



**T.C.
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* (MRSA) OSTEOMİYELIT MODELİNDE DAPTOMİSİN
TİGESİKLİN VE TEİKOPLANİN ANTİBİYOTİKLERİNİN
ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ASLIHAN BURCU YIKILGAN**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. FATMA NURHAYAT BAYAZİT**

ANKARA- 2014



**T.C.
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* (MRSA) OSTEOMİYELİT MODELİNDE DAPTOMİSİN
TİGESİKLİN VE TEİKOPLANİN ANTİBİYOTİKLERİNİN
ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ASLIHAN BURCU YIKILGAN**

ANKARA- 2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimine başladığım Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çok değerli öğretim üyelerine bilgi ve deneyimlerini benimle paylaştıkları için, başta anabilim dalı başkanı **Prof. Dr. Filiz Akata** olmak üzere **Prof. Dr. Özlem Tansel Bozkurt**, **Prof. Dr. Figen Kuloğlu**, **Doç. Dr. Aygül Doğan Çelik** ve **Doç. Dr. Zerrin Yuluğkural** 'a,

Uzmanlık eğitiminin devamında gerek klinik eğitimimde gerekse tez çalışmamda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaştığı için Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı çok değerli hocam **Doç.Dr. Fatma Nurhayat Bayazit**'e

Tez çalışmam süresince teknik bilgi, laboratuvar çalışması ve yazım aşamasında büyük emeği geçen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Doç. Dr. Murat Dizbay**'a

Eğitim hayatımı her daim destekleyen ve bana her türlü imkanı sağlayan rahmetli **Babam** 'a

Zor zamanlarımda karşıma çıkan bana her konuda olduğu gibi tezi yazma aşamasında da büyük destek olan sevgili eşim **İhsan Yıkılğan**'a

Bana yeniden gülümsemeyi hatırlatan biricik kızım **Nilüferime**

Sonsuz teşekkürlerimle

Dr. Aslıhan Burcu YIKILGAN

ÖZET

Ratlarda Deneysel MRSA Osteomyelit Modelinde Daptomisin, Tigesiklin ve Teikoplanin Antibiyotiklerinin Etkinliklerinin Karşılaştırılması

AMAÇ: Çalışmamızın amacı MRSA etkenli osteomyelitlerde tigesiklin ve daptomisinin antibiyotiklerinin etkinliklerini hem birbirleri ile hem de tedavide altın standart olan teikoplanin ile kıyaslamaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Çalışmamızda 30 adet erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlara genel anestezi altında sağ arka bacak tibia anterior korteksine 1x2 mm genişlikte kortikotomi yapıldı. Kemik içerisine 50 µl Atherosykerole (skleroan ajan) enjekte edildi. Aynı seansta 0.1 ml MRSA suşu dekortike kemik dokusu içerisine enjekte edildi.. 3 hafta sonra osteomyelit tanısı direk grafi ile doğrulandı. Osteomyelit tanısı konan ratlar her bir grupta 6 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrılarak 3 hafta boyunca aşağıdaki tedaviler uygulandı. **Grup 1:**Negatif kontrol grubu:Tedavi yok / **Grup 2:** Teikoplanin 20mg/kg/gün 1x1 I.M. **Grup 3:**Tigesiklin 14 mg/kg/gün 1x1 S.C. / **Grup 4:** Daptomisin 60 mg/kg/gün 1x1 S.C./ **Grup 5:** Daptomisin30 mg/kg /gün 1x1 S.C.) 6 hafta sonunda sakrifiye edilen ratlardan elde edilen kemik kültürleri kanlı agar besi yerine ekilerek 35°C’de 24 saatlik inkübasyon sonrasında üreyen koloniler sayıldı. Verilerin normal dağılıma uygun dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov Smirnov testiyle varyansların homojenliğiyle Levene testiyle araştırıldı. Gruplar arasında üreyen mikroorganizma sayısı yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi.

BULGULAR: Antibiyotik tedavisi uygulanan tüm gruplarda istatistiksel olarak kontrol grubundan daha az mikroorganizma ürediği, tedavi grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi.

