



**T. C.  
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DAPTOMİSİNİN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS İZOLATLARINDA İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Vet. Hekim Gülin Özge DİLER**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Fırat Zafer MENGELOĞLU**

**Şubat 2016  
BOLU**

Abant İzzat Baysal Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

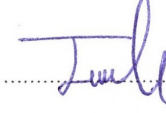
Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. F. Zafer MENGELOĞLU (Danışman)  
(Mikrobiyoloji AD, AİBÜ SABE)



Doç. Dr. Tekin TAŞ  
(Mikrobiyoloji AD, AİBÜ SABE)



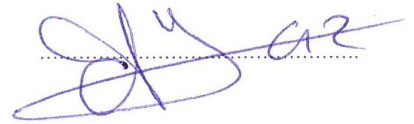
Yrd. Doç. Dr. Recep BAYRAM  
(Farmakoloji AD, AİBÜ SABE)



Tarih: 02 /03/2016

Bu Tez ile AİBÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Vet. Hekim Gülin Özge DİLER'in Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Erol AYAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## ÖZET

### DAPTOMİSİNİN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARINDA IN VITRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

*Staphylococcus aureus* toplumda ve hastanede edinilen önemli enfeksiyonlara yol açan etkenlerden biridir. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) tedavisinde glikopeptidler ilk önerilen antibiyotiklerdendir. Glikopeptidlerin eradikasyondaki yetersizliği, yan etkileri ve metisiline dirençli stafilokokların beta-laktamlara dirençli olması nedeniyle alternatif antibiyotiklerin araştırılmasına gidilmiştir.

**Amaç:** Bu çalışmada MRSA izolatlarında mikrodilüsyon yöntemi ile daptomisinin in vitro etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 MRSA suşu çalışmaya dahil edildi. Bu izolatlar konvansiyonel yöntemler kullanılarak ve BD Phoenix 100 otomatize bakteri tanımlama sistemi (Beckton Dickinson, Sparks, MD, ABD) ile tür düzeyinde tanımlandı. Daptomisinin MRSA suşlarına karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanmasında sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda MRSA suşlarının tümü daptomisine duyarlı bulundu. Daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,50 µg/ml olarak saptandı. İzolatların MİK değer aralığı 0,25-0,50 µg/ml olarak belirlendi. Ayrıca, MRSA suşlarının tümü linezolidde duyarlı bulundu. En yüksek direnç oranları ofloksasin ve gentamisine (%87,5) karşı saptandı.

**Sonuç:** MRSA'nın etken olduğu enfeksiyonlarda ilk tedavi seçeneği olan glikopeptid grubu antibiyotiklere karşı azalmış duyarlılık oranları rapor edilmektedir. MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif ajanlar araştırılmaktadır. Daptomisin MRSA tedavisinde son yıllarda kullanılmaya başlanmış olan bir antimikrobiyaldir. Çalışmamızda daptomisinin MRSA suşlarında in vitro olarak oldukça etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen verilerin daptomisinin MRSA'ya etkinliği konusunda literatüre bölgesel katkı vereceği ve daptomisinin MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde halen çok etkili bir antibiyotik olduğu kanaatine varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** MRSA, Daptomisin direnci, *S. Aureus*

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF IN VITRO ACTIVITY OF DAPTOMYCIN AGAINST METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES

*Staphylococcus aureus* is one of the important factors causing community- and hospital-acquired infections. So far, glycopeptides have been the primary antibiotics suggested in the treatment of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). Due to several factors such as the inadequacy of glycopeptides in eradication, their side effects, and the fact that methicillin-resistant staphylococci are beta lactam resistant, the search for alternative antibiotics has been initiated.

**Purpose:** This study aims to determine the in vitro activity of daptomycin in MRSA isolates with the use of microdilution method.

**Materials and Methods:** A total of 40 MRSA strains isolated from several clinical specimens were analyzed. These isolates were identified in the species level using conventional methods and BD Phoenix 100 automated microbial identification system (Beckton Dickinson, Sparks, MD, USA). Broth microdilution method was used to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) values of daptomycin against MRSA strains.

**Findings:** All MRSA strains analyzed in the study were found to be susceptible to daptomycin, with daptomycin MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values of 0,25 µg/ml and 0,50 µg/ml, respectively. The MIC value range of isolates were determined to be 0,25-0,50 µg/ml. It was also found that all of the MRSA strains in question were linezolid-susceptible. The highest resistance levels were against ofloxacin and gentamicin (87.5%).

**Conclusion:** Previous research suggests that there has been a decrease in susceptibility to glycopeptide antibiotics, which have been the first choice in the treatment of infections where MRSA activity occurs. Therefore, there is a search for alternative agents for the treatment of MRSA infections. Daptomycin is an antimicrobial agent used in MRSA treatment in recent years. In this study, based on the fact that in vitro daptomycin was found to be highly effective against MRSA strains, it can be suggested that daptomycin still proves effective in the treatment of

MRSA infections. It is hoped that the findings of this study will make a valuable local contribution to the relevant literature.

**Key words:** MRSA, Daptomycin resistance, *S. aureus*



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin dolu dolu geçmesini sağlayan bilgi ve tecrübelerine her zaman ihtiyaç duyduğum değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Fırat Zafer MENGELOĞLU'na;

Eğitimim boyunca örnek alıp, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Erol AYZAZ'a;

Her zaman gelecekteki hedeflerime ve seçimlerime ışık tutan ve bilimsel araştırmalarımın katkı sağlayan Anabilim Dalımız Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Tekin TAŞ'a;

Yüksek lisans eğitimim sırasında uyum ve huzur içinde çalışma ortamı sağlayan biyolog, asistan, laborant ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma;

Manevi desteği ile yanımda olduğunu bildiğim değerli hocam ve ağabeyim Doç. Dr. Serkal GAZYAĞCI'ya ve ailesine;

Hayatımın her aşamasında sevgi ve güvenlerini hissettiğim çok değerli anneciğim ve babacığım eğitimim süresince sabır ve anlayışla destekleyen sevgili eşim Eren DİLER ve Dünya tatlısı oğlum Çağatay Tuna DİLER'e;

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürler.

**Vet. Hekim Gülin Özge Diler**

**Bolu -2016**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ONAY SAYFASI</b> .....	ii
<b>ÖZET</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	vi
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	x
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	xi
<b>KISALTMALAR</b> .....	xii
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Stafilokok Türleri.....	3
2.2. Tarihçe.....	3
2.3. Sınıflandırma.....	5
2.4. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	5
2.5. Üreme ve Kültür Özellikleri.....	6
2.6. Biyokimyasal Özellikleri.....	6
2.7. Virulans Faktörleri.....	7
2.7.1. Enzimler.....	7
2.7.2. Katalaz.....	7
2.7.3. Koagülaz.....	7
2.7.4. Lipaz.....	8
2.7.5. Hiyalüronidaz.....	8
2.7.6. Deoksiribonükleaz (DNaz).....	8
2.7.7. Beta-laktamaz (penisilinaz).....	8
2.7.8. Slime faktör.....	8
2.7.10. Fibrinolizin (Stafilokinaz).....	9
2.7.11. Fosfatidilinozitol – Spesifik Fosfolipaz C.....	9
2.7.12. Toksinler.....	9
2.8.1. Teikoik asit.....	12
2.8.2. Protein A.....	12
2.8.3. Kapsül.....	13

2.9. Epidemiyoloji .....	13
2.9.1. MRSA'nın epidemiyolojisi, kolonizasyonu ve risk faktörleri .....	13
2.9.2. Stafilokokların neden olduğu infeksiyonlar.....	14
2.9.2.1. İnvaziv hastalıklar .....	15
2.9.2.2. Toksinlere bağlı olarak gelişen MRSA infeksiyonları.....	18
2.10. Patogenez.....	19
2.11. MRSA İnfeksiyonlarının Tedavisi .....	20
2.11.1. Tedavide daptomisin'in yeri.....	17
2.12. Staphylococcus aureus cinsi bakterilerde direnç mekanizmaları .....	18
2.12.1. Penisilin direnci.....	18
2.12.2. Metisilin direnci .....	18
2.12.3. Glikopeptit Direnci .....	19
2.12.4. Makrolid –Linkozamid-Streptogramin direnci.....	19
2.12.6. Aminoglikozid direnci .....	20
2.12.7. Tetrasiklin direnci .....	20
2.12.8. Rifampin direnci.....	20
2.12.9. Daptomisin direnci .....	20
2.13.1. Gram boyama ve mikroskopik inceleme .....	21
2.13.2. Katalaz testi .....	21
2.13.3. Koagülaz testi.....	21
2.13.4. Lam koagülaz testi .....	21
2.13.5. Tüp koagülaz testi .....	22
2.13.6. Mannitol hidrolizi.....	22
2.13.7. Protein A saptanması .....	22
2.13.8. Deoksiribonükleaz (DNaz) testi.....	22
2.13.9. Hızlı termonükleaz testi .....	23
2.14. Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direncini saptamaya yönelik yöntemler .....	23
2.14.1. Fenotipik yöntemler .....	23
2.14.1.1. Disk difüzyon yöntemi.....	24
2.14.1.2. Sulandırım dilüsyon yöntemleri.....	24
2.14.1.3. Agar dilüsyon .....	24



2.14.1.4. Epsilometrik yöntem .....	24
2.14.2. Genotipik yöntemler.....	25
2.16. MRSA İnfeksiyonlarının Kontrolü.....	26
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>28</b>
3.1.1. İzolatların tanımlanması.....	28
3.1.2. İzolatların antibiyotik direncinin saptanması.....	28
3.1.2.1. Sefoksitin disk difüzyon yöntemi: .....	28
3.1.2.3. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerinin belirlenmesi .....	30
3.3. Antibiyotik stok solüsyon hazırlanması .....	31
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>34</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>37</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>44</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>45</b>
8. EKLER.....	56
EK-1 ETİK KURUL ONAYI.....	57
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>54</b>

## TABLO LİSTESİ

Tablo	Sayfa
<b>Tablo 2.1.</b> Virulans faktörleri ve Patojeniteleri.....	7
<b>Tablo 2.2.</b> İnsanda sık infeksiyon oluşturan stafilokok türlerinin ayırımı.....	23
<b>Tablo 3.1.</b> <i>S. aureus</i> suşlarının CLSI tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çapları ve MİK değerleri.....	30
<b>Tablo 4.1.</b> İzolatların elde edildiği kliniklere göre dağılımı.....	34
<b>Tablo 4.2.</b> İzolatların elde edildiği klinik örneklerle göre dağılımı.....	34
<b>Tablo 4.3.</b> MRSA suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları.....	35
<b>Tablo 4.4.</b> MRSA izolatlarındaki Daptomisin MİK değerleri.....	35
<b>Tablo 4.5.</b> MRSA izolatlarının Daptomisin MİK değerlerine göre dağılımları.....	35
<b>Tablo 4.6.</b> İzole edilen MRSA suşlarının MİK değerleri ve duyarlılık değerlendirilmesi.....	36
<b>Tablo 5.1.</b> Türkiye’de ve dünyada yapılmış çalışmalarda <i>S. aureus</i> kökenlerinde saptanan daptomisin MİK değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )’nin yıllara göre dağılımları.....	42

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. İnkübasyon sonrası mikroplak örneği.....	32
Şekil 3.2. Tüm koyucuklara daptomisin konsantrasyonunun eklendiği mikroplak örneği.....	33



## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>CFU/ML</b>	: Mililitre başına koloni oluşturan birim sayısı
<b>CLSI</b>	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu
<b>DYDE</b>	: Deri ve yumuşak doku infeksiyonu
<b>EARSS</b>	: Avrupa Antibiyotik Direnci Gözetleme Sistemi
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>GISA</b>	: Glikopeptidlere orta derecede dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>HIV</b>	: İnsan immün yetmezlik virüsü
<b>hVISA</b>	: Vankomisine heterojen orta derecede dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>KDYDE</b>	: Komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonu
<b>KİT</b>	: Kemik iliği transplantasyonu (Kök hücre transplantasyonu)
<b>KNS</b>	: Koagülaz Negatif Stafilokoklar
<b>MHA</b>	: Müller Hinton Agar
<b>MIC</b>	: Minimal inhibitör konsantrasyonu
<b>MİK</b>	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
<b>MRKNS</b>	: Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok
<b>MRSA</b>	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSSA</b>	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>NAMA</b>	: N-Asetil muramik Asit
<b>PBP</b>	: Penisilin bağlayan protein/transpeptidaz
<b>PBP2a</b>	: Penisilin bağlayan protein 2a
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PFGE</b>	: Darbeli Alan Jel Elektroforezi
<b>S. aureus</b>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>VISA</b>	: Vankomisine orta derecede dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>VRE</b>	: Vankomisine rezistan enterokok
<b>VRSA</b>	: Vankomisine rezistan <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>YBÜ</b>	: Yoğun Bakım Üniteleri

# 1. GİRİŞ ve AMAÇ

*Staphylococcus aureus* toplumda ve hastanede edinilen infeksiyonlara yol açan en önemli infeksiyon etkenlerinden biridir. Genellikle deri ve yumuşak doku olmak üzere, derin doku infeksiyonları, bakteriyemi, solunum ve üriner sistem infeksiyonlarına yol açmaktadır (1).

*S. aureus* kaynaklı infeksiyonların en önemli sorunlardan biri antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençtir. Uygunsuz antibiyotik kullanımları yeni antibiyotiklere karşı direncin çok kısa zamanda gelişmesine neden olmaktadır (1, 2).

Alexander Fleming penisilini bulması ve penisilin üretiminin başarılması ile stafilokokal infeksiyonlarının önemli bir bölümü kontrol altına alınmıştır. Fakat penisilin yaygın kullanılmasıyla 1940'lerde penisilinaz üreten stafilokok suşları izole edilmiştir. 1961 yılında ise stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmıştır. 1970'li yıllardan itibaren de metisiline dirençli *staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında multiple antibiyotik direnci gelişmiştir (3).

Dünya genelinde gram pozitif mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlar gittikçe yaygınlaşmaktadır (4). Metisilin direnç oranlarındaki artışa bağlı olarak MRSA infeksiyonlarının giderek artması, MRSA izolatları arasında vankomisine olan duyarlılığın azalması veya vankomisine dirençli suşların ortaya çıkması, *S. aureus* infeksiyonlarının öneminin daha iyi anlaşılmasına zemin hazırlamıştır (5).

*S. aureus* dünyanın birçok bölgesinde en yaygın enfektif endokarditin nedenini oluşturmaktadır. Ayrıca, Amerika Birleşik Devletleri'nde bakteriyemiye koagülaz negatif stafilokoklardan (KNS) sonra ikinci sıklıkta neden olduğu bildirilmektedir (6).

MRSA tedavisinde glikopeptidler ilk önerilen antibiyotik olup, glikopeptidlerin eradikasyondaki yetersizliği, yan etkileri ve metisilin dirençli stafilokokların beta-laktamlara da dirençli olması alternatif antibiyotiklerin araştırılmasına neden olmuştur (7, 8).

Daptomisin; komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonları, *S. aureus* bakteriyemisi ve sağ kalp infektif endokarditi için iyi bir alternatif ajandır (8). Klinik kullanıma son zamanlarda giren daptomisin *Streptomyces roseosporus* tarafından üretilen siklik lipopeptid yapıda bir antibiyotiktir. Metisiline dirençli stafilokok türleri, glikopeptidlere orta duyarlı *S. aureus*'lar (GISA), penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae* ve vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) bu ajana duyarlılardır (9-11).

Bu alışmada Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinin çeşitli servislerinde yatmakta olan hastalardan klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilen metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında daptomisinin in vitro etkinliğinin mikrodilasyon yöntemi ile belirlenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Stafilokok Türleri

Micrococcaceae ailesinin üyesi olan Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, çoğunlukla kapsülsüz, mannitolü fermente eden fakültatif anaerob bakterilerdir. Koyun kanlı (%5) agarda beta-hemolitik, sarı pigment yapan, katalaz, koagülaz ve deoksiribonükleaz (DNAz) pozitif koklardır (12, 13).

