseudomonas aeruginosa* k devíti cefalosporinům všech tří generací (cefsulodin patří ke 3. generaci).

Tab. 2



Legenda: v jednotlivých sloupcích znázorněno procento citlivých kmenů rodů *Morganella-Provencia* k devíti cefalosporinům všech tří generací.

Tab. 4



Legenda: v jednotlivých sloupcích znázorněno procento citlivých kmenů *Pseudomonas aeruginosa* k širokospektrým penicilinům, aminoglykosidům a polymyxinu B (slouží k porovnání s tabulkou 3).

Diskuse

Výsledky diskového testu u enterobakterů nejlépe dokládají značnou rozdílnost v citlivosti jednotlivých kmenů, kterou MIC_{90} nepostihuje. Ta totiž signalizuje neúčinnost derivátů prvních dvou generací. Kdybychom chtěli orientačně srovnávat diskový a kvantitativní test, museli bychom použít hodnoty MIC_{50} , která by nám dala lepší relace.

Tam, kde je prakticky úplná necitelnost na některé deriváty, hodnoty MIC_{90} jsou v dobré relaci s diskovým testem. Můžeme to pozorovat u kmenů *Pseudomonas aeruginosa*.

V této práci nejde o srovnávání obou testů citlivosti. Protože diskový difúzní test je velmi

hojně užíván, tabulky 1—4 ukazují, jak vypadá současná situace. MIC_{90} pak dává přesné podklady pro vzájemné srovnání účinnosti jednotlivých cefalosporinových derivátů u nejdůležitějších bakteriálních rodů.

Literatura o cefalosporinech je v současné době téměř nepřehledná. Pro konfrontaci s prezentovanými výsledky uvedu některé práce z poslední doby. O velké individuální variaci MIC u jednotlivých kmenů serácií a pseudomonád se můžeme přesvědčit v práci Buesingové a Jorgensena (Buesing, Jorgensen, 1984). Uvádí seracie citlivé na 0,25—32 mg/l cefotaximu a pseudomonády s MIC 4—32 mg/l cefoperazonu.

Bohatý materiál přináší práce Phillipsova. Na 61 kmenech klebsiel ukazuje rozpětí MIC

Tab. 5

MIC₉₀ vybraných cefalosporinových derivátů u identické sestavy bakteriálních kmenů různých rodů

Rod	Počet kmenů	Inhibiční hodnoty v mg/l pro 90 % testovaných kmenů								
		cefalotin	cefazolin	cefamandol	cefuroxim	cefotaxim	cefoperazon	cefotaxim	ceftriaxon	ceftazidim
Staphylococcus aureus	200	2	3	1,5	2	6	8	6	6	8
Staphylococcus epiderm.	102	2	4	3	4	8	16	12	12	16
Streptococcus spp. skupiny A, B, C, G	100	0,1	0,2	0,1	0,2	1,5	0,5	0,1	0,1	0,25
Streptococcus pneumoniae	81	0,1	0,25	0,5	0,5	1	1	0,25	0,25	0,5
Enterokoky	92	32	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
Neisseria gonorrhoeae	101	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,2	0,05	0,05	0,05
Haemophilus influenzae	47	1	6	4	2	3	0,5	0,05	0,1	0,1

Tab. 6

MIC₉₀ vybraných cefalosporinových derivátů u identické sestavy bakteriálních kmenů různých rodů

Rod	Počet kmenů	Inhibiční hodnoty v mg/l pro 90 % testovaných kmenů								
		cefalotin	cefazolin	cefamandol	cefuroxim	cefotaxim	cefoperazon	cefotaxim	ceftriaxon	ceftazidim
Escherichia coli	200	16	6	6	8	12	4	0,25	0,25	0,25
Klebsiella pneumoniae	53	24	16	16	8	12	4	0,5	0,5	0,5
Proteus mirabilis	50	8	4	8	2	8	4	0,1	0,1	0,1
Proteus vulgaris	42	>64	64	24	32	32	2	0,1	0,1	0,1
Morganella-Providencia	41	>64	>64	>64	>64	>64	2	0,25	0,5	0,5
Pseudomonas aeruginosa	103	>64	>64	>64	>64	>64	16	64	32	4
Serratia marcescens	30	>64	>64	>64	>64	>64	12	1	2	0,5
Enterobacter spp.	60	>64	>64	>64	64	>64	8	2	1,5	1

cefotaximu od 0,004 do 2 mg/l, MIC cefoxitinu od 0,5 do 128 mg/l. Podobně na 60 kmenech enterobakterů ukazuje MIC cefotaximu 0,03 až 128 mg/l, MIC cefoxitinu 2—>128 mg/l (Phillips et al., 1983).