SONUÇ: Sonuç olarak MRSA etkenli osteomyelitte kullanım onayı olmayan daptomisin ve tigesiklinin altın tedavide altın standart olan teikoplanin ile benzer etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Osteomyelit, MRSA,Teikoplanin,Daptomisin,Tigesiklin

ABSTRACT

Comparison of Efficiency of Daptomycin, Tygecyclin and, Teicoplanin in Experimental MRSA Osteomyelitis Rat Models.

OBJECTIVE: The aim of our study was to compare treatment efficiency of daptomycin and tygecyclin with teicoplanin, which is the gold standart of the treatment.

MATERIAL and METHODS: In our study, 30 adult female Wistar albino rats were used. Under general anesthesia, a corticotomy was performed at tibia anterior cortex of the right hind leg to rats. 50µl into the bone Atherosyklarol (sclerosing agent) was injected. In the same session 0,1 ml MRSA strain (0,5 Mc Farland) was injected into bone tissue. The diagnosis of osteomyelitis was confirmed by direct graphy after 3 weeks. The rats diagnosed as having osteomyelitisin each group were divided into 5 groups containing 6 rats in each group and treated as below during 3 weeks period. Group 1: Negative control group: No Treatment / Group 2: 1x1 Teicoplanin I.M. 20mg/kg/day Group 3: Tigecycline 14 mg / kg / day, S.C. 1x1 / Group 4: daptomycin 60 mg / kg / day 1x1 SC / Group 5: Daptomisin30 mg / kg / day 1x1 SC). The rats were sacrificed at the end of 6 week period, and than bone culture specimens were inoculated into blood agar plates. After 24 h incubation period at 35° C, the growing colonies were counted. Kolmogorov-Smirnov test was used to show the normal distribution of data, and the Leve test was used for homogeneity of variances by. One-Way Analysis of Variance (One-Way ANOVA) was used to show the significance of the difference between the groups in terms of the number of microorganism significance.

RESULTS: In all groups treated with antibiotics, the number of microorganism was statistically lower than the control group, however there was no difference between the groups.

CONCLUSION: Consequently daptomycin and tigecycline showed similar efficacy with teicoplanin which is a gold standart in treatment in MRSA osteomyelitis.

Keywords: Osteomyelitis, MRSA, Teicoplanin, Daptomycin, Tigecycline

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	İ
ÖZET	İİ
ABSTRACT	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
KISALTMALAR	VII
ŞEKİL DİZİNİ	VII
TABLO DİZİNİ	İX
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Stafilokoklar	4
2.1.1.Genel Özellikleri	4
2.1.2. Virülans ve Patojenite.....	5
2.1.2.1. Yapısal Bileşenler.....	5
2.1.2.2.Enzimler.....	7
2.1.2.3.Toksinler.....	7
2.1.3.Antibiyotik Duyarlılığı Ve Direnç Gelişimi	9
2.1.3.1 Metisilin Direnci	9
2.1.3.2.Glikopeptid Direnci	10
2.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> Enfeksiyonları	12
2.1.4.1 Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	13
2.1.4.2 Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar.....	14
2.1.4.3. Stafilokokların Yayılımı ile Oluşan Enfeksiyonlar	15

2.3.4.4. Organ Enfeksiyonları.....	15
2.2. Osteomyelit.....	16
2.2.1.Tanım	16
2.2.2.Patogenez.....	17
2.2.3.Sınıflandırma.....	17
2.2.4.Etyoloji.....	18
2.2.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> Osteomyeliti.....	20
2.2.5. Epidemiyoloji.....	21
2.2.6. Akut Hematojen Osteomyelit.....	22
2.2.7. Subakut Hematojen Osteomyelit.....	23
2.2.8. Kronik osteomyelit.....	23
2.2.8.1. Kronik Osteomyelit Sınıflaması.....	24
2.2.8.2. Kronik Osteomyelitte Tanı.....	25
2.2.8.3. Kronik Osteomyelitte Tedavi.....	26
2.2.8.3.1. Cerrahi Tedavi.....	27
2.2.8.3.2. Sistemik Antibiyotik Tedavisi.....	28
2.2.9. Teikoplanin.....	30
2.2.10. Tigesiklin.....	32
2.2.11. Daptomisin.....	34
3.GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1 Etik Kurul Onayı.....	37
3.2 Deney Hayvanları ve Deneyin Yapıldığı Ortam.....	37
3.3. Ön Çalışma ve Cerrahi Model.....	38
3.4. Sakrifikasyon ve Mikrobiyolojik Örnek Alınması.....	40