**Mikroskopik olarak:** Tek tek, üzüm salkımı ya da kısa zincirler halinde dizilim gösterirler (12, 14, 15).

**Bakteri genomu:** Antibiyotik direnci ve bakteri virülansından sorumlu olan genler bu kromozomal yapılar üzerinde bulunabilir (16).

**Hücre Duvarı:** Yapısında bulunan peptidoglikanın üretilmesi için monomerik komponentler (mürein monomer) hücre içinde sentezlenmelidir. Sitoplazmik membranda bulunan lipid taşıyıcılar tarafından hücre dışına taşınmalı ve sonra penisilin bağlayan protein (PBP), yeni sentezlenmiş peptidoglikanı *S. aureus*'un daha önceden sentezlenmiş olan peptidoglikan tabakalarına bağlarlar (17).

**Yüzey Proteinleri:** Protein A, clumping faktör, elastin, kollajen ve fibronektin bağlayan proteinler bakterilerin konak dokularında kolonize olmasında önemli faktörlerden biridir (18).

### 2.2. Tarihçe

Stafilokokları ilk olarak 1878'de Robert Koch ışık mikroskopunda tanımlamış olup İskoçyalı cerrah Alexander Ogston 1880 yılında da bu mikroorganizmaların yüzeyel süpüratif inflamasyona, septisemiye yol açabileceğini açıklayarak patojenitelerini vurgulamış, bu mikroorganizmalara üremeleri sırasında birbirlerinden ayrılmayıp, üzüm salkımına benzeyen düzensiz kümeler oluşturmaları sonucu *Staphylococcus*" (Staphyle: üzüm salkımı) adını vermiştir. Aynı yıl Pasteur sıvı besiyerinde üretmiştir. Rosenbach 1884'te ilk kez insandan izole etmiş stafilokoların saf kültürünü yapmış ve karakteristik özellikleri inceleyerek, katı besi

yerinde beyaz ve sarı renkli koloniler oluşturan iki farklı stafilocok türünü izole etmiştir. Beyaz renkli koloniler *Staphylococcus albus*, sarı-portakal renkli koloniler ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirilmiştir (1, 19).

Alexander Fleming'in 1928'de penisilini bulması ve 1940'da Florey ve Chain tarafından penisilin üretiminin başarılması ile tedavide aşama kaydedilmiştir. 1941 yılında bu etkenin klinikte kullanılmasıyla infeksiyonların prognozu belirgin ölçüde değişmiştir. Ancak 1944 yılında Kirby ilk kez penisilinaz üreten stafilocokları bildirmiştir. 1960'lı yılların sonunda ise hastanelerden ve toplumdan izole edilen suşların %80'den fazlası metisilin, oksasilin, nafsilin gibi yarı sentetik penisilinlere dirençli hale gelmiştir (20, 21).

Penisilinaza dirençli ilk semisentetik antimikrobiyal ajan olan metisilin 1959 yılında klinikte kullanılmış ancak 1961 yılında İngiltere'de ilk metisiline dirençli *S. aureus* suşu tespit edilmiştir (22, 23).

MRSA suşları 1960'lı yıllarda Avrupa'da, 1970'li yıllarda ABD'de sorun teşkil etmiştir. 1970'li yılların sonu ile 1980'li yılların başlarından itibaren de MRSA suşlarında çoklu antibiyotik direnci gelişmeye başlamıştır (23).

MRSA suşları özellikle 1980'li yıllarda hastane kaynaklı salgın etkeni olarak bildirilirken; kinolonlar, klindamisin, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, aminoglikozidler, trimetoprim/sulfametoksazol ve rifampisin gibi antibiyotiklere karşı çoklu direnç ile sık karşılaşılmıştır (24, 25).

Çoklu direnç gösteren MRSA suşlarına bağlı infeksiyon probleminin artmasıyla birlikte vankomisin, stafilocokal nozokomiyal infeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak 1995'de Fransa'da (26), 1996'da Japonya'da (27), 1997 yılı içinde ABD (28), Hong Kong (29) ve Kore'de (30) vankomisine azalmış duyarlılığı (VISA: Vancomycin intermediate *S. aureus*) gösteren MRSA suşlarının izole edilmesi direnç sorununun ne kadar önemli olduğunu kanıtlamıştır. Yeni antibiyotiklerden linezolid ilk kez 2000 yılında klinik kullanıma girmiştir. Linezolide ilk direnç 2001 yılında gelişmiştir (31) ve aynı şekilde vankomisine ilk direnç 2002 yılında ABD'de diyaliz tedavisi gören 40 yaşındaki bir erkek hastanın kateter ucundan izole edilmiştir (32).



### 2.3. Sınıflandırma

Daha önceleri “Micrococcaceae” ailesi içinde sınıflandırılan stafilokoklar moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte birbirlerinden farklı oldukları gösterilmiştir. Son dönemlerde yapılan genetik çalışmalar ve kemotaksonomik analizler ile stafilokok türleri Staphylococcaceae ailesi içinde Genus I olarak sınıflandırılmıştır (33, 34).

*Staphylococcus* cinsinde 33 tür elde edilmiştir. Bu türlerden 17 tanesi insan örneklerinden izole edilmiştir (34).

Fenotipik özellikleri ve DNA ilişkisine göre en az dört grupta toplanabilirler (34).

1. *S. epidermidis* grubunda; *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* türleri, *S. saccharolyticus*,
2. *Staphylococcus simulans* grubunda; *S. simulans* ve *S. carnosus*,
3. *Staphylococcus sciure* grubunda; *S. sciure* ve *S. lentus* türleri,
4. *S. saprophyticus* grubunda; *S. saprophyticus*, *S. cohnii* ve *S. xylosus* türleri yer almaktadır.

*S. aureus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus caseolyticus*, *Staphylococcus hycus* herhangi bir gruba dahil edilmemiştir.

Stafilokoklar insanlarda patojen olabilme özelliklerine göre 3'e ayrılabilir (34);

1. Sık patojenler: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*
2. Seyrek patojenler: *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *S. cohnii*, *S. simulans*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. capitis*.
3. Nadir patojenler: *S. auricularis*, *S. xyloides*

### 2.4. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Stafilokoklar; 0,50-1,5 µm çapında, Gram pozitif, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, zorunlu anaerop olan *S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *anaerobius*

dışında fakültatif anaerop olup genellikle katalaz pozitif (*S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *anaerobius* hariç), oksidaz negatif (*S. sciuri*, *S. lentus* ve *S. vitulinus* hariç), kapsülsüz mikroorganizmalardır. Katı besiyerinde bölünebilme özellikleri nedeni ile çoğunlukla üzüm salkımı şeklinde düzensiz kümeler oluştururlar. Pürülan örnek içinde, infekte vücut sıvılarında veya sıvı besiyerlerinde morfolojik özellikleri üçlü-dörtlü kısa zincir yapan koklar şeklinde değişmektedir. Bu görünümleri ile streptokoklara benzeyen stafilokokların ayrımı katalaz testinin pozitif olması ile yapılabilmektedir (1, 19, 35).

Genellikle %7,5-10 NaCl içeren besiyerlerinde, 18-45<sup>0</sup>C'de kolaylıkla üreyebilen bu bakteriler için optimal üreme ısı 37<sup>0</sup>C olmakla birlikte, *S. aureus*'un pigment oluşumu için en uygun ısı 20-25<sup>0</sup>C'dir (36).

## 2.5. Üreme ve Kültür Özellikleri

Kanlı agar, nutrient agar, triptik soy agar veya beyin kalp infüzyon agar gibi besiyerlerinden izole edilen stafilokok türleri 30-37<sup>0</sup>C'de 18-24 saat içinde 1-3 mm çapında koloni oluştururlar ve krem veya sarı-portakal rengi pigmentte, S tipi, hafif kabarık, yuvarlak olup kanlı agarda beta hemolizi şekillendirirler (1, 19).

*S. aureus*'un kanlı besiyerinde, pigmentsiz, küçük ve hemoliz oluşturmayan koloniler şeklinde üreyen koloni varyantları da tanımlanmıştır (1).

## 2.6. Biyokimyasal Özellikleri

*S. aureus* suşları koagülaz pozitifdir. Stafilokoklar glukozu fermantatif olarak parçalarken son ürün olarak laktik asit meydana getirirler. Ayrıca laktoz, sükröz, mannoz, trehaloz ve maltozu da fermente ederken mannitolu sadece *S. aureus* fermente edebilir (37).

Stafilokokların çoğunluğu %7,5-10 NaCl içeren basit besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilirler. Suşların optimal üreme ısıları 30-37<sup>0</sup>C ve pH'ları 7-7,5 arasındadır. Furazolidon ve lizostafine, dezenfektan ve antiseptiklere, kuarterner amonyum klorür bileşiklerine, alkol, iyot gibi antiseptiklere duyarlı, basitrasin ve lizozime dirençlidir. (1, 35).

**Tablo 2.1. Virulans faktörleri ve patojeniteleri**

<b>Virülans Faktörleri</b>	<b>Etkileri</b>
Kapsül	Antifagositik etki, adezyon
Protein A	IgG molekülünün Fc kısmına bağlanma
Sitotoksinler	Farklı hücreler üzerine sitolitik etki
Eksfoliatif toksin	Hücreler arası bağlarının kırılması
Enterotoksinler	Besin zehirlenmesi
Toksik şok sendromu toksini -1	Süperantijen
Katalaz	Hidrojen peroksitin parçalanması
Koagülaz	Fibrinojenin fibrine çevrilmesi
Hyalüronidaz	Hyalüronik asitin parçalanması
Fibrinolizin	Oluşan pıhtının parçalanması
Lipaz	Lipitlerin parçalanması
Nükleaz	Nükleik asitlerin parçalanması
Beta-laktamaz	Beta-laktam antibiyotiklerin hidrolizi

## **2.7. Virulans Faktörleri**

### **2.7.1. Enzimler**

*S. aureus*, koagülaz, katalaz, hyalüronidaz, fibrinolizin, lipaz, nükleaz, penisilinaz gibi çeşitli enzimleri ile bakterinin yakın dokulara yayılımını kolaylaştırıp enfeksiyonun patogeneğinde görev alır (38).

### **2.7.2. Katalaz**

Stafilokoklar (*S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *anaerobius* hariç) tarafından üretilen toksik hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), toksik olmayan oksijen ve suya ayrıştıran enzimidir (19).

### **2.7.3. Koagülaz**

Stafilokoklar tarafından üretilen bir plazma pıhtılaşma proteinidir. Serbest koagülaz ve bağlı (clumping factor) koagülaz olmak üzere 2 çeşittir. Koagülaz pozitif stafilokoklar üzerinde oluşan kalın fibrin tabakası, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojen özelliğini artırır (19).

#### **2.7.4. Lipaz**

Tüm stafilokoklar yağları hidrolize ederek vücuttaki lipid içeren bölgelerde yaşarlar. Yüzeysel dokuları invaze ederek fronkül ve karbonkül gibi infeksiyonlar meydana getirirler (19,39).

#### **2.7.5. Hiyalüronidaz**

Konak bağ dokusu matriksinde bulunan, asit mukopolisakkaritlerden olan hiyalüronik asiti hidrolize ederek mikroorganizmanın yayılmasını kolaylaştırır. Antijenik özelliğe sahip bir enzimdir ve *S. aureus* suşlarının %90'dan fazlası hiyalüronidaz oluşturmaktadır (19).

#### **2.7.6. Deoksiribonükleaz (DNaz)**

*S. aureus* suşlarının %90'ından fazlasında bulunan DNaz enzimleri, endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, ısıya direnci olan bir enzimdir (19).

#### **2.7.7. Beta-laktamaz (penisilinaz)**

Stafilokoklar penisilin grubu antibiyotiklerdeki  $\beta$ -laktam halkasının hidroksil grubunu parçalayarak etkisiz hale getirirler. Bu nedenle hücre duvarı sentezini inhibe eden  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençli hale gelirler. Genetik taşınma transpozon ve plazmidler aracılığı ile gerçekleşir (40, 41).

#### **2.7.8. Slime faktör**

Slime maddesi amorf kapsül yapısında, glikokaliks materyali olup %40 karbonhidrat, %27 protein içermektedir. Antijenik yapıları çok kuvvetli olması ile birlikte daha virulan ve antibiyotiklere daha dirençli oldukları bildirilmektedir. Hücrel immün yanıtı baskılar, opsonizasyonu, nötrofil kemotaksisini ve nötrofil fagositozunu inhibe eder (19).

### 2.7.10. Fibrinolizin (Stafilokinaz)

Stafilokoklar tarafından ortama salınan kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni aktive ederek plazmine dönüştürürler. Fibrinolitik etkisi ile fibrini parçalayarak organizmanın yayılımına destek olurlar (19).

### 2.7.11. Fosfatidilinozitol – Spesifik Fosfolipaz C

Özellikle erişkin tip solunum zorluğu sendromu ve dissemine intravasküler koagülasyon bulunan hastalardan izole edilen suşlarda saptanan bir enzim olup antimikrobiyal ajanlara direnç gösterirler (35).

### 2.7.12. Toksinler

Ekzotoksinler konak hücrenin fonksiyonunu etkilemesi nedeniyle “toksin” olarak isimlendirilen çeşitli hücre dışı ürünler üretme yeteneğine sahip olup *S. aureus*'un ürettiği bu toksinler, makrofajlar üzerindeki sınıf II büyük doku uygunluk kompleks molekülüne bağlanarak etkinliklerini gösterirler (23).

#### 2.7.12.1. Sitolitik toksinler

Stafilokoklar konak hücrenin morfolojisini ve/veya fonksiyonunu etkileyen çok sayıda toksin üretebilir ve bu toksinler aracılığı ile inflamatuvar bölgelerde üremelerini devam ettirebilirler. En iyi tanımlananları hemolizin ve lökositinlerdir (39).

#### A- Hemolizinler

Antijenik özellikleri bakımından birbirlerinden farklı dört tip ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) olmak üzere hemolizin (ekzotoksin) üreten *S. aureus* suşları vardır. Bu hemolizinlerin hayvan eritrositleri üzerinde hemolitik etki yapıp yapmamalarına, toksisite derecesine, hemoliz için gerekli ısı derecesine ve zamanına göre ayrı özellikleri vardır (42).

**Alfa hemolizin** (alfa toksin); insanlar için patojen *S. aureus* suşlarının temel hemolizini olup insan trombosit ve makrofajları ile doku kültürleri üzerine hemolitik

etkinlikleri vardır. Monositler bu toksine dirençlidir. Antijeniktir ve antitoksini ile nötralize olur (39).

**Beta hemolizin** (beta toksin); sfingomiyelinaz C de denir. Eritrosit, lokosit, makrofaj ve fibroblastlar gibi hücreler üzerindeki fosfolipidleri hidroliz eder (33, 36).

**Gama hemolizin** (gama toksin); insan eritrositleri üzerine orta derecede etkilidir. Bu hemolizin hemen hemen tüm *S. aureus* suşları sentezlemektedir. Stafilokokal kemik infeksiyonlarında kanda bu toksine karşı antikor düzeyinin yüksek bulunması, toksinin bu hastalıklarda etkili olduğunu göstermektedir (33, 37).

**Delta hemolizin** (delta toksin); geniş spektrumlu sitolitik aktiviteye sahip olup, ısıya dayanıklı, heterojen ve antijenik özellik taşımayan bir proteindir. *S. aureus* türlerinin %97'sinde ve koagulaz negatif stafilokokların %50-70'inde bulunur. Hücre membranını detarjana benzer etkisiyle tahrip ederek hücre içeriğinin dışarı çıkmasına neden olur (23, 33).

Alfa ve delta toksin insanlar üzerinde en çok bulunan toksin çeşitlerindedir (39).

#### **B-Non-hemolitik lökosidin (Panton Valentine Lökosidin)**

Panton ve Valentine adlı araştırmacılar 1932 yılında bu sitotoksinin deri ve yumuşak doku infeksiyonları ile ilgili olduğunu göstermişlerdir (23).