Bohatý materiál přináší i jiná práce. Například na 200 kmenech *Ps. aeruginosa* ukazuje rozmezí MIC cefotaximu od 8 do 256 mg/l, MIC 0,016—8,0 mg/l cefotaximu u *E. coli*. Pro kmeny *Proteus mirabilis* je MIC cefamandolu 0,25 až 64 mg/l, MIC cefalotinu 2—>128 mg/l (Bauernfeind, 1983).

Morel aj. udává MIC₉₀ u *E. coli* pro cefalotin 32 mg/l, pro cefoxitin 6 mg/l, pro cefuroxim 4 mg/l, pro cefotaxim <0,12 mg/l (Morel et al., 1983).

Západoněmecký autor Grim uvádí například hodnoty MIC₉₀ cefoperazonu u *E. coli* 0,5 mg/l, u klebsií 2 mg/l, u enterobakterů 32 mg/l, u se-

rácií 32 mg/l, u *P. mirabilis* 2 mg/l, u morganel 8 mg/l, u *Ps. aeruginosa* 8 mg/l, u enterokoků 32 mg/l (Grimm, 1983).

Solidní sestavu kmenů testoval i Shah a uvádí tyto MIC₉₀ pro *E. coli*: u cefazolinu 64 mg/l, u cefotaximu 1 mg/l, u cefoperazonu 16 mg/l, u ceftazidimu 2 mg/l. MIC₉₀ pro *Serratia marcescens* u cefazolinu >128 mg/l, u cefotaximu 8 mg/l, u cefoperazonu >128 mg/l, u ceftazidimu 8 mg/l. MIC₉₀ pro 64 kmenů *Staphylococcus aureus* uvádí Shah u cefazolinu 1 mg/l, u cefotaximu 4 mg/l, u cefoperazonu 8 mg/l, u ceftazidimu 32 mg/l (Shah, 1983).

Chandrasekar aj. sledovali MIC₉₀ na sestavě 50 kmenů *Ps. aeruginosa* a našli tyto hodnoty: cefoperazon 16 mg/l, cefsulodin 16 mg/l, cefotaxim 64 mg/l, tikarcilin 64 mg/l (Chandrasekar et al., 1984).

Zajímavé informace můžeme najít také u nor-

ských autorů (Digranes et al., 1984). Na 48 kmenech *E. coli* stanovili tyto MIC₉₀: cefalotin >64 mg/l, cefuroxim 16 mg/l, ceftazidim 1 mg/l. Na 25 kmenech enterobakterů stanovili MIC₉₀: cefalotin >64 mg/l, cefuroxim 32 mg/l, ceftazidim 0,25 mg/l. MIC₉₀ pro 48 kmenů *Ps. aeruginosa* byla u ceftazidimu 4 mg/l, zatímco pro 30 kmenů *Staphylococcus aureus* 8 mg/l (Digranes et al., 1984).

Také Gordon aj. testovali řadu laktamových antibiotik a stanovili MIC₉₀ cefamandolu pro *E. coli* 1,6 mg/l, *Kl. pneumoniae* 1,6 mg/l, *Enterobacter aerogenes* 12,5 mg/l, *Ent. cloacae* 200 mg/l, *P. mirabilis* 1,6 mg/l. MIC₉₀ cefoxitinu pro *E. coli* byla 6,2 mg/l, pro *Kl. pneumoniae* 12,5 mg/l, pro enterobaktery >400 mg/l, pro *P. mirabilis* 6,2 mg/l a pro *Ps. aeruginosa* netestována. U cefotaximu nepřekročila MIC₉₀ pro různé kmeny 0,8 mg/l, jen u pseudomonád odpovídala 50 mg/l (Gordon et al., 1984).