3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	41
4.BULGULAR	43
5.TARTIŞMA	46
6.SONUÇLAR	54
7.KAYNAKLAR	55

KISALTMA LİSTESİ

MRSA: Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*

KOB: Koloni Oluşturan Birim

KNS: Koagulaz Negatif Stafilokok

VISA: Vankomisine Orta Derecede Duyarlı *S. aureus*

VDSA: Vankomisine Dirençli *S. aureus*

hVISA: Heterojen Dirençli *S. aureus*

TK-MRSA: Toplum Kökenli-Metisilin Dirençli *S. Aureus*

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

PVL: Panton- Valentine Lökosidin

NCCLS: National Committee For Clinical Laboratory Standarts

MIC: Minumum İnhibitör Konsantrasyon

TSST-1: Toksik şok sendromu toksini 1

MRG: Magnetik rezonans görüntüleme

MSCRAMM: Microbial Surface Component Reacting with Adherence Matrix

Molecules

KKV: Küçük Koloni Varyantları

TŞS: Toksik Şok Sendromu

CRP: C-reaktif protein

ESR: Eritrosit Sedimentasyon Hızı

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

VRE: Vankomisine Dirençli Enterokok

GSBL: Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz

RESİM VE ŞEKİL DİZİNİ

Resim1:Dental burr ile 1x2 mm genişlikte kanal açılması

Resim 2: 50 mikrolt Atherosyklarole ve 0.1 ml MRSA verilmesi

Resim 3: Abse oluşmuş osteomiyelit modeli

Resim 4: 1 gecelik inkübasyon sonrası üreyen MRSA kolonileri

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: *Staphylococcus aureus*'un virulans faktörleri

Tablo 2: CLSI kriterlerine göre *S.aureus* vankomisin MİK değerleri

Tablo 3: Farklı kriterlere göre kronik osteomyelit sınıflaması

Tablo 4: Etkenlere göre osteomyelit sınıflaması

Tablo 5: Kronik Osteomyelitte Cerny ve Mader Evreleme Sistemi

Tablo 6: An ve arkadaşlarının modifiye edilmiş radyolojik kronik osteomyelit kriterleri

Tablo 7: Deneklerden elde edilen kemiklerdeki gram başına düşen koloni sayısı

Tablo 8: Gruplara Göre Üreyen Mikroorganizma Sayılarına Ait Tanımlayıcı İstatistikler

Tablo 9: Tek Yönlü varyans analizine ilişkin varyasyon kaynaklarına ait istatistikler

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Çeşitli mikroorganizmalara bağlı olarak gelişen, kemik ve kemik iliğinin inflamatuvar bir hastalığı olan osteomyelit yaklaşık olarak 4000 yıl önce yaşamış eski Mısırlılara ait mumyalarda saptanmış ve Hipokrat tarafından da tanımlanmış bir hastalıktır. Gelişen antibiyotikler ve tedavi yöntemlerine rağmen kronikleşme ve rekürrens eğilimi olan, hatta kimi zaman ölüm riski mevcut olabilen osteomyelit, ciddi bir enfeksiyon olma özelliğini günümüzde de sürdürmektedir.