F (Fast-hızlı) ve S (Slow-yavaş) olmak üzere iki protein komponentinden oluşan bu toksinin her iki komponenti de antijenik özellik gösterir. P-V(Panton Valentine) Lökosidini, lökositleri tahrip edip fagositozu engellediğinden, önemli bir virulans faktörüdür (23).

#### **2.7.12.2. Enterotoksin**

Isıya dirençli 100<sup>0</sup>C'ye 30 dakika dayanabilen polipeptid yapısında maddeler olup A, B, C1, C2, C3, D, E ve F olmak üzere 8 çeşit immünolojik tipi vardır. A ve D besin zehirlenmelerinde sık karşılaşılan tiplerdir. Makrofaj ve yardımcı T hücrelerinden IL-1 ve IL-2 salınımını uyararak sindirim kanalında süper antijen gibi davranırlar. *S aureus*'un %35-50'si bu toksinleri oluşturmaktadır (39).

### **2.7.12.3. Eksfoliyatif toksin**

Stafilokok infeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumludur. Epidermisin stratum granulosum katmanına etki etmesiyle haşlanmış deri sendromuna neden olmaktadır. Eksfoliyatif toksinin, antijenik ve biyokimyasal yapıları bakımından A (ETA) ve B (ETB) olmak üzere iki farklı tipi vardır. Her iki toksin de antijenik yapıda ve toksinlere karşı oluşan antikorlar koruyucu ve nötralizan etkinliktedir (43). Enterotoksinler özellikle yüksek CO<sub>2</sub>'li atmosfer ortamda karbonhidratlı ve proteinli besiyerlerinde üreyebilen stafilokoklar tarafından oluşturulurlar. *S. aureus*'un immunolojik olarak birbirinden farklı süper antijen niteliğinde olan A, B, C (C1- C3), D, E ve F olmak üzere sekiz çeşit enterotoksin mevcuttur. Enterotoksin A ve D besin zehirlenmelerine, Enterotoksin B hastane infeksiyonlarına neden olur (33, 36).

### **2.7.12.4. Toksik şok sendromu toksini-1 (TŞST-1)**

Enterotoksin F günümüzde TŞST-1 olarak tanımlanmaktadır. Toksik şok sendromundan sorumludur. TŞST-1, ısıya ve proteolitik enzimlere dirençli olup kromozom ilişkili ekzotoksindir. Süperantijenik uyarım sonucu salınan sitokinlerin güçlü etkisi nedeniyle şoka ve hatta ölümlere neden olmaktadır (33, 39).

## **2.8. Hücre duvarı elemanları**

Peptidoglikan tabaka hücre duvarının esas yapısını oluşturan, hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde bulunan karmaşık bir makromolekül olan peptidoglikan tabaka hücre duvarı kuru ağırlığının yaklaşık %50-60'ını oluşturur. İnsan hücrelerinde bulunmayıp bakteri hücrelerinde bulunduğundan antibakteriyel ilaçlar için hedef oluşturmaktadır. Bu tabaka üç yapıdan oluşmaktadır. İlk tabaka  $\beta$ 1-4 glikozid bağları ile bağlı N-asetil glukozamin (NAG) ve N-asetil muramik asit (NAMA) alt gruplarından oluşur. İkinci tabaka N-asetil muramik asite bağlanan D ve L aminoasitlerinden oluşmuş pentapeptid zincir olup L-alanin, D-glutamik asit, L-lizin, D-alanindir. Üçüncü tabakada ise NAMA'ya bağlı olan pentapeptid yan zincirleri, pentaglisin köprüleri ile bir zincirde D-alanin ile diğer zincirdeki L-lizin arasında olacak şekilde birbirlerine çapraz bağlanırlar (19, 35, 37).

*S. aureus*'ta çapraz bağlantı oranının yüksek olması bakterinin lizozim enzimine karşı dirençli olmasını sağlar. Beta-laktam antibiyotikler, peptidoglikan sentezini, karboksipeptidaz ve özellikle de transpeptidazları inhibe ederek durdururlar. Bu enzimlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı verilir. *S. aureus*'ta PBP1, PBP2, PBP3, PBP4 şeklinde dört çeşit PBP vardır (19, 44, 45).

Stafilokokların peptidoglikan tabakası; makrofajlardan sitokin salınımına, komplemanın aktivasyonuna, trombositlerin agregasyonuna, monositlerden IL-1 salınımını uyararak polimorfonükleer lökositlerin infeksiyon bölgesine toplanmalarına neden olurlar. Stafilokoklardaki pentaglisin köprülerinin lizostafin enzimine özgül bir duyarlılığı vardır. Ter, göz yaşı ve lökositlerde bulunan lizozim (muramidaz) enzimi, stafilokok ve diğer gram pozitif bakterilerin peptidoglikan tabakasının  $\beta$ 1-4 bağlarını hedefleyerek etkisini gösterir (1, 19, 44, 45).

### **2.8.1. Teikoik asit**

Teikoik asit, peptidoglikan tabakasının içine dağılmış, antijenik bir özelliğe sahip olan, poliribitol veya poligliserol fosfat moleküllerinden meydana gelmiş lineer polimer bir yapıya sahiptir. Teikoik asidin, antijenik özelliği yanı sıra, kuvvetli polar ve negatif yüklü dış yüzey karakteri oluşturmada ve iyon değişiminde de etkinliği fazladır. Kalınlığı bakterilerin türüne göre değişmektedir (19).

Teikoik asitler buldukları yerlere göre hücre duvarı teikoik asitleri ve membran teikoik asitleri olmak üzere iki kısma ayrılırlar.

1. *Hücre duvar teikoik asitleri*; gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakasına bağlanmıştır. Temel yapısında poliribitol fosfat (*S. aureus*) veya poligliserol fosfat (*S. epidermidis*) bulunur (19).
2. *Membran teikoik asitleri*; sitoplazmik membranın dış yüzeyinde bulunur ve duvar teikoik asitlerine benzer bir kimyasal yapıya sahip gliserol fosfat molekülleri içerir (19).

### **2.8.2. Protein A**

*S. aureus*'un hücre duvarının dış yüzünde bulunur ve 42 kDa ağırlığındadır. Dış ortama salgılanan bir molekül olup insan IgG alt sınıflarının Fc bölgesine



bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Bakteriye antikora bağlı fagositozdan ve komplemana bağlı vücut savunmasından korur (48).

### **2.8.3. Kapsül**

*S. aureus*'un mukoid türlerinde polisakkarid yapıda bir mikrokapsül mevcuttur. Bu ekzopolisakkarit, bakteriyi fagositozdan korur, konak hücrelerine özellikle de kateterler gibi yabancı cisimlere tutunmasını kolaylaştırır. Stafilokoklarda 11 mikrokapsül polisakkarit serotipi tanımlanmıştır. *S. aureus* suşlarının %70-80'i tip 5 ve tip 8 kapsülünü içermektedir.

Penisiline dirençli *S. aureus* suşları tip 5 kapsül içerirken, toksik şok sendromu toksini üreten suşlar tip 8 kapsül içermektedir (19, 35, 37).

### **2.9. Epidemiyoloji**

*S. aureus* ile ilk karşılaşılın dönem doğumdan hemen sonraki dönemdir. *S. aureus*, doğumdan itibaren deri, göbek çevresi, perianal bölge, gastrointestinal sistem gibi bölgelerde bulunabilir. *S. aureus*'un yetişkin dönemde en önemli kolonizasyon bölgesi burun mukozasının ön kısmıdır. Buraya kolonize olduğundan sonra öksürük ve aksırık damlacıkları ile yayılarak taşıyıcı kimselere bulaşır (19). Sağlık çalışanları, insülin kullanan diyabetikler, hemodiyaliz hastaları ile ilaç alışkanlığı olanlar, ayakta periton diyalizi, kronik dermatolojik hastalıklar ve HIV pozitif hastalar, taşıyıcılık oranları fazla olanlardır (37, 46, 47).

Taşıyıcılar direkt temasla ya da gıda kontaminasyonları ile kendileri ve başkaları için infeksiyon kaynağı olabilir (23, 48). Yüksek sıcaklık, antiseptik solüsyonlar ve dezenfektanlara duyarlı stafilokoklar, kuru yüzeylerde uzun süre canlılıklarını sürdürebilirler. Mevsimsel farklılıkları yoktur. Fakat besin zehirlenmeleri yaz aylarında daha sık görülür (19).

#### **2.9.1. MRSA'nın epidemiyolojisi, kolonizasyonu ve risk faktörleri**

MRSA, 1980'li yıllardan itibaren hastanelerde Epidemiyolojik ve majör klinik sorun teşkil etmektedir. MRSA müköz membranlarda ve derinin normal

florasında mevcuttur. Hastalar ve hastane personelleri MRSA'nın normal taşıyıcılarıdır (23). MRSA ile kolonizasyon ve infeksiyon için en büyük risk faktörleri; yaş, altta yatan hastalıklar, nasal kolonizasyon ve kateter, trakeostomi, nasogastrik tüplerdir. Nasokomiyal MRSA enfeksiyonu ve MRSA epidemileri yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde daha çok (yaklaşık 2/3'ü) ortaya çıkmaktadır. Kolonizasyon veya infeksiyonun riski yüksek olan yerler; çevresel MRSA'nın fazla olduğu servisler, yanık üniteleri, eksfoliyatif dermatitli hastaların bulunduğu servislerdir (49).

Son yıllarda toplum kökenli MRSA infeksiyonlarının (TK-MRSA) sağlıklı kişilerde özellikle çocuk ve genç erişkinlerde görülmesi önemini artırmıştır. Panton-Valentine toksini taşıyan bu suşlar daha çok DYDE ve pnömoniye neden olmaktadır (50, 53). MRSA eradikasyonu oldukça zordur. MRSA'nın en önemli yayılım mekanizması hastane personelinin elleri ve kolonize olmuş sekresyonları kontrol edilemeyen trekaostomili hastalardır. Metisiline dirençli izolatların oranı son yıllarda tüm dünyada artış göstermiştir. Fakat bazı merkezlerde hastane infeksiyonu önlemlerine bağlı kalınması ile bu oranda oldukça azalma olmuştur. Ülkemizdeki MRSA oranı %20-48 oranında bildirilmektedir (49, 50).

### **2.9.2. Stafilokokların neden olduğu infeksiyonlar**

Geniş virülans faktörleri ile hem direkt hem de indirekt olarak infeksiyon oluşmaktadır. Salgıladığı toksinlerle uzak dokulara yayılımları gerçekleşmektedir (36). Basit DYDE sepsis gibi hastalıklara kadar geniş bir hastalık spektrumuna sahiptir.

Neden olduğu infeksiyonlar invaziv ve toksijenik olmak üzere iki gruptur:

1. İnvaziv hastalıklar
  - Deri infeksiyonları
  - Sistemik infeksiyonlar
2. Toksinle olan hastalıklar

### 2.9.2.1. İnvaziv hastalıklar

*MRSA'ya Bağlı Deri ve Yumuşak Deri İnfeksiyonları:* İmpetigo, follikulit, fronkül, karbonkül, hidradenitis, suppurativa gibi klinik semptomlara neden olabilir. Sellulit, lenfadenit, mastit, cerrahi yara infeksiyonları komplikasyonlar arasındadır (19, 37, 46).

*MRSA'ya Bağlı Sistemik İnfeksiyonlar:* Dolaşım sistemi infeksiyonları: Bakteriemi, endokardit, perikardit gibi klinik formlardır (19, 37).

*MRSA'ya Bağlı Solunum Sistemi İnfeksiyonları:* Toplumdan kazanılmış genellikle entübasyon sonrası aspirasyona bağlı *S. aureus* pneumonileridir (19, 37, 46).

*MRSA'ya Bağlı Kas ve İskelet Sistemi İnfeksiyonları:* Osteomyelit, septik artirit, piyomyozit, septik bursit gibi infeksiyonlardır (19, 37).

*MRSA'ya Bağlı Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonları:* Cerrahi veya tanısal girişimlerle doğrudan yayılım veya nadiren şekillenen, bakteriemi ve endokardite kadar sekonder hematogen yolla gelişmektedir. İmmun yetmezlik, kardiyovasküler hastalıklar ve ileri yaştaki hastalar infeksiyona daha kolay yakalanabilmektedir (19, 37).

*MRSA'ya Bağlı Üriner Sistem İnfeksiyonları:* Hematojen yolla veya kateter yolu ile şekillenebilir (19, 37, 46).

### 2.9.2.2. Toksinlere bağlı olarak gelişen MRSA infeksiyonları (19, 37, 46):

1. Haşlanmış Deri Sendromu: Çoğunlukla yeni doğan ve bir yaşın altındaki çocuklar etkilenmektedir. *S. aureus*'un eksfoliyatif toksini bu sendromdan sorumludur. Nadiren yetişkinlerde gözlenir. Sağlam görünümlü deri kolaylıkla soyulabilir. Sıvı ve elektrolit kaybına bağlı hipovolemi ve sepsis şekillenebilir.
2. Toksik Şok Sendromu: Ateş, eritroderma, kusma, diare, böbrek yetmezliği gibi klinik belirtiler gözlenebilir. Olguların yarısından TŞST-1 üreten *S.*

*aureus* suşlar, diğer yarısından enterotoksin B ve C üreten suşlar sorumludur.

3. Besin Zehirlenmesi: Stafilokok üremiş ve enterotoksin oluşmuş besinlerin alınmasını takiben 2-6 saat içinde bulantı, kusma ve ishal ile seyredir. Süperantijen olan stafilokokal enterotoksinler bağırsaktan sıvı kaybına sebep olurlar. Kremalı pasta, mayonez, sütlü tatlılar, etli gıdalar ve dondurma en sık sorumlu tutulan besinlerdendir. Genellikle 8 gün içinde klinik kendiliğinden düzelmeye başlar.

## 2.10. Patogenez

Mekanizmalar (52):

1. Bakterinin konağa yapışması,
2. Anatomik bariyerlerden girişi,
3. Fagositik hücre inaktivasyonu,
4. Konak humoral savunma sisteminin baskılanması,
5. Toksin salınımı

*S. aureus* burun mukozasına, teikoik asit komponentleri ve nasofaringeal mukozadaki müsin ile bağlanır. Adezyon ve kompleman aktivasyonunda, peptidoglikan tabakanın dışındaki fibronektin bağlayan protein, kümelenme faktör ve protein A rol oynar (53).

Adezyon sonrası konak dokuya invazyon ise bakterilerin epitelyal ya da mukozal yüzeylere penetrasyonu ile başlamaktadır ve yukarıda bahsedilen birçok enzim ve birçok toksin bu mekanizmada görev almaktadır (53).

Mukozalara ya da epitelyal tabakaya penetre olan *S. aureus*'un peptidoglikan tabakası teikoik asidi ve hücre duvar komponentleri kemotaktik ürünler salgılatır ve bakterinin lokalize olup proliferde olduğu bölgelerde polimorf nüveli lökositler ve monosit–makrofaj sistemi *S. aureus*'un mukozalara ya da epitelyal tabakaya penetre olan *S. aureus*'u fagosite etmeye çalışır (53).

*S. aureus*'un fagosite edebilmesi için tanınması gerekir ki bu tanınma IgG antikorlarının Fc parçası ve C<sub>3</sub> gibi kompleman reseptörleri ve ko-reseptörlerin

opsonizasyonu ile mümkündür. Opsonizasyon sonrası fagosite edilen stafilokoklar fagositer vakuollerinde hızlı bir şekilde imha edilirler. Bazı durumlarda nadiren *S. aureus*'lar fagositer hücre içinde yaşamlarını devam ettirebilirler ya da konakta savunma sisteminde yetersizlik ya da bozukluk olduğu durumlarda nüksler meydana gelebilmektedir (53, 54).