Domnívám se, že uvedené příklady stačí pro dokumentaci toho, že různé sestavy bakteriálních kmenů dávají rozdílné výsledky MIC₉₀, případně i rozpětí MIC. V podstatě souhlasný je však trend citlivosti u jednotlivých generací cefalosporinů, který dokumentuje i tato práce.

Souhrn

Standardizovaným diskovým difúzním testem na půdě Mueller-Hinton agar Imuna testováno 115 kmenů rodu *Enterobacter*, 68 kmenů rodu *Morganella-Providencia*, 247 kmenů rodu *Pseudomonas aeruginosa* na citlivost vůči 9 cefalosporinům všech tří generací. Celkem 1302 kmenů gram pozitivních i gram negativních bakterií bylo testováno kvantitativní mikrometodou na 9 cefalosporinů a stanovena MIC₉₀. Výsledky potvrdily 10–20krát vyšší účinek cefalosporinů třetí generace na gram negativní bakterie, v individuálních případech i 100krát vyšší, a to ve srovnání s deriváty prvních dvou generací. Diskový test ukázal často účinek cefalosporinů třetí generace také u pseudomonád rezistentních na aminoglykosidy a peniciliny.

Literatura

1. BAUERNFEIND, A.: Cefotetan: profile of in vitro activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11, 1983, Suppl. A, s. 19–29.
2. BUESING, M. A. - JORGENSEN, J. H.: In vitro activity of aztreonam in combination with newer β -lactams and amikacin against multiply resistant gram-negative bacilli. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 25, 1984, č. 2, s. 283–285.
3. DIGRANES, A. - DIBB, W. L. - BENONISEN, E.: Cefazidime: in vitro comparison with cephalothin, cefuroxime, and netilmicin. *Chemotherapy*, 30, 1984, č. 2, s. 113–118.
4. GORDON, R. C. - TACK, K. J. - HADDY, R. J. - FECHNER, L. - WOFFORD, R.: Antibiotic susceptibility of community hospital blood culture isolates of Gram-negative bacilli. *Chemotherapy*, 30, 1984, č. 1, s. 40 až 43.
5. GRIMM, H.: Susceptibility of bacterial pathogens to cefotetan judged by MIC and disc tests. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11, 1983, Suppl. A, s. 37–43.
6. HEJZLAR, M. et al.: Cefoperazon — aktivita in vitro. *Čs. epidemiologie, mikrobiologie a imunologie*, 32, 1983, č. 2, s. 82–86.
7. HEJZLAR, M. - KITTNAR, E.: Cefazidim — antibakteriální profil. Československý chemoterapeutický kongres s mezinárodní účastí, Intercontinental Praha, duben 1984, sdělení.
8. HEJZLAR, M. - PELLAR, T. - ŠILAROVÁ, J. - KITTNAR, E. - VYHNÁLEK, J. - HAVLÍK, J. - PROCHÁZKA, M.: Antibacterial activity of third generation cephalosporins. *Proceedings from the 13th Internat. Congress of Chemotherapy, Vienna 1983, PS 2.11/2, s. 15 až 18.*
9. CHANDRASEKAR, P. H. - SCHELL, R. F. - LEFROCK, J. L. - ROLSTON, K. V. I. - FRANCISCO, M.: Activity of cefsulodin, other β -lactams, and aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy*, 30, 1984, č. 3, s. 165–169.
10. MOREL, C. - VERGNAUD, M. - LANGEARD, M. M. - DUPUY, L.: Cefotetan: comparative study in vitro against 226 Gram-negative clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11, 1983, Suppl. A, s. 31–36.
11. PHILLIPS, I. - KING, A-S. K. - WARREN, Ch.: Cefotetan: in vitro antibacterial activity and susceptibility to β -lactams. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11, 1983, Suppl. A, s. 1–9.
12. SHAH, P. M.: In vitro activity of cefotetan, other β -lactams and netilmicin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11, 1983, Suppl. A, s. 73–78.

Klíčová slova: Cefalosporiny; Aktivita in vitro; Diskový test; MIC₉₀.