Osteomyelitte hastalığın prognozunu belirleyen faktörler arasında; enfeksiyonun tuttuğu kemik, hastalığın oluş mekanizması ve süresi, hastanın yaşı, altta yatan hazırlayıcı bir olayın varlığı, etken olan mikroorganizmanın virülansı sayılabilir. Osteomyelit en fazla hematogen yolla oluşur. Fakat açık kırık, rekonstrüktif cerrahi sonrası veya damarsal yetersizlik sonucu komşu odaktan yayılımla meydana gelen osteomyelit sayıları da gün geçtikçe artmaktadır. Hastane kökenli osteomyelit olgularında da artış görülmektedir.(1)

Osteomyelitte en sık karşılaşılan etken *S. aureus* 'dur. *S. aureus*'a bağlı oluşan osteomyelitlerin tedavisi daha zordur. *S. aureus* 'un metabolizmasını değiştirerek osteoblast içinde yaşamını sürdürebilmesi 'small-colony variants ' olarak adlandırılır. Bu durum akut enfeksiyonla karakterize kronik enfeksiyona neden olarak osteomyelit tedavisini daha zor hale getirir.(2) *S. aureus* 'un etken olduğu osteomyelit tablolarının tedavisini zorlaştıran diğer bir faktör ise bakterinin biyomateryallere ve organik dokulara bağlanma ve biyofilm oluşturma kapasitesidir. Vücutta bulunan biyofilmlerin %80'i stafilokoklar tarafından oluşturulur.(3,4)

Stafilokok enfeksiyonlarının tedavisi gün geçtikçe zorlaşmaktadır. Penisilinin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bir b-laktamaz olan penisilinaz aracılığı ile stafilokoklarda penisilin direnci ortaya çıkmıştır. Ardından penisiline dirençli stafilokokların tedavisinde penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilin olan metisilin ve türevleri (oksasilin, nafsilin, dikloksasilin gibi) geliştirilmiştir. Metisilinin kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra 1961 'de sporadik olarak (MRSA) suşları ortaya çıkmaya başlamıştır. Bu durum MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklerin kullanımını (vankomisin ve teikoplanin) gündeme getirmiştir. (5)

Günümüzde MRSA etkenli enfeksiyonlarının tedavisinde, glikopeptid grubu (vankomisin, teikoplanin) antibiyotikler tercih edilmiştir. Teikoplanin özellikle kemik iliğine daha iyi penetrasyon göstermesi yan etkilerinin daha az (ototoksisite, nefrotoksisite gibi) olması, ilaç monitörizasyonu gerektirmemesi ve günde tek doz kullanılabilmesi nedeniyle kemik eklem enfeksiyonlarında tercih edilir. Stafilokoklarda antibiyotiklere karşı görülen hızlı direnç gelişimi glikopeptid grubu antibiyotiklere karşı da ortaya çıkmıştır. 1996 yılında Vankomisin Intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) izolatları ve 2002 yılında da Vankomisin Rezistans *Staphylococcus aureus* (VRSA) izolatları görülmeye başlanmıştır. Ayrıca artan glikopeptid kullanımı ile beraber birçok ülkede tespit edilen vankomisin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde yıllar içinde artış (MİK kayması) saptanmıştır. Bu durum klinikte tedavisi zor enfeksiyon tabloları şeklinde karşımıza çıkmaktadır.(6)

Değişen antibiyotik direnç profili nedeniyle MRSA enfeksiyonlarında yeni tedavi seçeneklerini gündeme getirmektedir. Linezolid, Kinupristin (Quinupristin)-dalfopristin, Daptomisin, Tigesiklin, Yeni glikopeptidler: Oritavansin, telavansin ve

dalbavansin yeni tedavi seçenekleri arasındadır. Bu çalışmada MRSA etkenli osteomyelit enfeksiyonlarında yeni tedavi seçenekleri arasında olan ve kemik eklem enfeksiyonları için henüz kullanım onayı olmayan tigesiklin ve daptomisinin antibiyotiklerinin etkinliklerini hem birbirleri ile hem de tedavide altın standart olan teikoplanin ile kıyaslanmasını amaçladık.