### **2.11. MRSA İnfeksiyonlarının Tedavisi**

MRSA infeksiyonlarında en sık kullanılan ilaçlar vankomisin ve daha sonra üretilen teikoplan gibi glikopeptitlerdir. 1956 yılında ilk defa klinik kullanıma giren vankomisinin yan etkisinden dolayı bir dönem kullanımı kesintiye uğramıştır. Metisiline dirençli stafilokoklar aynı zamanda diğer beta laktamlara da dirençli olmasından bu bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde glikopeptitler alternatif teşkil eden başka antibiyotiklere ihtiyaç duyulmasından dolayı linezolid, daptomisin, tigesiklin, kinupristin /dalfopristin gibi antibiyotikler geliştirilmiştir. Bunlar arasından linezolid ve daptomisinin 1998-2002 yıllarında ABD'de FDA (Food and Drug Administration) tarafından kullanımı onaylanmıştır (55, 56).

#### **2.11.1. Tedavide daptomisinin yeri**

Farmakodinamik olarak siklik lipopeptidlerin ilk üyesi olan daptomisin hızlı bakterisidal etkinliği olup, konsantrasyona bağlı antimikrobiyal aktivite gösterir. Daptomisinin bir diğer avantajı hem büyüme hem de dinlenme fazındaki bakterilere olan etkinliğidir. Gram-pozitif bakterilerin duvarında bol miktarda bulunan lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturarak bakteri membranının sentezini bloke etmektedir. Bu kanallar hücre içi iyonların (potasyum, magnezyum) ve ATP'nin sızmasına ve makromoleküllerin sentezinin engellenmesine neden olur. Klinik kullanıma 1980'li yıllarda girmesine rağmen kas toksisitesi sebebiyle kullanımı durdurulmuştur. Klinik çalışmaları 1999'da tekrar başlatılmıştır. Ülkemizde 2010 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Etki spektrumu MRSA, VISA, VRSA ve VRE gibi dirençli türler de dahil olmak üzere gram-pozitif bakterilerdir. Daptomisin, komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonları (KDYDE), *S. aureus*'un etken olduğu bakteriyemiler ve sağ kalp enfektif endokarditi için onay almıştır. Primer toksisitesi miyopatilerdir. Daptomisine karşı direnç çok nadirdir.

Glikopeptidlerin MİK düzeyleri arttıkça, daptomisinin MİK değerlerinde de bir artış dikkati çekmiştir. Daptomisine dirençli *S. aureus* kökenlerinde daptomisinin hücre membranına bağlanmasının azaldığı gösterilmiştir. *S. aureus* ve enterokok kökenlerinde daptomisine karşı direnç oranları çok düşüktür (57-59).

Dünyada ve ülkemizde dirençli gram (+) bakteriler giderek artmaktadır. Stafilokoklar gram (+) koklar arasında nozokomiyal ve toplumdan edinilmiş önemli infeksiyon etkenlerindedir. Klinikte antibiyotiklerin hemen hepsine direnç geliştiren *S. aureus* sülfonamidlerle başlayıp direncini glikopeptidlere kadar geliştirmiştir.

## **2.12. Staphylococcus aureus cinsi bakterilerde direnç mekanizmaları**

### **2.12.1. Penisilin direnci**

Penisilin 1940 yılında ilk defa kullanıma girmesinin ardından birkaç yılda direnç gelişmiştir. Beta-laktamaz enziminin neden olduğu *S. aureus* izolatlarının %80'inde görülen bu direnç 1959 yılında semisentetik bir penisilin olan metisilin kullanıma girmesiyle aşılmıştır. Günümüzde hastane kaynaklı *S. aureus* izolatlarının %95'den fazlası beta-laktamaz üretmektedir (56).

### **2.12.2. Metisilin direnci**

Beta-laktamaz enzimiyle hidrolize olmayan betalaktam antibiyotiklere (metisilin, oksasilin, nafsilin, kloksasilin, dikloksasilin) karşı olan direnç metisilin direnci olup, ilk olarak 1961 yılında ilk MRSA suşu bildirilmiştir. Böylece direncin antibiyotik inaktivasyonuna neden olan beta laktamaz enzimi değil, bakteri kromozomunda bulunan *8cc mec* genidir. Bu gen betalaktam antibiyotiklerin tümüne ve ayrıca florokinolonlar, gentamisin, klindamisin gibi antibiyotiklere karşı da direnç gelişimine sebep olmaktadır. Metisilin, intersitisyel nefrite yol açtığından günümüzde klinik kullanımının olmamasının yanı sıra sadece laboratuvarlarda beta-laktam direncini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır (56).

PBP2a beta laktam gurubu antibiyotikler PBP'lere bağlanıp fonksiyonu engelleyerek etki ederler. MSSA'larda 5 adet penisilin bağlayan protein bulunurken MRSA'larda ise buna ek olarak PBP2a sentezlenir. Bunu kodlayan gen''*mecA*''olarak

adlandırılan bir gen olup MSSA'lerde bulunmamaktadır. PB2a diğer PBP lerden farklı olarak beta-laktam yapısındaki antibiyotiklere karşı affinitesi düşüktür. Günümüzde MRSA'lar tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Prevalansı ülkeler arasında farklılıklar gösterir. Kuzey Avrupa ülkelerinde <math><1\%</math>, Güney Avrupa ülkelerinde, ABD ve Asya'nın bazı ülkelerinde yarısını aşmış durumdadır (56).

### **2.12.3. Glikopeptit Direnci**

Sürekli vankomisin kullanılması VISA ve VRSA suşlarının ortaya çıkmasına neden olmuş ve özellikle PBP2 ve PB2a'nın aşırı üretiminin vankomisin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. *S. aureus*'un bu suşlarda hücre duvar kalınlaşmasına neden olmuş ve vankomisini bağlayarak serbest molekülün hedefe ulaşmasına engel olduğu saptanmıştır (1-3).

### **2.12.4. Makrolid –Linkozamid-Streptogramin direnci**

Ribozom modifikasyonu ve ilaç atılım pompası indüksiyonu direnç mekanizmaları arasında en sık karşılaşılanlardır. Makrolidler iyi bir indükleyicidir ve bir kez indüklenmesinin ardından linkozamid ve streptogramin B'lere çapraz direnç geliştirebilmektedir. Kinolon direnci gram pozitif bakterilerde MİK değerleri bakımından oldukça yüksektir. Sınırdaki aktif olan bu ilaçların MRSA gibi sorunlu gram (+) bakterilerde kullanımları, dirençli kökenlerin seçilmesini sağlamıştır (37, 60).

### **2.12.5. Kinopristin ve dalfopristin direnci**

Mekanizmaları (61);

- Enzimatik olarak modifikasyona uğraması,
- Bir adezin trifosfat bağlayıcı protein aralıklı özel atılım pompalarının aktif ulaşımı,
- Hedef bölgelerinin değiştirilmesi şeklindedir.

#### **2.12.6. Aminoglikozid direnci**

*S. aureus*'un küçük plazmid ve transpozonlarında bulunan genler ilacın modifikasyonuna sahip olan enzimin salınmasına yol açarlar. Sülfonamid direnci, plazmid ile taşınan genler vasıtası ile ya da nokta mutasyonuna bağlı olarak dihidropteroat sentetaz enziminin oluşması ile trimetoprim direnci ise dihidrofolat redüktaz enziminin trimetoprimin aktif bölgesine bağlanması ile ortaya çıkmaktadır (62).

#### **2.12.7. Tetrasiklin direnci**

Plazmid kromozom ya da transpozonlarda bulunan tetrasiklin direnç geni (*tet* A-G, *tet* K, L) tarafından sentez edilen özgül bir membran proteinine bağlıdır (62).

#### **2.12.8. Rifampin direnci**

RNA polimeraz enziminin inhibisyona uğramasıyla protein sentezi bozulur. Fakat tek başına kullanıldıkları zaman RNA polimerazın bir alt gurubunda noktasal mutasyonlar sonucu yüksek seviyede direnç gelişmektedir (63).

#### **2.12.9. Daptomisin direnci**

Gram pozitif bakteri sitoplazmik membranına yapışarak içeriye potasyumun girmesine, membran depolarizasyonuna, makromolekül sentez disfonksiyonuna, parçalanma olmadan organizmanın kollapsına neden olur. Daptomisinin direnç mekanizması hızlı ve özgün bir mekanizma oluşumu olup konsantrasyon ve kalsiyum bağımlıdır. Spontan direnç sık olmamakla birlikte direnç oluşumu nadir olup daptomisinin membrana bağlanmasının azalması ile gerçekleşir (8).

### **2.13. Mikrobiyolojik Tanı**

*S. aureus*'un makroskopik ve mikroskopik tanımlanması katalaz ve koagülaz testlerine göre yapılır. Stafilokokların hem cins, hem de tür ayırımına gidilmesi için diğer özelliklerin de değerlendirilmesi gerekir.



### 2.13.1. Gram boyama ve mikroskopik inceleme

Klinik örneklerden hazırlanan gram boyalı preparatlarda stafilokoklar 0,50-1,0 µm çapında üzüm salkım şeklinde, tek tek, çiftler, kısa zincirler, ya da kümeler halinde Gram pozitif koklar olarak görülmektedir. Koloni morfolojisi tipik koloniler görülebilmesi için örnekler kanlı agar plaklarına ekilir. 24 saatlik inkubasyondan sonra 1-2 mm çaplı koloniler gözlenir. Bazı stafilokok suşlarında farklı beta hemoliz zonları oluşur (64).

### 2.13.2. Katalaz testi

Mikrococcaceae ailesindeki katalaz enzimini (sitokrom oksidaz enzimi) saptamaya yönelik araştırılan bir test olup stafilokoları gram (+) koklardan ayırt etmede kullanılır. Yapılışı incelenecek koloni lam üzerine alınır ve üzerine %3'lük (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) hidrojen peroksit damlatılır. Hidrojen peroksitin su ve oksijen gazına dönüşümünü gösteren kabarcıklar enzimin varlığını gösterir. Eritrositler katalaz enzimini içermesinden dolayı yanlış pozitifliğin önlenmesi açısından örnekler kan içermeyen besiyerinden alınmalıdır (35).

### 2.13.3. Koagulaz testi

*S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırmada etkili bir testtir. EDTA'lı tavşan plazması kullanılarak tüp veya lam testleri koagulaz aktivitesinin belirlenmesi için yapılır. *S. aureus* dışında *P. aeruginosa*, *S. marcescens* gibi sitratı metabolize edip plazmayı pıhtılaştırdığından yanlış pozitif sonuç verebilir. Bu nedenle sitrat içeren plazmalar kullanılmamalıdır (36).

### 2.13.4. Lam koagülaz testi

Lam üzerine 1 damla distile su damlatılarak kolonilerin bu su ile karışması sağlanır. Homojen süspansiyonun üzerine bir damla plazma damlatılır ve yavaşça elde çevrilerek karıştırılır, eğer 10 sn içinde gözle görülür bir kümeleşme varsa test pozitifdir. Lam koagulaz negatifse mutlaka tüp koagulazla sonuç desteklenmelidir. *S. aureus*'un haricinde *S. lugdunensis* ve *S. schleiferi* bu testte pozitif sonuç verebilmektedir (36, 65).

### 2.13.5. Tüp koagülaz testi

Bu *S. aureus*'un tanımlanması için referans yöntemdir. Hücre dışına salınan koagülaz gözlenir ve serum fizyolojik ile 1/5 oranında sulandırılmış EDTA'lı tavşan plazması içinde stafilokok kolonisi çizilerek karıştırılır. 35<sup>0</sup>C'de 4 saat pıhtı gözlenmesi için bekletilir. Pıhtının oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilir (65).

### 2.13.6. Mannitol hidrolizi

*S. aureus*'un birçok koagülaz negatif stafilokoklardan farklı olarak mannitolü fermente edebilme özelliği vardır. Bu test için mannitollü tuzlu agar kullanılır. Kontamine örnekler %7,5 NaCl içeren bir besiyerine ekilip izolasyonu buradan yapılabilir. Diğer organizmalar burada üreyemezler. Bu besiyerinde üremiş olan *S. aureus* kolonilerinin etrafında 48 saatte sarı zon oluşmaktadır. *S. aureus* kolonilerinin mannitol fermentasyonu sonucunda besiyerinin fenol kırmızısı rengi sarıya dönüşmektedir (65).

### 2.13.7. Protein A saptanması

Ticari olarak bulunan insan fibrinojen ve IgG'si ile kaplı polistren lateks partikülleri içeren ayıraçtan reaksiyon kartına bir damla damlatılır ve karıştırılır. Aglütinasyon şekillenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Lam koagülaz testine alternatif olarak da yapılabilir (65).

### 2.13.8. Deoksiribonükleaz (DNaz) testi

DNaz testi koagülaz testinde zayıf reaksiyon veren stafilokokların durumunu incelemek için yapılan bir testtir. *S. aureus* nükleik asitleri hidrolize eden DNaz ve ısıya dirençli bir endonükleaz oluşturmaktadır. Metakromatik bir boya olan toluidin mavisi içeren DNaz besiyerine birkaç koloni alınıp yoğun ekimin ardından 24 saat 35<sup>0</sup>C'de inkübasyona bırakılır. Ekim çizgisinin çevresinde parlak pembe kırmızı veya mor renk oluşturan kökenler DNaz pozitif olarak değerlendirilir (35).

### 2.13.9. Hızlı termonükleaz testi

Bir mililitre beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri içerisine birkaç stafilocok kolonisi ekilir. 35<sup>0</sup>C'de 2 saat inkübasyondan sonra süspansiyon su banyosunda 15 dakika kaynatılır ve ardından oda sıcaklığına soğutulur. DNaz test agarı üzerinde pipet yardımıyla açılan oyuklara iki damla soğutulan organizma süspansiyonu eklenmesinin ardından 1-2 saat 35<sup>0</sup>C'de inkübe edilir. Kuyucuklar etrafında pembe ya da kırmızı hale görülmesi ile *S. aureus*'un termonükleaz testi pozitif olarak değerlendirilir (65).

**Tablo 2.2. İnsanda sık infeksiyon oluşturan stafilocok türlerinin ayrımı**

Test	<i>S. aureus aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Koagülaz	+	-	-
DNaz	+	-	-
Mannitol fermentasyonu	+	-	+
Anaerob ortamda üreme	+	+	-
Novobiyosin direnci	-	-	-
Hemoliz	+	+/-	-

### 2.14. Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direncini saptamaya yönelik yöntemler

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında *S. aureus* izolatlarının yanında metisilin direncinin tespiti gerekmektedir. Bu amaçla fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılmaktadır.

#### 2.14.1. Fenotipik yöntemler

Direncin tespitinde mecA geni veya PBP 2a'yı saptayan yöntemler referans teşkil ederler. Sefoksitin veya oksasilin duyarlılığının disk difüzyonu sıvı mikrodilüsyon veya oksasilin agar tarama testleri ile belirlenmesi (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI tarafından önerilen fenotipik yöntemlerdir (66).

#### **2.14.1.1. Disk difüzyon yöntemi**

Belirli bir miktar antibiyotik ajan içeren disklerin bakterinin standart süspansiyonunun yayıldığı agar plaklarının yüzeyine yerleştirilir ve antibiyotiğin bakteri için inhibitör olan düzeyi disk çevresinde üreme olmayan alanının çapı ölçülerek belirlenir (36, 67).

#### **2.14.1.2. Sulandırım dilüsyon yöntemleri**

İn vitro duyarlılık testleri arasında “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Antimikrobialler 2 katlı dilüsyon şeklinde artan yoğunluklarda hazırlanırlar. Tüpte sıvı besiyeri hazırlanıyorsa makrodilüsyon, mikrotitrasyon plaklarında hazırlanıyorsa mikrodilüsyon olarak isimlendirilir. Belirli dilüsyondaki bakteriden ekim yaparak inkübasyondan sonra gözle görülür şekilde üremeyi engelleyen en düşük antimikrobiyal ilaç konsantrasyonu hesaplanır. Kantitatif sonuç vermesi sebebiyle sık tercih edilir (36, 67).

#### **2.14.1.3. Agar dilüsyon**

Agar tarama bu yöntemde, 6 µg/mL oksasilin ve %4 NaCl içeren MHA'ya 0,50 McFarland bulanıklığa ayarlanmış olan bakteri süspansiyonundan ekim yapılır. Plaklar 24 saat 35<sup>0</sup>C'de inkübe edilir. Herhangi bir koloni üremesi halinde test edilen suş metisiline dirençli olarak kabul edilir. Testin duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksektir (39).

#### **2.14.1.4. Epsilometrik yöntem**

MİK değerini plastik stripler kullanarak saptamayı hedefler. Stribin bir tarafında ilaç, diğer yüzünde ise antimikrobiyal ajanın strip ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyon bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri süspansiyonu katı besiyeri üzerine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir ve plaklar 18-24 saat 35<sup>0</sup>C'de inkübe edilir. Elips şeklindeki inhibisyon alanının stribi geçtiği konsantrasyon MİK olarak tespit edilir (36, 67).

### **2.14.2. Genotipik yöntemler**

En sıklıkla kullanılan ve en önemlisi (Polimeraz zincir reaksiyonu) PCR olup bu metodların birbiri ile kombine edilerek kullanılması kesin bilgiye ulaştırır. Hiçbir tiplendirme yöntemi tek başına olmamalıdır (36, 67).

#### **2.14.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri**

PCR yönteminin temel özelliği, belirli bir DNA dizisinin hızlı bir şekilde çoğaltılması esasına dayanır. Bu yöntem 48 saat içerisinde 50 kadar izolatın kolayca tanımlanmasını sağlar (23).

#### **2.14.2.2. Kromojenik agar**

Metisilin direncinin daha hızlı ve kolay belirlenmesi için çeşitli ticari kromojenik besiyerleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalar kromojenik besiyerlerinin konvansiyonel besiyerlerine göre etken patojenleri daha kısa sürede saptadığını ve karışık kültürlerden ayırmada daha etkili olduğunu ortaya koymuştur (68). Kromojenik substrat içeren besiyerleri maliyet açısından yüksek olmasına rağmen tanımlama için ek test gereksinimini azaltması ve zamandan tasarruf sağlamasından dolayı mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (69).

### **2.15. Stafilokok infeksiyonlarında başlıca kullanılan antibiotikler**

- Penisilinaza dirençli (antistafilokokkal penisilinler)
- Beta- laktamaz inhibitörlü kombine penisilinler
- Sefalosporinler
- Karbapenemler
- Aminoglikozidler
- Makrolidler
- Trimetoprim/sulfametoksazol
- Kinolonlar
- Linkozamidler
- Kloramfenikol
- Rifampisin

- Fusidik asit
- Streptopiraminler
- Oksazolidononlar
- Mupirosin
- Linezolid
- Glikopeptitler
- Daptomisin
- Tigesiklin

### **2.16. MRSA İnfeksiyonlarının Kontrolü**

Stafilokok suşlarına karşı özel bir kontrol önleme gerek yoktur fakat MRSA suşlarının ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir. Ülkemizde endemik olarak görülen MRSA, başta Avrupa ülkeleri ve ABD’de olmak üzere tüm dünyada hastane infeksiyonlarının en önemli nedenlerinden olup, bulaşta MRSA ile kolonize veya enfekte olan hastalar ve MRSA taşıyıcısı olan sağlık çalışanları ile direkt temas rol oynamaktadır. (20, 45).

Hastanede yatarken MRSA kolonizasyonu gelişen kişilerde, yüksek oranlarda MRSA infeksiyonunun ortaya çıkması, salgınların uzun süre kontrol altına alınamaması ile üçüncü basamak hastanelerde ortaya çıkan büyük salgınların uzun yıllar sürdüğü bilinmektedir (20, 70).

MRSA infeksiyonlarının önlenmesi için (71, 72);

1. Öncelikli MRSA taşıyıcılığının belirlenmesi,
2. İzolasyonu için hastaneye başvuran hastaların ve belirli aralıklarla hastane çalışanlarının MRSA açısından taranması,
3. Taşıyıcı olanların dekolonize edilmesi önerilmektedir,
4. Taşıyıcılığın sıklıkla burunda olmasından dolayı, buruna klorheksidin banyosu ile ya da %2 mupirosin krem tedavisi ile taşıyıcıya ve yakın çevresine uygulanmalıdır. Özellikle burun mupirosin uygulanması sağlıklı kişilerde burunda taşıyıcılığı üç ayda yok etmektedir,
5. MRSA taşıyıcılarının bulunduğu ortamlar dezenfektan maddelerle temizlenmelidir.

6. Hasta bakımı ile ilgilenen ve hasta ile doğrudan teması olan kişilere eğitimlerle bilgilendirilmelidir,
7. Sağlık çalışanları eldiven giymiş olsun yada olmasın hasta ile temastan önce ve sonra Ellerin antiseptisi sağlanmalıdır,
8. MRSA prevalansının yüksek olduğu ülkelerde, infeksiyon kontrol önlemlerine ek olarak antibiyotik kullanımı kısıtlanmalıdır.



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Fakülte Etik Kurulu'nun 10/12/2014 tarihli oturumun 2014/122-214 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

#### **3.1. İzolatlar**

İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda 2012/2014 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 MRSA suşu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen suşların farklı tarihlerde farklı kliniklerde yatan hastalardan alınmış olmasına dikkat edildi. Aynı hastadan izole edilen MRSA izolatlarından yalnız biri çalışmaya dahil edildi.

##### **3.1.1. İzolatların tanımlanması**

Besiyerinde saf koloni halinde üreyen gram pozitif kok morfolojisinde olan kapsülsüz, mannitolü fermente eden, mikroskopik olarak; tek tek, üzüm salkımı şeklindeki tüm suşlar değerlendirildi ve ileri identifikasyon testlerine alındı. Bu izolatlar BD Phoenix 100 otomatize bakteri tanımlama sistemi (Beckton Dickinson, Sparks, MD, ABD) ile tür düzeyinde tanımlamaya gidildi. Bakteriler çalışma zamanına kadar -80<sup>0</sup>C'de ependorf tüplerinde saklandı.

##### **3.1.2. İzolatların antibiyotik direncinin saptanması**

###### **3.1.2.1. Sefoksitin disk difüzyon yöntemi:**

Klinik örneklerden izole edilen suşların metisilin duyarlılıkları Mueller-Hinton agarda (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) direktifleri doğrultusunda 30 µg sefoksitin (Oxoid İngiltere) diski kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle saptanmıştır (73).



### 3.1.2.2. Kirby-Bauer disk difüzyon testi:

Klinik örneklerden izole edilen 40 MRSA suşunun antibiotiklere olan duyarlılıkları, CLSI 2014 standartları doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı (73).

#### Kullanılan antibiyotik diskleri

- Klindamisin 2 µg,
- Eritromisin 15 µg,
- Siprofloksasin 5 µg,
- Levofloksasin 5 µg,
- Ofloksasin 5 µg,
- Linezolid 30 µg
- Trimetoprim/Sülfametoksazol 1,25 µg/23,75 µg
- Gentamisin 10 µg,
- Tobramisin 1 µg,
- Amikasin 30 µg,

Mikrotüplerde -80°C'de saklanan suşlar koyun kanlı agara ekim yapıldı bir gece 35°C'de bekledi. İnkübasyon sonrasında taze kültürdeki kolonilerden buyyon agar içerisinde 0,50 McFarland yoğunluğunda ( $10^8$  CFU/mL) olacak şekilde süspansiyonları hazırlandı. Hazırlanan süspansiyondan steril eküvyon çubuk yardımı ile 4 mm kalınlığında olan Müller-Hinton agar besiyerine ekim yapıldı. Antibiyotik disklerinin aralıkları 20-25 mm olacak şekilde yerleştirildi. Etüvde 35°C'de 18-24 saat inkübasyonun sonunda plaklar değerlendirilmeye alındı ve CLSI tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çaplarına göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi.

**Tablo 3.1. *S. aureus* suşlarının CLSI tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çapları ve MİK değerleri (73).**

Antimikrobiyal Ajan	Disk	Zon çapları			MİK değerleri		
		S	I	R	S	I	R
Oksasilin	-	-	-	-	≤ 2 (Oksasilin)	-	≥ 4 (Oksasilin)
	30 µg Sefoksitin	≥22	-	≤21	≤ 2 (Sefoksitin)	-	≥ 8 (Sefoksitin)
Oksasilin	-	≥25	-	-	< 0.25 (Oksasilin)	-	≥0.5 (Oksasilin)
	30 µg Sefoksitin	≥25	-	≤ 24	-	-	-
Seftarolin	30 µg	≥24	21-23	≤20	≤1	2	≥4
Vankomisin	-	-	-	-	≤2	4-8	≥16
Vankomisin	-	-	-	-	≤4	8-16	≥32
Teikoplanin	30 mg	≥14	11-13	≤10	≤8	16	≥32
Daptomisin	-	-	-	-	≤1	-	-
Gentamisin	10 µg	≥15	13-14	≤12	≤4	8	≥16
Amikasin	30 µg	≥17	15-16	≤14	≤16	32	≥64
Kanamisin	30 µg	≥18	14-17	≤13	≤16	32	≥64
Netilmisin	30 µg	≥15	13-14	≤12	≤8	16	≥32
Tobramisin	10 µg	≥15	13-14	≤12	≤4	8	≥16
Azitromisin	15 µg	≥18	14-17	≤13	≤2	4	≥8
Klaritromisin	15 µg	≥18	14-17	≤13	≤2	4	≥8
Eritromisin	15 µg	≥23	14-22	≤13	≤0.5	1-4	≥8
Telitromisin	15 µg	≥22	19-21	≤18	≤1	2	≥4
Diritromisin	15 µg	≥19	16-18	≤15	≤2	4	≥8
Tetrasiklin	30 µg	≥19	15-18	≤14	≤4	8	≥16
Doksisiklin	30 µg	≥16	13-15	≤12	≤4	8	≥16
Minosiklin	30 µg	≥19	15-18	≤14	≤4	8	≥16
Siprofloksasin	5 µg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
Levofloksasin	5 µg	≥19	16-18	≤15	≤1	2	≥4
Ofloksasin	5 µg	≥18	15-17	≤14	≤1	2	≥4
Moksifloksasin	5 µg	≥24	21-23	≤20	≤0.5	1	≥2
Lomefloksasin	10 µg	≥22	19-21	≤18	≤2	4	≥8
Norfloksasin	10 µg	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16
Enoksasin	10 µg	≥18	15-17	≤14	≤2	4	≥8
Gatifloksasin	5 µg	≥23	20-22	≤19	≤0.5	1	≥2
Grepafloksasin	5 µg	≥18	15-17	≤14	≤1	2	≥4
Sparfloksasin	5 µg	≥19	16-18	≤15	≤0.5	1	≥2
Fleroksasin	5 µg	≥19	16-18	≤15	≤2	4	≥8
Nitrofurantoin	300 µg	≥17	15-16	≤14	≤32	64	≥128
Klindamisin	2 µg	≥21	15-20	≤14	≤0.5	1-2	≥4
Trimetoprim - Sülfametoksazol	1. 25/23. 75 µg	≥16	11-15	≤10	≤2/38	-	≥4/76
Sulfonamidler	250 ya da 300 µg	≥17	13-16	≤12	≤256	-	≥512
Trimetoprim	5 µg	≥16	11-15	≤10	≤8	-	≥16
Chloramfenikol	30 µg	≥18	13-17	≤12	≤8	16	≥32
Rifampin	5 µg	≥20	17-19	≤16	≤1	2	≥4
Kuinupristin-dalfopristin	15 µg	≥19	16-18	≤15	≤1	2	≥4
Linezolid	30 µg	≥21	-	≤20	≤4	-	≥8

MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

### 3.1.2.3. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerinin belirlenmesi

MRSA kökenlerinin daptomisine karşı MİK değerlerinin saptanmasında sıvı mikrodilüsyon yöntemi CLSI 2014 kriterleri doğrultusunda uygulandı. Steril U tabanlı plaklara 100 µl buyyon besiyeri koyuldu.

### 3.2. Mikrodilüsyon Yönteminin Uygulanması

- Mikrodilüsyon panelleri kullanılacak hale getirildi,
- Panele ilave edilecek antibiyotikğin son konsantrasyonu hesaplandı,

- Antibiyotik solüsyonları hazır hale getirildi,
- 100 µl buyyon besiyeri bütün kuyucuklara dağıtıldı,
- Kullanılacak antibiyotik hangi oranda hazırlandı ise dilüe edilen kuyucuklara 100µl eklendi (11. ve 12. kuyucuklar hariç),
- Antimikrobik ajanlar 5 µl olacak şekilde plaklara ilave edildi (12. kuyucuk hariç).

### **3.3. Antibiyotik stok solüsyon hazırlanması**

0,1 gr antibiyotik hassas terazide tartıldı, mezürle ölçülen 19,5 cc'lik suda daptomisin hafifçe çalkalanarak çözüldü. Antibiyotik çözelti konsantrasyon oranı 5120 µg/ml oldu. Bu karışım sırasıyla önce 1/10 sonra oluşan karışımından tekrar 1/8 oranında dilüe edildi. İlk kuyucuğa 1/8 oranında dilüe edilmiş antibiyotik konsantrasyonundan 100 µl koyulup seri sulandırmaları yapıldı. Test edilecek mikroorganizma için daptomisin konsantrasyon (dilüsyon) aralığı: 0,06-32 µg/ml olarak çalışıldı (Şekil 4.3).

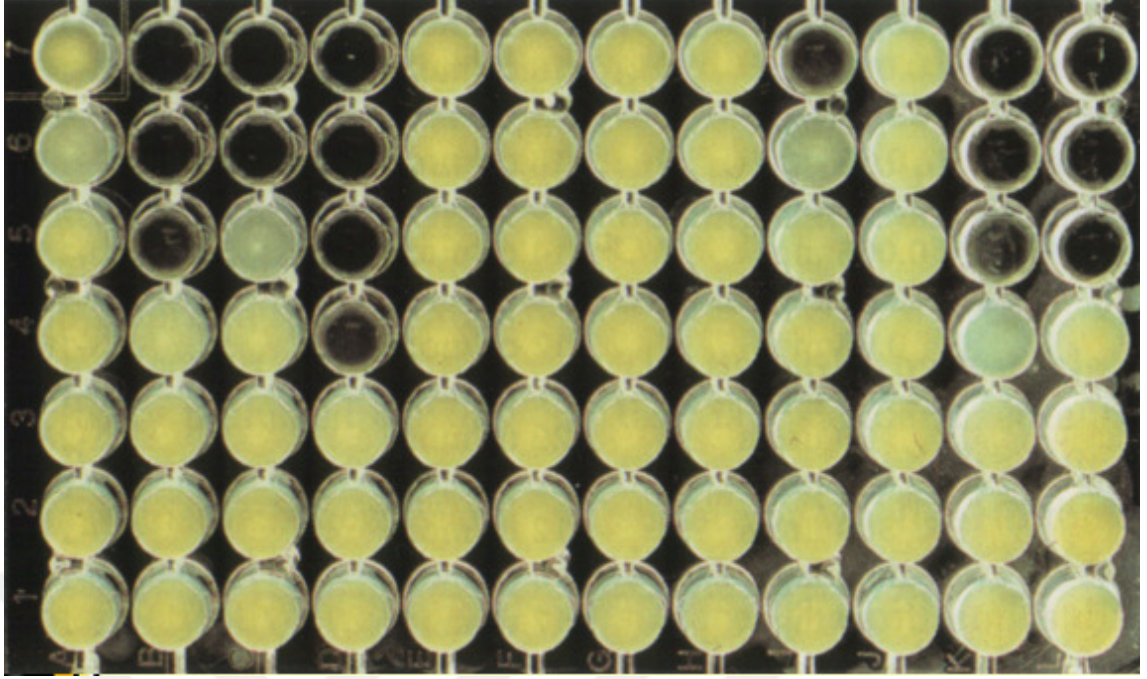
		DAP 32	DAP 16	DAP 8	DAP 4	DAP 2	DAP 1	DAP 0,50	DAP 0,25	DAP 0,125	DAP 0,0625	B (+) K	B (-) K
İzolat 1	D A P →	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		
İzolat 2	D A P →												
İzolat 3	D A P												
İzolat 4	D A P												
İzolat 5	D A P												
İzolat 6	D A P												
İzolat 7	D A P												
İzolat 8	D A P												

**Şekil 3.1. Tüm koyucuklara daptomisin konsantrasyonunun eklendiği mikroplak örneği.**

DAP: Daptomisin, B(+)K: Bakteri süspansiyonu içeren kontrol bölmesi, B(-)K: Bakteri süspansiyonu içermeyen kontrol bölmesi

### 3.4. İnokulum Hazırlanması

Koyun kanlı agardan pasajlanmış mikroorganizmaların 18-24 saatlik taze kültürlerinden öze yardımı ile kolonileri alındı. Alınan 40 bakteri kolonisinden buyyon agarda McFarland 0,50 ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) bulanıklığına eşdeğer bakteri süspansiyonları hazırlandı. Hazırlanan bu süspansiyonlardan 1/10 oranında buyyon besiyeri ile dilüe edildi. Bakteri sayısı  $1 \times 10^7$  CFU/ml olacak şekilde bakteri konsantrasyonları oluşturuldu. Toplam 96 (8x12) kuyucuklu mikroplakların 12. sütun hariç her bir kuyucuğuna 5 µl bakteri süspansiyonu ilave edildi.