2-GENEL BİLGİLER

2.1.STAFİLOKOKLAR

2.1.1.Genel Özellikleri

Stafilokoklar; *Micrococcaceae* ailesinin üyesi olup, deri ve mukozalarda kolonize olabilen, değişik türleri ile farklı hastalıklar yapabilen önemli bir bakteri cinsidir. Stafilokoklar; 0,5–1,5 µm çapında, Gram pozitif, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz mikroorganizmalardır. Tek, çift, dördü veya kısa zincirler şeklinde görülebilen bakteri mikroskopta çoğunlukla düzensiz kümeler (üzüm salkımı) şeklinde görülür. Çoğu fakültatif anaeroptur. Seçici olmayan kanlı agar, nutrient agar, triptik soy agar veya beyin kalp infüzyon agarda izole edilen stafilokok türlerinin çoğunluğu 24 saat içinde 1-3 mm çapında koloni oluştururlar. Koloni rengi krem rengi ve altın sarısı rengi arasındadır. Belirgin kapsül oluşturan suşlar parlak ve ıslak görünüme sahip olabilir. İnkübasyon süresinin 48-72 saate uzatılması koloni morfolojisinin belirginleşmesi ve küçük koloni varyantlarının atlanmaması açısından anlamlıdır. *S. aureus* insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyona neden olan en önemli stafilokok türüdür. *S. aureus* dışındaki stafilokok türleri Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) olarak adlandırılır. Klinik örneklerden en sık izole edilen KNS *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus*'tur. *S.aureus*'un kanlı besiyerinde küçük, pigmentsiz ve hemoliz oluşturmeyen kolonileri küçük koloni varyantları (KKV) olarak adlandırılır.(7)

KKV'lerin yavaş üremeleri metisilin direncinin saptanmasını zorlaştırır. Tür tanımlanmasında ve antibiyotik duyarlılığın belirlenmesinde özel besiyerleri ve moleküler yöntemlerin kullanılması gereklidir.(8,9) KKV ökoryatik hücrelerin çekirdeklerine invaze olup fagositer hücrelerden korunabilir. Böylelikle latent

enfeksiyona neden olabilir.(8) Kistik fibrozis, kronik osteomyelit, uzun süreli aminoglikozid ve trimetoprim-sulfametoksazol kullanan hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarının küçük koloni varyantları oluşturdukları izlenmiştir.(2)

2.1.2. Virülans ve Patojenite

S. aureus virulansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Pekçok hücrenel komponent, enzim, ekstrasellüler toksin ve hemolizin üreterek konak hücrede tahribata sebep olmaktadır.

Hücre Yapısında Bulunanalar	Enzimler	Toksinler
Kapsül	Katalaz	Hemolizinler ($\alpha, \beta, \gamma, \sigma$)
Peptidoglikan Tabaka	Koagülaz	Lökosidin (Panton-Valentin)
Teikoik Asit	Lipaz	Enteretoksinler(SE)
Yüzey Adezivleri	Hyaluronidaz	Epidermolitik Toksin
Biyofilm	Penisilinaz	(Eksfoliyatin)
		Toksik Şok Endromu Toksini (TSST-1)

Tablo 1: *S. aureus*'un virulans faktörleri

2.1.2.1. Yapısal Bileşenler

Kapsül: Stafilokokların %90 'dan fazlasında bulunur. Bakteriyi fagositozdan korur ve bakterinin konak hücreye yapışmasını sağlar.

Peptidoglikan Tabaka: Bakteri hücre duvarı; mikroorganizmaya şeklini veren, yapısal sertlik sağlayan ve dış çevre şartlarına karşı fiziksel bariyer oluşturan bir yapıdır. Hücre duvarına sertlik veren kısım peptidoglikan tabakadır. Peptidoglikan tabaka endotoksin benzeri bir özellik gösterir. Monositlerden interlökin-1 salınımını, kompleman aktivasyonunu, opsonik antikorların üretimini indükler. Makrofajlardaki toll-like reseptörlerle etkileşime girerek fagositik hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarır.(10)

Teikoik Asit: Teikoik asitler hücre duvarını stabilize eden ve hücre membranı ile hücre duvarının bütünlüğünü sağlayan yapıdır. Bunun yanında hücre fonksiyonları için gerekli küçük iyonları bağlaması, mukozal veya diğer yüzeylere tutunma ve hücreler arası etkileşimleri sağlamada etkilidir. Aynı zamanda peptidoglikan sentezinde ve çoğalma sırasında septum oluşumunda rol oynar. Teikoik asitler antijeniktir ve bu antijenik özelliklerinden yararlanılarak bakterilerin gruplandırılmasında kullanılırlar.(8)