Şekil 3.2. İnkübasyon sonrası mikroplak örneği

Mikroplaklar;

1-10. Kuyucuklar = Antibiyotik dilüsyonları ve bakteri süspansiyonu içermektedir.

11. Kuyucuklar = Buyyon besiyeri ve bakteri süspansiyonunu içermektedir.

12. Kuyucuklar = Buyyon besiyeri içermektedir.

İnoküle edilen bakteri final konsantrasyonu  $5 \times 10^4$  CFU/ml oldu. Etüvde  $35^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübasyon sonrasında daptomisin'in MİK değeri belirlendi. Daptomisin MİK değeri  $1 \mu\text{g/ml}$ 'den küçük olan izolatlar duyarlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada 2010-2014 yılları arasında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarında farklı kliniklerde yatan hastalara ait klinik örneklerden izole edilen 40 tane MRSA izolatının disk difüzyonla birçok antibiyotiğe karşı direnç oranları belirlenmiş ve bu izolatların daptomisine olan direnci sıvı mikrodilüsyon tekniği ile araştırılmıştır.

Çalışmamızda hastanemizde izole edilen MRSA kökenlerinin (n:40) 20'si (%50) anestezi yoğun bakım ünitesinden, dokuzu (%22,5) göğüs hastalıkları, beşi (%12,5) genel cerrahi, dördü (%10) nöroloji, ikisi (%5) beyin cerrahisinde yatan hastalardan izole edilmiştir (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1. İzolatların elde edildiği kliniklere göre dağılımı (n:40).**

Klinik	n (izolat sayısı)
Anestezi yoğun bakım ünitesi	20
Cerrahi klinikler	7
Dahili klinikler	13

Çalışmaya alınan MRSA izolatlarının, 10'u kan, dokuzu deri, yedisi idrar, beşi balgam örneklerinden izole edilmiştir (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2. İzolatların elde edildiği klinik örneklere göre dağılımı (n:40).**

Klinik örnek	n (izolat sayısı)
Kan	10
Deri	9
İdrar	7
Balgam	5

Çalışmamızda bütün suşlar duyarlı olarak bulunmuştur. Disk difüzyon testi ile MRSA suşlarının tümüne linezolidin etkin bir diğer antibiyotik olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen MRSA suşlarının klindamisin, eritromisin, siprofloksasin, levofloksasin, ofloksasin, linezolid, trimetoprim/sülfametoksazol, gentamisin, tobramisin, amikasin duyarlılık oranları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptanmış olup, MRSA suşlarında en fazla direnç %87,5 oranıyla ofloksasin ve gentamisine, en düşük direnç %12,5 oranı ile trimetoprim/sülfametoksazole karşı

gelişmiştir. Suşların diğer antibiyotiklere olan duyarlılıkları tablo 4.3'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.3. MRSA suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları [n (%)] .**

Antibiyotikler	MRSA n	MRSA %
Daptomisin	40	100
Linezolid	40	100
Trimetoprim/Sülfametoksazol	35	87,5
Tobramisin	32	80
Klindamisin	29	72,5
Amikasin	26	65
Levofloksasin	12	30
Eritromisin	12	30
Siprofloksasin	6	15
Ofloksasin	5	12,5
Gentamisin	5	12,5

CLSI önerileri doğrultusunda minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$  olan suşlar duyarlı olarak kabul edilmiştir. Daptomisin MİK aralığı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiş olup, MRSA suşlarının tümü için daptomisin MİK<sub>50</sub> 0,25  $\mu\text{g/ml}$  ve MİK<sub>90</sub> 0,50  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptanmıştır.

**Tablo 4.4. MRSA izolatlarındaki Daptomisin MİK değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )**

Mikroorganizma	MİK aralığı	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>
MRSA	0,25-0,50	0,25	0,50

**Tablo 4.5. MRSA izolatlarının daptomisin MİK değerlerine göre dağılımları**

MİK Değeri ( $\mu\text{g/ml}$ )	(n)
0,25	33
0,50	7

**Tablo 4.6. İzole edilen MRSA suşlarının MİK değerleri (µg/ml) ve duyarlılık değerlendirilmesi.**

Suş No	Daptomisin MİK	Suş No	Daptomisin MİK
1	0,25 (S)	21	0,25 (S)
2	0,25 (S)	22	0,25 (S)
3	0,25 (S)	23	0,25 (S)
4	0,25 (S)	24	0,50 (S)
5	0,50 (S)	25	0,25 (S)
6	0,50 (S)	26	0,25 (S)
7	0,25 (S)	27	0,25 (S)
8	0,25 (S)	28	0,25 (S)
9	0,25 (S)	29	0,50 (S)
10	0,50 (S)	30	0,25 (S)
11	0,25 (S)	31	0,25 (S)
12	0,25 (S)	32	0,25 (S)
13	0,25 (S)	33	0,25 (S)
14	0,25 (S)	34	0,25 (S)
15	0,25 (S)	35	0,25 (S)
16	0,50 (S)	36	0,50 (S)
17	0,25 (S)	37	0,25 (S)
18	0,25 (S)	38	0,25 (S)
19	0,25 (S)	39	0,25 (S)
20	0,25 (S)	40	0,25 (S)

S: duyarlı, R: dirençli, MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon



## 5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü, antibiyotik direncini gelecek süreçte dünyanın karşı karşıya olduğu büyük tehditler arasında göstermektedir. Birçok direnç mekanizması kullanan hastane kökenli *S. aureus* ve özellikle MRSA suşları dünya çapında büyük bir sorun teşkil etmektedir. Hastane ve toplum kaynaklı *S. aureus* suşları, ciddi infeksiyonların en önemli nedenlerinden birisidir. İmmün sistem zayıflığı, sık enjeksiyon ve kateterizasyon gibi nedenlerden dolayı yatan hastalarda *S. aureus* infeksiyonları daha sık gözlenmektedir (19).

Daptomisin, çoğu gram pozitif patojene karşı (metisilin, teikoplanin ve linezolide dirençli izolatlar da dahil) hızlı bakterisidal ve konsantrasyona bağımlı etki göstermektedir. Böylece direnç gelişim potansiyeli minimal halde kalmakta, bakteri üreme miktarı hızla azalmakta ve tedavi ve hastanede kalış süresi oldukça kısalmaktadır (74).

Daptomisin gram pozitif bakterilerin membranında depolarizasyona yol açarak nükleik asit ve protein sentezini durdurması sonucu bakteri hücrelerinin ölümüne yol açarak etki etmektedir. Daptomisine direnç mekanizması henüz bilinmemekle birlikte daptomisine dirençli *S. aureus* izolatlarının bazılarında birçok genetik değişiklik belirlenmiştir. Ayrıca, *S.aureus* izolatlarında daptomisine bağlı hücreye difüzyonun azalmasıyla ilgili olarak direnç geliştirebileceği düşünülmüştür (8).

Tayvan'da yapılan ve 2006-2008 yılları arasında kandan izole edilen 470 MRSA izolatının %98,8'i daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur (75).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada, 32 merkezin dahil olması ile gerçekleşen ve 2005-2010 yılları arasında izole edilen toplam 22858 *S. aureus* izolatının (%53,3'ü MRSA) %99,94'ünün daptomisine duyarlı olduğu saptanmıştır (76).

Huang ve arkadaşları daptomisin, glikopeptidler, linezolid ve teikoplaninin Gram pozitif bakterilerde bakterisidal etkinliği üzerine yaptıkları in vitro çalışmada daptomisinin en etkili antibiyotik olduğunu saptamışlardır (77).

Sorlozano ve arkadaşları çoklu ilaç direncine sahip 141 *S. aureus* suşunda in vitro daptomisin duyarlılığını %100 olarak tespit etmişlerdir (78).

Raad ve arkadaşların daptomisin, linezolid ve tigesiklinin biyofilm oluşturan metisiline dirençli stafilokoklardaki etkinliği ile ilgili yaptıkları çalışmada daptomisin ve tigesiklinin inhibitör etkisini linezolid ve vankomisine göre daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir (79).

Denis ve arkadaşlarının agar dilüsyon testi ile yaptıkları bir çalışmada tüm suşlar daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur (80).

Avusturalya ve Yeni Zelanda'dan toplam 10 laboratuvarın katıldığı bir çalışmada 872'si *S. aureus* suşunda daptomisin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır (81).

Sader ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 2005 yılında Avrupa tıp merkezlerinden toplanan *S. aureus* suşlarının daptomisine olan duyarlılığını 100% olarak saptamışlardır (82).

2008 yılında Avrupa'dan katılan 13 ülkeden 28 merkezde 5896 stafilokok izolatin dahil edildiği çalışmada daptomisin duyarlılık oranı %99,97 olarak tespit edilmiştir (83).

Mishra ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada tüm suşlar daptomisin duyarlı olarak bulunmuştur (84).

Sader ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ülkemizde içinde bulunduğu toplam 11 Avrupa ülkesi ve İsrail'in katıldığı geniş bir araştırmada 800 MRSA izolatinin tamamı daptomisine karşı duyarlı olduğu saptanmıştır (82). Yine ülkemizde yapılan ve sırasıyla 175 ve 299 adet MRSA kan izolatinin dahil edildiği iki çalışmada daptomisine karşı direnç saptanmamıştır (85).

Çelikkilek ve arkadaşlarının Türkiye'de stafilokoklar için daptomisinin in vitro duyarlılığı araştırılan çalışmalarda direnç bulunamamıştır (86).

Öksüz ve arkadaşlarının yaptıkları 49 MRSA'nın dahil edildiği çalışmada tüm suşlar daptomisine in vitro duyarlı olarak saptanmıştır (7).

Parlak ve arkadaşları izole edilen 146 *S. aureus* suşunun daptomisine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir (87).

Dinç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm izolatlar daptomisine duyarlı olarak belirlenmiştir (88).

Sancak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada MRSA izolatlarının tümü daptomisine duyarlı bulunmuştur. MRSA infeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklere alternatif bir ilaç olarak uygun görülmüştür (89).

Irmak ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli bir çalışmada 260 MRSA suşunda daptomisine %0,4 oranında direnç saptandığı bildirilmiştir (90).

Bizim çalışmamızda gram pozitif bakteri infeksiyonlarında vankomisine alternatif antibiotiklerden birisi olan daptomisin araştırılmıştır. MRSA izolatlarının tümü mikrodilüsyon yöntemi ile daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur.

Carpenter ve arkadaşları MRSA izolatlarında daptomisinin MİK değerini 1 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Orta duyarlılık ve direnç kriterleri için daptomisine dirençli suşlar tespit edilememiştir (91).

Sader ve arkadaşları daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,50 µg/ml olarak bulmuşlardır (82).

Vidaillac ve arkadaşları üç tane MRSA izolatına karşı daptomisinin in vitro etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada; daptomisinin MİK değerlerini 0,50/1 ve 1 µg/ml şeklinde saptamışlardır (92).

Denis ve arkadaşları agar dilüsyon testi ile yaptıkları bir çalışmada daptomisin MİK<sub>50</sub> and MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 0,25 ve 0,50 mg/litre olarak bulmuşlardır (80).

Fluit ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 38 MRSA izolatında daptomisin MİK aralığı 0,25 – 0,50 µg/ml olup, test izolatları için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırası ile, 0,03 ile 0,50 µg/ml olarak saptanmıştır (93).

Holmes ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 240 izolat için daptomisinin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,50 ve 0,50 µg/ml olarak saptanmıştır (94).

Traczewski ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,50 ve 0,50 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri belirlenmiş ve daptomisin en etkili antibiyotik olduğu saptanmıştır (95).

Vansimohan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 30 MRSA izolatında daptomisin MİK aralığı 0,19-2 µg/ml, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,38-1 µg/ml olarak saptanmıştır (96).

Picazo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,50 ve 1 µg/ml, MİK aralık değeri 0,125-2 µg/ml olarak bulunmuştur. Sadece bir MRSA suşunun MİK değerinin 2 µg/ml olduğu saptanmıştır (97).

Charlton ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 10 MRSA izolatında BMD ve Etest yöntemleri ile daptomisine dirençli izolat elde edilmiştir. CA-MHBs ve Etest yöntemleri ile bu daptomisin dirençli izolatın (referans MİK değeri 1,73 µg/ml) MİK değeri > 1 µg/ml olarak elde edilmiştir (98).

Garrigos ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada tüm daptomisin dirençli suşlar 2 µg/ml'lik bir MİK değeri göstermiştir (99).

Ülkemizde 2009 yılında yapılan EARSS (European Antibiotic Resistance Surveillance System) içindeki çok uluslu çalışmaya Türkiye'den 7 merkez, 260 MRSA izolatı ile katılmıştır. E-test yöntemi ile daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,50-1 µg/ml ve MİK aralıkları 0,064-1,5 µg/ml olarak saptanmıştır (83).

Türkiye'den 6 merkezin, 22 ülkeden 145 merkezin katıldığı çalışmada mikrodilüsyon ve E test yöntemleri ile daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri aynı olup 0,50 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK aralığı 0,25-2 µg/ml olup duyarlılık oranı %99,7 olarak saptanmıştır. 2007 yılında Türkiye'deki daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,50-1µg/ml olup duyarlılık oranı %100 olarak tespit edilmiştir (83).

Hancı ve arkadaşları MRSA suşlarının tümü için daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerlerini 0,125-0,25 olarak tespit etmişlerdir (6).

Çelikkilek ve arkadaşlarının vankomisin, teikoplanin, linezolid ve daptomisin 67 MRSA klinik izolatu üzerine olan etkinliklerini değerlendirdikleri in vitro çalışmada daptomisine ait MİK aralığı 0,05-0,25 µg/ml olarak saptamışlardır. Daptomisin etkinliği vankomisine oranla 8, teikoplanine oranla 16 ve linezolide oranla 4 kat daha fazla bulunmuştur (86).

Bozkurt ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, tüm MRSA suşlarında (n:226) daptomisin ile >0,50 µg/ml MİK değerine ulaşılmıştır (100).

Doğantekin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 26 MRSA suşunun tümü daptomisine duyarlı olarak bulunmuştur (≤ 1 µg/ml). Daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,125-0,25 µg/ml olarak tespit edilmiştir (101).

Öksüz ve arkadaşlarının yaptıkları daptomisin MRSA izolatlarının üzerine olan in vitro etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmada daptomisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,25-0,50 olarak bulunmuşlardır (7).

Picazo ve arkadaşları tarafında ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada MRSA suşlarında daptomisin (MİK: 2 µg/ml) dirençli olarak bildirildiği bir tek çalışmaya rastlanmıştır (97).

Yapılan çalışmalarda MİK<sub>90</sub> değerlerine göre MRSA'larda en etkili antibiyotikler sırasıyla daptomisin ve fusidik asit olup ülkemizde linezolide duyarlılığı azalmış ya da dirençli stafilokok izolatu bildirilmemiştir (102-104).

Bizim çalışmamızda CLSI önerileri doğrultusunda minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri ≤ 1 µg/ml olan suşlar duyarlı olarak kabul edilmiştir. Daptomisin MİK aralığı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiş olup, MRSA suşlarının tümü için daptomisin MİK<sub>50</sub> 0,25, MİK<sub>90</sub> 0,50 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda saptanan MİK değerleri ülkemiz ve dünya genelinde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

**Tablo 5.1. Türkiye’de ve dünyada yapılmış çalışmalarda *S. aureus* kökenlerinde saptanan daptomisin MİK değerleri (µg/ml)’nin yıllara göre dağılımları**

	Yıl	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>	MİK Aralığı	Duyarlılık %’si
Steenbergen ve ark	2005	0,50	1	≤1	100
Sader ve ark	2005	0,25	0,50	0,25-0,50	100
Holmes ve ark	2008	0,50	0,50	≤0,50	99, 9
Sader ve ark	2008	0,50	1	≤1	99, 97
Mendes ve ark	2009	0,50	0,50	≤0,50	100
Bozkurt ve ark	2010	0,125	0,25	<0,50	100
Picazo ve ark	2010	0,50	1	0,125-2	100
Dinç ve ark	2011	0,19	0,38	0,19-0,38	100
Sancak ve ark	2013	0,50	1	0,125-1	99,6
		0,25	0,50	0, 06-1	99,6
Hancı ve ark	2013	0,125	0,25	0,25-0,125	100
Vamsimohan ve ark	2014	0,38	1	0,19-2	93
Dogantekin ve ark	2015	0,125	0,25	0,125-1	100

Yapılan in vitro çalışmalarda daptomisin gram pozitif bakterilerde yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmektedir. Ancak klinik uygulamalarda daptomisin tedavide yetersizliği ile ilgili bildirilen vakalar mevcuttur. Özellikle yüksek inokulum ile olan infeksiyonlar, endovasküler infeksiyonlar, biyomedikal aletler ve bunların uzamış kullanımı, kemik ve eklem infeksiyonları, hemodiyaliz hastaları daptomisin tedavi yetersizliklerinin karşılaştığı durumlardır (101).

Devam eden klinik çalışmalarda daptomisin bakteriyemi gibi daha ciddi infeksiyonlar için kullanılabilir olup olmadığını belirlemeye yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Toplam 40 MRSA suşunu incelediğimiz bu çalışmamızda hastalardan izole edilen suşlar büyük oranda antibiyotik kullanımının ve cerrahi invaziv işlemlerin sık uygulandığı yoğun bakım, ortopedi ve dahiliye kliniklerinden gelen materyallerden elde edilmiştir. Hastaların önemli bir kısmının geniş spektrumlu antibiyotik kullanması, yoğun bakım ünitesinde yatma, cerrahi operasyon geçirme, eklem protezi varlığı, kronik böbrek yetersizliği ve diyabet gibi faktörlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Hastalardan izole ettiğimiz 40 suşun mikrodilüsyon yöntemi ile daptomisin duyarlılığı %100 olarak bulunmuştur. Daptomisin MİK aralığı 0,25-0,5 µg/ml olup, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,50 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmamızda saptanan MİK değerleri ülkemiz ve dünya genelinde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

MRSA, nozokomiyal infeksiyonlara ve son zamanlarda toplum kaynaklı infeksiyonlara da neden olan dünya çapında önemli bir problem oluşturmaktadır.

Ülkemizde antibiyotik kullanımında ciddi sorunlar yaşanması, özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin akılcı olmayan kullanımları, antibiyotiklere direnç gelişiminde önemli faktörlerdendir. Zamanla toplum içinde dirençli kökenlerin oluşturduğu infeksiyonların artmaya başlaması, tedavinin hem maliyetini artırmakta hem de zorlaşmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla antibiyotik kullanımında özenli olunması ve gerek tedavi öncesi, gerekse tedavi sırasında hastaların mikrobiyolojik yönden yakın takibi gerekli olduğu unutulmamalıdır.



## 6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda çoklu ilaç direnci gösteren MRSA izolatlarında daptomisinin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,50 µg/ml olup duyarlılık oranı %100 olarak bulunmuştur.

Daptomisin dirençli Gram (+) patojenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde hızlı bakterisidal etkinliği ve düşük MİK değerlerine sahip olması, günde tek doz kullanım kolaylığı ve doku geçişinin iyi olması, güvenle tolere edilebilmesi gibi özellikleri ile umut vericidir.

MRSA izolatlarında ilk seçenek olarak glikopeptid sınıfı antibiyotiklere karşı direnç probleminin gündeme gelmesi ve direnç oranlarının artması ile alternatif yollara başvurulmuştur. Daptomisin bu alternatif yollar arasındaki önemini gittikçe artacağı düşüncesindeyiz.

MRSA suşlarıyla yapılan in vitro çalışmalarda etkili olarak saptanan antibiyotik ajanların klinik çalışmalarla etkinliğinin desteklenmesi gerekmektedir. Bu infeksiyonlarda mortalite ve morbiditenin yüksek olması nedeniyle tüm merkezler kendi direnç profillerini belirleyerek uygun antibiyotik politikalarını oluşturmalıdır.

Son yıllarda MRSA suşları ile oluşan dirençli infeksiyonların artış göstermesi, bu infeksiyonlarda kullanılan tedavi sırasında duyarlı olmayan suşların ortaya çıkabileceği dikkate alınarak daptomisin MİK değerleri izlenmelidir.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Bannerman Tl.** Staphylococcus, Micrococcus and Other Catalase Positive Cocci that Grow Aerobically: "Murray Pr, Baron Ej, Jorgensen Jh, Pfaller Ma, Tenenbc Rh. Eds. Manual of Clinicalmicrobiology, 8<sup>th</sup> Ed. Washington D. C; Asm Press; **2003**: 384-404.
2. **Kurutepe S, Surucuođlu S, Gazi H.** Metisilin Dirençli ve Duyarlı Stapylococcus Aureus Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *İnfeksiyon Derg*, **2007**; 21 (4): 187-91.
3. **Çetinkaya Ş Y.** Metisilin Dirençli Staphylococcus Aureus İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi ve Kontrolü. *Hastane İnfeksiyon Derg*; **2000**; 4: 205-217.
4. **Özaras R, Tabak F.** Daptomisin. *Klinik Dergisi*, **2010**; 23 (2): 35-8.
5. **Sancak B.** Staphylococcus Aureus ve Antibiyotik Direnci. *Mikrobiyol Bul*, **2011**; 45 (3): 565-76.
6. **Hancı H, Uyamk M H, Bilici D, Albayrak A, Ayyıldız A.** Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisiline Dirençli Stafilokok Suşlarında Daptomisin Etkinliğinin Araştırılması. *knem Derg*, **2013**; 27 (2) :64-69.
7. **Öksüz L, Gürler N.** Klinik Örneklerden İzole Edilen MRSA Suşlarının Kullanıma Yeni Giren Antibiyotiklere İn-Vitro Duyarlılık Sonuçları. *knem Derg*, **2009**; 23 (2): 71-77.
8. **Tabak F.** 2010'da Daptomisin. *knem Derg*, **2010**; 24 (Ek 2): 110-3.
9. **Hayden Mk, Rezai K, Hayes Ra, Lolans K, Quinn Jp, Weinstein Ra.** Development Of Daptomycin Resistance İn Vivo in Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus, *J Clin Microbiol* **2005**; 43 (10) :5285-7.
10. **Tedesco KL, Rybak MJ.** Daptomycin. Pharmacotherapy. **2004**; 24(1): 41-57.
11. **Rybak Mj, Hershberger E, Moldovan T, Grucz Rg.** In Vitro Activities of Daptomycin, Vancomycin, Linezolid and Quinupristin-Dalfopristin Against Staphylococci and Enterococci, Including Vancomycin- Intermediate and Resistant Strains. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**; 44 (4): 1062-6.
12. **Unat EK.** Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. İkinci Baskı, İstanbul: Dergah Yayınları, C. II. **1987**; 430-445.
13. **Kloos WE, Schleifer KH.** İsolation and Characterization of Staphylococci From Human Skin: II. Description of Four New Species: Staphylococcus Warneri, Staphylococcus Capitis, Staphylococcus Hominis and Staphylococcus Simulans. *Int J Syst Bacteriol*, **1975**; 1: 82-87.
14. **Waldvogel FA.** Staphylococcus Aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R. Eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 5<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; **2000**: 2070-92.
15. **Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyolojik Tam. 4. Baskı, İzmir: Barış Yayınları, **2004**: 495 -96.
16. **Ustaçelebi Ş.** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı, İzmir: Güneş Kitabevi, **1999**: 339 -45.

17. **Hiramatsu K.** Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus: A New Model of Antibiotic Resistance. *Lancet Infectious Diseases*, **2001**; 1: 147–55.
18. **Tünger A.** S. Aureus: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Editörler. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları'nda, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; **2004**: 9-22.
19. **Peacock Sj.** Staphylococcus. In Borriello Sp, Murray Pr, Funke G. Eds. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10<sup>th</sup> Ed. Hodder Arnold, London: United Kingdom; **2005**: 771-832.
20. **Ünal S.** Staphylococcus Aureus: Direnç Mekanizmaları. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; **2003**: 23-38.
21. **Öztürk R.** Penisilinler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; **2003**: 223-37,
22. **Kutlu Bs.** Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Staphylococcus Aureus Suşlarında Metisilin Direnci ve E-Test İle Vankomisin MİK Değerlerinin Araştırılması. İstanbul: Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, **2006**.
23. **Özkal A.** Yoğun Bakım Ünitelerinde Metisiline Dirençli Stafilococcus Aureus Kolonizasyonu ve Enfeksiyonu İçin Risk Faktörleri, Uzmanlık Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Van, **2012**: 66s
24. **Grüneberg Rn.** Anti-Gram Positive Agents: What We Have and What We Would Like. *Drugs*, **1997**; 6: 29-38.
25. **Şardan Yç.** Metisilin Dirençli Staphylococcus Aureus Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi Ve Kontrolü. *Hastane İnfek Derg*, **2000**; 4: 205-207.
26. **Ploy M, Grelaud C, Martin C Et Al.** First Clinical Isolate of Vancomycin-Intermediate Staphylococcus Aureus in A French Hospital. *Lancet*, **1998**; 351:1212.
27. **Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H Et Al.** Dissemination in Japanese Hospitals of Strains of Staphylococcus Aureus Heterogeneously Resistant to Vancomycin. *Lancet*, **1997**; 350: 1670-1673.
28. **Centers for Disease Control and Prevention.** Staphylococcus Aureus with Reduced Susceptibility to Vancomycin-United States 1997. *Mmwr*, **1997**; 46:765-766.
29. **Mcmanus J.** Vancomycin Resistant Staphylococcus Reported In Hong Kong. *Bmj*, **1999**; 318:626
30. **Mi-Na K, Pai Ch, Woo Jh Et Al.** Vancomycin Intermediate Staphylococcus Aureus in Korea. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38: 3879-3881
31. **Tsiodras S, Gold Hs, Sakoulas G, Et Al.** Linezolid Resistance in a Clinical Isolate of Staphylococcus Aureus. *Lancet* **2001**; 358 (9277) : 207-8.
32. **Centers For Disease Control And Prevention.** Staphylococcus Resistant to Vancomycin-United States, 2002. *Mmwr*, **2002**; 51: 565-7.
33. **Winn W, Allen S, Janda W, Et Al.** Gram-Positive Cocci. In: Washington C. Winn Jr. Eds. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6. Baskı, Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, **2006**: 623-71.

34. **Bilgehan H.** Gram Olumlu Koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: Fakülteler Kitabevi, **2000**: 239-68, .
35. **The Gram-Positive Cocci.** Part 1: Staphylococci and Related Organism. In: Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G. Eds. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; **2006**: 539-576.
36. **Tevfik C A.** Stafilocoklar. İçinde: Ustacelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, **2003**: 339-84
37. **Moreillon P, Que Y, Glauser MP.** Staphylococcus Aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock) In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; **2005**: 2321-2351
38. **Tunger A.** Staphylococcus Aureus: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Unal S. Eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2004**: 9-38,
39. **Biçer AT.** Hastane İzolatı Staphylococcus Aureus ve Koagülaz Negatif Staphylococcus Suşlarında Metisilin Direncinin Farklı Yöntemlerle Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, **2009**: 70s.
40. **Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları, Bornova: Barış Yayınları, **1994**: 188–211.
41. **Bouvet A, Fournier Jm, Audurier A, Branger C, Orsoni A, Girerd C.** Epidemiological Markers for Epidemic Strain and Isolates in an Outbreak of Nosocomial Oxacillin-Resistant S. Aureus. *J Clin Microbiol*, **1990**; 28: 1338.
42. **Bilgehan H:** Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Bornova: Barış Yayınları, **2002**: 495-504.
43. **Hanaki H, Hososaka Y, Yanagisawa C, Otsuka Y, Et Al.** Occurrence of Vancomycin-Intermediate-Resistant Staphylococcus Aureus In Japan. *J Infect Chemother* **2007**; 13 (2) : 118-21.
44. **Ünal S.** Staphylococcus Aureus: Direnç Mekanizmaları. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Grampozitif Bakteri İnfeksiyonları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2004**: 23-38.
45. **Lodise TP, Mckinnon PS.** Clinical and Economic Impact of Meticillin Resistance in Patients with Staphylococcus Aureus Bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2005**; 52: 113-22.
46. **Dündar V, Dündar DÖ.** Stafilocok İnfeksiyonları. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanaym. Ed. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2008**; 2065-2077.
47. **Kluytmans J, Van B A, Verbrugh H.** Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus: Epidemiology of Underlying Mechanisms and Associated Risks. *Clin Microbiol Rev*, **1997**; 10: 505-520.
48. **Vardar Ü G, Ünlü M, Yağmuroğlu A:** Klinik Örneklerden Soyutlanan Staphylococcus Aureus ve Koagülaz Negatif Stafilocok İzolatlarında Mupirosin Direnci. *Ankem Derg*, **2006**; 20 (4):222-5.
49. **Gülmez D, Deniz G D.** Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde 2000-2011 Yılları Arasında Kan Kültürlerinden İzole Edilen Staphylococcus Aureus Suşlarında Metisiline Direnç Oranları, İstanbul: Antimikrobik Kemoterapi Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler, **2012** ; P: 38.
50. **Boyle-Vavra D R S.** Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus: The Role of Panton-Valentine Leukocidin. *Lab Invest*, **2007**; 87:3-9.