Yüzey Adezivleri: *S.aureus*' un deri ve mukozal yüzeylere kolonize olması, bakteri yüzeyinde bulunan MSCRAMM (microbial surface component reacting with adherence matrix molecules)' lerin konak proteinlerine yapışması ile ilişkilidir. Bunların başlıcaları "clumping factor", fibronektin bağlayan protein, kollojen bağlayan protein ve protein A'dır(10)

Biyofilm: Polisakkarit, protein, DNA ve sudan oluşan, stafilokoklar tarafından üretilen tabakadır (slime tabakası= biyofilm). Genetik faktörler, ortam pH'sı, oksijen perfüzyonu, karbon kaynağı ve ozmolarite gibi değişkenlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. Bu ekstrasellüler yapı bakteriyi konak savunmasından ve antibiyotiklerden korumanın yanında bakterinin dokulara ve kateter, greft, protez kapak,

protez eklem ve şant gibi yabancı cisimlere bağlanmasını sağlar. Bu özellik kısmen avirulan olan koagülaz negatif stafilokokların patojenitesinde önemlidir.(11)

2.1.2.2.Enzimler

Koagülaz, katalaz, hyalüronidaz, fibrinolizin, lipaz, , penisilinaz patogeneizde önemli belli başlı enzimlerdir. Katalaz, fagosite edilmiş bakterilerin oksijen radikalleri ile öldürülmesini engelleyerek konak savunma mekanizmalarını bozar. Koagülaz, hücre dışına salınmış veya hücre yüzeyine bağlı şekilde bulunur, trombinle bağlanarak onu aktif hale getirir ve fibrinojenden fibrinin polimerizasyonunu sağlar. Fibrinolizin; stafilokinaz olarak da isimlendirilir. Hemen tüm *S.aureus* türlerince üretilen fibrinolizin, fibrin pıhtısını eriterek enfeksiyonun yayılımını kolaylaştırır. Lipidleri hidrolize eden bu enzim vücudun sebace bölgelerinde, stafilokokların canlılığını devam ettirmesini sağlayan bir fonksiyona sahiptir. Hyaluronidaz hücreler arası matrikste bulunan hyaluronik asidi parçalar. Penisilinaz ise stafilokoklarda penisilin direncine neden olan enzimdir, plazmidle kodlanır ve antibiyotik direncinden sorumludur. (10)

2.1.2.3.Toksinler

Eksfoliyatif Toksinler: Stafilokokal haşlanmış deri sendromuna yol açan toksinlerdir. Eksfoliyatif toksin A ve Eksfoliyatif toksin B olmak üzere iki proteinden oluşur. Eksfoliyatif toksin A ısıya dayanıklıdır ve kromozomal kökenlidir. Buna karşın Eksfoliyatif toksin B ısıya duyarlı bir proteindir ve plazmid kökenlidir. Bu toksinlerin ortak özellikleri süperantijen özelliğinde olmaları ve proteolitik (serin proteazlar) aktiviteye sahip olmalarıdır. Her iki toksinde epidermisdeki stratum granulosum tabakasını oluşturan hücrelerin interselüler bağlarının kopmasına ve stratum granulosumun ayrılmasına neden olurlar.(9)

Toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1): TSST-1, ısı ve proteolize dirençli, süperantijen yapısında, kromozomal kaynaklı bir ekzotoksindir. TSST-1 düşük konsantrasyonlarda endotelial hücrelerden sızıntıya neden olurken, yüksek konsantrasyonlarda hücrelere sitotoksik etki gösterir.(12)

Enterotoksinler: Serolojik olarak 8 farklı stafilokok enterotoksini (A-E, G-I) tanımlanmıştır. Bu toksinler tüm *S.aureus* suşlarının %30-50'si tarafından üretilmektedir. Enterotoksin A hastalıkla ilişkili en yaygın toksindir (13).

2.1.2.4. Hemolizinler

Alfa Hemolizin: Eritrosit, polimorfonükleer lökosit, trombosit ve fibroblastları içeren çok farklı hücre tipi üzerine letal etkiye sahip olan en önemli hemolizindir. Alfa hemolizin dermonekrotik etkiye sahiptir. Ayrıca miyelin kılıflarının demiyelizasyonuna yol açarak nörotoksik etki oluşturur.(13)

Beta Hemolizin: Stafilokokal sfingomyelinazdır. Dermonekrotik etkisi bulunmaz. Toksinin en önemli özelliği sıcak-soğuk lizis yapabilme yeteneğidir. Eritrositler üzerindeki etkisi soğukla artar. Fibroblast ve lökosit hücrelerine de toksik etki gösterir

Gama Hemolizin ve Panton-Valentine Lökosidin (PVL): Gamma toksin *S.aureus* suşlarının hemen tümü tarafından üretilirken, deri enfeksiyonları ile ilişkili ve iki komponentli lökositik toksini olan PVL *S.aureus* suşlarının %5'inden azı tarafından üretilir. Özellikle "Toplum Kökenli-Metisilin Dirençli *S. aureus*" (TK-MRSA)'a bağlı toplum kökenli cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ile akut nekrotizan pnömonilerden izole edilen *S. aureus* suşları tarafından salgılanan önemli bir hemolizindir.

Delta Hemolizin: Moleküler ağırlığı 3 kDa olan hücre dışı bir proteindir. Bu hemolizin *S. aureus* türlerinin %97'sinde ve koagülaz negatif stafilocokların %50-70'inde bulunur Hücre membranlarında surfaktanı parçalayarak kalıcı membran hasarı yapar.(14)

2.1.3.Antibiyotik Duyarlılığı Ve Direnç Gelişimi

S.aureus'larda antibiyotik direnci ilk kez 1930'lu yıllarda klinik kullanıma giren sülfonamid grubu antibiyotiklerle başlamış ve günümüzde linezolid, daptomisin gibi yeni antibiyotiklere kadar uzanmıştır. 1940'lı yılların başında *S.aureus* enfeksiyonlarında penisilin G kullanılmaya başlanmıştır. Ancak kısa bir süre sonra penisilinaz (beta-laktamaz) enzimi sentezleyen izolatlar ortaya çıkmaya başlamış, buna bağlı olarak 1960'ta penisiline dirençli stafilocokların tedavisinde penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilin olan metisilin ve türevleri (Örn; oksasilin, nafsilin, dikloksasilin) geliştirilmiştir. Metisilinin kullanıma girmesinden çok kısa bir süre sonra 1961 'de sporadik olarak MRSA suşları ortaya çıkmaya başlamıştır. Metisiline karşı oluşan direnç sonrası ise tedavide glikopeptid grubu antibiyotikler kullanılmaya başlandı. Ancak maalesef 1996 yılında VISA izolatları, 2002 yılında ise VRSA izolatları görülmeye başlanması ile glikopeptidler de tedavi etkinliklerini yitirmeye başlamıştır.(5)

2.1.3.1 Metisilin Direnci

Metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) izolatlarında beş adet penisilin bağlayan protein (PBP) bulunmaktadır. MRSA izolatlarında ise bunlara ek olarak "PBP2a" olarak adlandırılan ve 78 kDa ağırlıkta olan farklı bir PBP vardır. PBP2a, diğerlerinden farklı olarak beta-laktam yapısındaki antibiyotiklere karşı oldukça