51. **Öztürk R.** Sorun Yaşadığımız Dirençli Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonlarında Tedavi Yaklaşımları, İstanbul: Antimikrobik Kemoterapi Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler, **2012**; K: 15.
52. **Cohen ML.** Staphylococcus Aureus: Biology Mechanisms of Virulence, Epidemiology. *J Pediatr*, **1986**; 108(5 Pt 2):796-9.
53. **Tunger A, Cavuşoğlu C, Korkmaz M.** Stafilokoklar ve Benzer Bakteriler. Asya Mikrobiyoloji, **2005**; 72-81.
54. **Verhoef J, Fluit AC, Schmitz FJ.** Staphylococci and Other Micrococcaceae. In Cohen J, Powderly WG. Eds. Infectious Diseases. 2<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Elsevier Limited; **2004**: 2119-32.
55. **Murray BE, Nannini EC.** Glycopeptides (Vancomycin and Teicoplanin), Streptogramins (Quinopristin-Dalfopristin) and Lipopeptides (Daptomycin). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R .Eds. Principles and Practise Of Infectious Diseases. 6<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; **2005**: 417-35.
56. **Kara O.** Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kliniklerinde Bakteremi Atağı Geçiren Hastalardan İzole Edilen Staphylococcus Aureus Kökenlerinin Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Değerlerinin Tespiti ve MİK Değerleri İle Mortalite Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, **2010**: 45s
57. **Hobbs JK, Miller K, O'Neill AJ, Chopra I.** Consequences of Daptomycin-Mediated Membrane Damage in Staphylococcus Aureus. *J Antimicrob Chemother*, **2008**; 62 (5) : 1003-8.
58. **Kosmidis C, Levine DP.** Daptomycin: Pharmacology and Clinical Use. *Expert Opin Pharmacother*, **2010**; 11 (4) : 615-25.
59. **Rybak MJ.** The Efficacy and Safety of Daptomycin: First in a New Class of Antibiotics for Gram-Positive Bacteria. *Clin Microbiol Infect*, **2006**; 12 (1) :24-32.
60. **Roberts MC.** Environmental Macrolide-Lincosamide-Streptogramin and Tetracycline Resistant Bacteria. *Front Microbiol*, **2011**; 2: 40
61. **Manfredi R, Sabbatani S.** Novel Pharmaceutical Molecules Against Emerging Resistant Gram-Positive Cocci. *Braz J Infect Dis*, **2010**; 14 (1) : 96-108.
62. **Helen W, Boucher G, Ralph Corey.** Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. *Clin Infect Dis*, **2008**; 46: 344-9.
63. **Krut O, Sommer H, Kronke M.** Antibiotic-Induced Persistence of Cytotoxic Staphylococcus Aureus In Non-Phagocytic Cells. *J Antimicrob Chemother*, **2004**; 53:167-73.
64. **Kim SH, Park WB.** Outcome of Inappropriate Initial Antimicrobial Treatment in Patients with Methicillin-Resistant S. Aureus Bacteremia. *JAC*, **2004**; 15: 458-64.
65. **Plata K, Rosato A E and Węgrzyn G.** Staphylococcus Aureus as an Infectious Agent: Overview of Biochemistry and Molecular Genetics of its Pathogenicity. *Acta Biochim Pol*, **2009**; 56 (4): 597-612.
66. **Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Et Al.** Joint Working Party of The British Society for Antimicrobial Chemotherapy; Hospital Infection Society; Infection Control Nurses Association: Guidelines for the Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA). *J Antimicrob Chemother*, **2005**; 56 (6) :1000-18.

67. **Brooks GF, Butel JS, Morse SA.** The Staphylococci. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA .Eds. Medical Microbiology. 12. Baskı, New York: Javets, Melnick & Adelberg's, **2004**; 223-30.
68. **Compernelle V, Verschraegen G, Claeys G.** Combined Use of Pastorex Staph-Plus and Either of Two New Chromogenic Agars, MRSA ID and Chromagar MRSA, For Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. *J Clin Microbiol*, **2007**; 45 (1): 154- 8.
69. **Özen NS, Dağlar D, Baysan BÖ, Yıldırım Ç ve ark.** Metisilin Dirençli Staphylococcus Aureus Suşlarının Saptanmasında MRSA ID Kromojenik Besiyerinin Değerlendirilmesi. *Ankem Dergi*, **2011**; 25 (1): 31-4, .
70. **Hacımustafaoğlu M.** Klinik İpuçları. *J Pediatr Inf*, **2009**; 3: 87-8.
71. **Gold HS, Pillai SK.** Antistaphylococcal Agents. *Infect Dis Clin North Am*, **2009**; 23 (1): 99-131.
72. **Doebbeling BN, Breneman DL, Neu HC, Aly R.** Elimination of Staphylococcus Aureus Nasal Carriage in Health Care Workers: Analysis of Six Clinical Trials with Calcium Mupirocin Ointment. The Muprocın Colloborativa Study Group. *Clin Infect Dis*, **1993**; 17 (3) 466-74.
73. **Clinical and Laboratory Standards Institute,** Performance Standart for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. M100-S24, Wayne, PA,US, January, 2014; S: 68-75
74. **Cha R, Grucz Rg Jr, Rybak Mj.** Daptomycin Dose-Effect Relationship Against Resistant Gram-Positive Organisms. *Antimicrob Agents Chemother*, **2003**; 47(5):1598-603.
75. **Kao Tm, Wang Jt, Weng Cm, Chen Yc, Chang Sc.** In Vitro Activity of Linezolid, Tigecycline, and Daptomycin on Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Blood Isolates From Adult Patients, 2006-2008: Stratified Analysis by Vancomycin Mic. *J Microbiol Immunol Infect*, **2011**; 44 (5): 346-51.
76. **Sader Hs, Moet Gj, Farrell Dj, Jones Rn.** Antimicrobial Susceptibility of Daptomycin and Comparator Agents Tested Against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus and Vancomycin-Resistant Enterococci: Trend Analysis of A 6-Year Period In US Medical Centers (2005-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2011**; 70 (3): 412-6.
77. **Huang Yt, Liao Ch, Teng Lj, Hsueh Pr.** Comparative Bactericidal Activities of Daptomycin, Glycopeptides, Linezolid and Tigecycline Against Blood Isolates of Gram-Positive Bacteria in Taiwan, *Clin Microbiol Infect*, **2008**; 14 (2) : 124-9.
78. **Sorlozano A, Gutierrez J, Roman J, Liebana J, Piedrola G.** Activity of Daptomycin Against Multiresistant Clinical Isolates of Staphylococcus Aureus and Streptococcus Agalactiae. *Microb Drug Resist*, **2009**; 15 (2) :1-3.
79. **Raad I, Hanna H, Jiang Y, Et Al.** Comparative Activities of Daptomycin, Linezolid, and Tigecycline Against Catheter-Related Methicillin-Resistant Staphylococcus Bacteremic Isolates Embedded in Biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**; 51 (5).
80. **Olivier Denis, Ariane Deplano, Claire Nonhoff, Et Al.** In Vitro Activities of Ceftobiprole, Tigecycline, Daptomycin, and 19 Other Antimicrobials Against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Strains From A National Survey of Belgian Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*, **2006**; 50(8): 2680-2685.
81. **Bell Jm, Turnidge Jd, Sader Hs, Jones Rn.** Antimicrobial Activity and Spectrum of Daptomycin: Results From The Surveillance Program in Australia and New Zealand (2008). *Pathology*, **2010**; 42 (5) :470-3.

- 82. Sader HS, Watters AA, Fritsche TR and Jones RN.** Daptomycin Antimicrobial Activity Tested Against Methicillin resistant Staphylococci and Vancomycin Resistant Enterococci Isolated in European Medical Centers (2005). *Bmc Infect Dis*, **2007**; 7: 29.
- 83.** Febril Nötropeni Portalı **Deniz's** Web. Site:  
Erişim: [http://www.Febrilnotropeni.Net/Pdf/Subat/Deniz\\_Gur.Pdf](http://www.Febrilnotropeni.Net/Pdf/Subat/Deniz_Gur.Pdf) (24. 12. **2015**).
- 84. Mishra NN, Bayer AS, Moise PA, Yeaman MR, Sakoulas G.** Reduced Susceptibility to Host-Defense Cationic Peptides and Daptomycin Coemerge in Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus From Daptomycin-Naive Bacteremic Patients. *J Infect Dis*, **2012**; 206(8): 1160–1167.
- 85. Sancak B, Yağcı S, Gür D ve Ark.** MRSA Kan İzolatlarında Vankomisin ile Daptomisin Duyarlılığının Araştırılması ve VISA-HVISA Taranması. 1. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, **2011**; 3-2.
- 86. Çelikkilek N, Özdem B, Gürelık FÇ, Güvenman S, Güner HR, Açıkgöz ZC.** Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus İzolatlarının Vankomisin, Teikoplanin, Linezolid ve Daptomisin in Vitro Duyarlılıkları. Erişim: [http://www.mikrobiyolbul.org/Managete/Fu\\_Folder/2011-03/Html/2011-45-03-512-518](http://www.mikrobiyolbul.org/Managete/Fu_Folder/2011-03/Html/2011-45-03-512-518) (04. 12. 2015)
- 87. Parlak M, Çıkman A, Güdücüoğlu H.** Mustafa Berktaş Kan Kültürlerinden İzole Edilen Staphylococcus Aureus Suşlarında Metisilin ve Diğer Antibiyotiklere Direnç Cilt:3 Sayı:1 S:6-10 Türk Klinik Laboratuvar Dergisi Parlak ve Ark 26. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde Sunulmuştur. Poster No. 33 (18-22 Mayıs **2011**; Kızılağaç/Manavgat).
- 88. Dinç F, Dinç FT, Akça B, Sınırtaş AM, Özakin C.** Kandan İzole Edilen Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA) Suşlarının CLSI ve Eucast Kriterlerine Göre Vankomisin, Tigesiklin, Linezolid ve Daptomisin İn Vitro Duyarlılık Sonuçları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, **2011**; 41 (3): 120-126.
- 89. Sancak B, Yağcı S, Gür D ve Ark.** Vancomycin and Daptomycin Minimum Inhibitory Concentration Distribution and Occurrence of Heteroresistance Among Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Blood Isolates in Turkey. *Bmc Infectious Diseases*, **2013**; 13:583.
- 90. Irmak H, Cesur S, Şimşek H ve Ark.** Türkiye'de Yoğun Bakım Ünitelerindeki MRSA Suşlarında VISA ve VRSA Araştırılması, Suşların Çeşitli Antibiyotikler İçin MİK Değerlerinin Belirlenmesi, XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Özet Kitabı Poster, Bodrum, **2008**;18-610,
- 91. Carpenter Cf, Chambers Hf.** Daptomycin: Another Novel Agent for Treating Infections Due to Drug-Resistant Gram-Positive Pathogens. *Clin Infect Dis*, **2004**; 38:994–1000.
- 92. Vidailiac C, Steed ME, Rybak MJ.** Impact of Dose De-Escalation and Escalation on Daptomycin's Pharmacodynamics Against Clinical Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolates in an In Vitro Model. *Antimicrob Agents Chemother*, **2011**; 55 (5): 2160–2165.
- 93. Fluit AC , Schmitz FJ, Verhoef J and Milatovic D.** In Vitro Activity of Daptomycin Against Gram-Positive European Clinical Isolates With Defined Resistance Determinants. *Antimicrob Agents Chemother*, **2004**; 48: 1007-1011.
- 94. Robert L. Holmes, James H. Jorgensen.** Inhibitory Activities of 11 Antimicrobial Agents and Bactericidal Activities of Vancomycin and Daptomycin Against Invasive Methicillin-Resistantstaphylococcus Aureus Isolates Obtained from 1999 Through 2006. *Antimicrob Agents Chemother*, **2008**; 52 (2): 757–760.

95. **Traczewski MM, Katz BD, Steenbergen JN, Brown SD.** Inhibitory and Bactericidal Activities of Daptomycin, Vancomycin, and Teicoplanin Against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolates Collected From 1985 To 2007. *Antimicrob Agents Chemother*, **2008**; 52(8): 2974–2976.
96. **Vamsimohan A, Gupta S, Muralidharan S.** Daptomycin Resistance in Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. A Report from Southern India *Germs*, **2014**; 4(3): 70–72.
97. **Picazo Jj, Betriu C, Et Al.** Comparative Activity Of Daptomycin Against Clinical Isolates Of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus and Coagulase-Negative Staphylococci. 28. Baskı, *Enferm Infecc Microbiol Clin*, **2009**.
98. **Charlton CL, Hindler JA, Turnidge J, Humphries RM.** Precision of Vancomycin and Daptomycin Mics for Methicillin-Resistantstaphylococcus Aureus and Effect of Subculture and Storage. *J Clin Microbio*, **2014** ; 52 (11): 3898–3905.
99. **Garrigos C, Murillo O, Et Al.** Efficacy of Daptomycin-Cloxacillin Combination in Experimental Foreign-Body Infection Due to Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. *Antimicrob Agents Chemother*, **2012**; 56 (7): 3806–3811.
100. **Bozkurt GY, Kutlu H, Arslan A, Memikoğlu O.** Yeni Bir Antimikrobiyel Ajan: Daptomisin Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, **2010**; 63 (3).
101. **Dogantekin E, Akklinik S.** Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus İzolatlarında Daptomisin Etkinliğinin İncelenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, **2015**; 6:24.
102. **Ertem Tg, Gültekin B, Aydın N, Sakarya S.** Comparative In Vitro Activity of Vancomycin and Teicoplanin Against Staphylococci. *Turkish Journal Of Infection*, **2003**; 17 (2) :185-8.
103. **Tunçcan Og, Keten Dt, Dizbay M, Şenol E.** Susceptibility to Teicoplanin and Daptomycin Among Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Bloodstream Infections in Patients with Ematological Malignancies. *Flora*, **2011**; 16 (2):67-70.
104. **Baysallar M, Kilic A, Aydogan H, Cilli F, Doganci L.** Linezolid and Quinupristin/Dalfopristin Resistance in Vancomycin-Resistant Enterococci and Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Prior to Clinical use in Turkey. *Int J Antimicrob Agents*, **2004**; 23 (5) :510-2.



## **8. EKLER**



## Ek-1 Etik Kurul Onayı

### ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU ONAYI ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY CLINICAL RESEARCHES ETHICS COMMITTEE APPROVAL

BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Daptomisinin Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus İzolatlarına in vitro Etkinliğinin Araştırılması. Investigation of in vitro activity of daptomycin against methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Doç. Dr. Zafer MENGELOĞLU
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Gülin Özge DİLER, Doç. Dr. Esra KOÇOĞLU, Doç. Dr. Tekin TAŞ
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	A.İ.B.Ü Tıp Fakültesi

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2014/122 -24	Tarih (Date): 10 /12/ 2014
	Doç. Dr. Zafer MENGELOĞLU'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir. After reviewing the research file and related documents designed to be performed under the responsibility of, Doç. Dr. Zafer MENGELOĞLU this project was approved by ethics committee (with unanimity/majority of votes).	

Üyeler (Members)	Uzmanlık alanı (Profession)	Kurumu (Institution)	İmza (Signature)
Prof.Dr.Mehmet Yazıcı <i>Başkan (Director)</i>	Kardiyoloji (Cardiology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Doç.Dr. Esra Koçoğlu <i>Bşk. Yrd. (Ass. Director)</i>	Mikrobiyoloji (Microbiology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Doç.Dr. Fatih Demircioğlu <i>Raportör (Rapporteur)</i>	Çocuk Sağ. ve Hast. (Pediatrics)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Prof.Dr. Fatma Töre <i>Üye (Member)</i>	Fizyoloji (Physiology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Doç.Dr. Mesut Erdurmuş <i>Üye (Member)</i>	Göz Hastalıkları (Ophthalmology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Yrd.Doç.Dr. Aysu Kıyan <i>Üye (Member)</i>	Halk Sağlığı (Public Health)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Yrd.Doç.Dr. Akcan Akkaya <i>Üye (Member)</i>	Anestezi (Anesthesiology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Yrd.Doç.Dr. Recep Bayram <i>Üye (Member)</i>	Farmakoloji (Pharmacology)	AİBÜ Tıp Fakültesi (AIBU Medical School)	
Hatice Selen Söylemez <i>Üye (Member)</i>	Eczacı	Serbest Private	
Erol Altındaş <i>Üye (Member)</i>	Avukat	Serbest Private	
Dursun Çelik <i>Üye (Member)</i>	Öğretmen	Bolu Fen Lisesi Bolu Science High School	

## 9. ÖZGEÇMİŞ

21. 11. 1984 yılında Ankara’da doğdu. İlkokulu Çanakkale Gazi İlkokulunda, Ortaokulu Mengen Çok Programlı Lisesinde, Liseyi Bolu İzzet Baysal Anadolu Lisesinde tamamladı. 2010 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesini bitirdi. Aynı yıl içerisinde Bolu Güler Pet Veteriner Kliniğinde klinisyen olarak çalışmaya başladı. 2010-2013 yılları arasında çeşitli üniversitelerin ve Veteriner Hekimleri Oda Başkanlıkları’nın düzenlemiş olduğu hizmet içi eğitim, suni tohumlama, ultrasonografi ve kan analizleri sertifika programlarını bitirdi. 2013 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında yüksek lisansa başladı.