düşük afinite gösterir ve böylece beta-laktam grubu antibiyotiklerin varlığında, yüksek afiniteli PBP'lerin fonksiyonunu görerek peptidoglikan sentezini devam ettirir(15). PBP2a 2.1 kb büyüklüğündeki mecA geni tarafından kodlanır. Metisiline dirençli olan tüm stafilokok izolatlarında bu gen bulunur. mecA geni, stafilokokal kaset kromozomu (Staphylococcal Cassette Chromosome mec; SCCmec) olarak adlandırılan kaset bölgesinde yerleşim göstermektedir.(16)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), MRSA tanısı için sodyum klorür eklenmiş ve 6 mg/ml oksasilin içeren Mueller-Hinton agarı kullanılarak tarama testi yapılmasını önermektedir. Direncin saptanmasına yönelik testlerde depolanmaya daha dayanıklı olduğu ve heterorezistan suşları daha iyi tanıyabildiği için metisilin yerine oksasilin tercih edilir.(17) MRSA suşları sefalosporinler ve karbapenemler dahil tüm betalaktam antibiyotiklere, ayrıca eritromisin, klindamisin ve tetrasikline dirençlidir. Tek tedavi seçeneği glikopeptid antibiyotiklerdir.

2.1.3.2.Glikopeptid Direnci

Günümüzde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklerden vankomisin ve teikoplanin kullanılmaktadır. Vankomisin, *Streptomyces orientalis*'ten teikoplanin ise *Actinoplanes teichomyceticus*'tan elde edilmektedir. Glikopeptid grubu ilaçlar, hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Sentezlenmekte olan hücre duvarının bir komponenti olan peptidoglikanın D-alanil-D-alanin ucuna bağlanarak transpeptidasyon basamağını inhibe ederler.(18)

İlk kez 1996 yılında Japonya'dan Hiramatsu ve arkadaşları vankomisine azalmış duyarlılık gösteren MRSA klinik izolatını tanımlamışlardır.(19). Bu izolatın vankomisin MİK değeri, mikrodilüsyon yöntemi ile 8 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bunu takiben

Amerika ve Fransa'dan bildirilen olgularda vankomisine azalmış duyarlılık gösteren diğer *S.aureus* izolatları da bildirilmiştir.(20,21) Vankomisin MİK değerleri 8 µg/ml olarak saptanan bu izolatlar, CLSI kriterlerine göre VISA olarak tanımlanmıştır.(20,21)

VISA suşlarının ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra 1997 yılında Hiramatsu ve arkadaşları "heterojen VISA (hVISA)"olarak adlandırılan yeni bir vankomisin direnç tipi tanımlamışlardır. Dirençli bu suşlar "Mu 3" olarak adlandırılır. CLSI kriterlerine göre vankomisine duyarlı bulunan (vankomisin MİK değeri ≤ 2 µg/ml) ancak en az 10^4 - 10^5 'te bir sıklıkta olmak üzere, MİK değeri >2 µg/ml olan bir subpopülasyon içeren suşlar hVISA olarak tanımlanmaktadır (22).

Stafilokoklarda gözlenen bu direnç gelişimini takiben ilk kez 2002 yılında Michigan'da bir diyaliz hastasında VRSA izolatı tanımlanmıştır. Dünyada VRSA enfeksiyonunun tanımlandığı 11 olgu mevcuttur. Bu olguların hepsinde PCR ile *vanA* geni gösterilmiştir (23). VRSA'larda ve VISA/hVISA izolatlarında görülen glikopeptid direnç mekanizmaları birbirinden farklılık gösterir. VRSA'larda görülen direnç, *vanA* geni varlığına bağlıdır. Bu genin vankomisine dirençli enterokoklardan *S.aureus*'lara aktarıldığı düşünülmektedir. Vankomisin, sentezlenmekte olan peptidoglikanın D-alanin-D-alanin ucuna bağlanarak transpeptidasyon basamağını inhibe eder. *VanA* gen varlığında ise D-alanin-D-alanin yerine D-alanin-D-laktat sentezlenir. Böylece değişen öncül moleküllere vankomisin bağlanamaz ve hücre duvar sentezini inhibe edemez.(23,24) VISA ve hVISA izolatlarında ise *vanA* geni bulunmaz. Bu izolatlarda vankomisin direncinden sorumlu olan mekanizma tam olarak açıklık kazanmamıştır. VISA ve hVISA izolatlarında görülen olası direnç sebeplerinin başlıcası "vankomisin tüketimindeki artma"dır. Yapılan çalışmalar sonucunda VISA ve hVISA

suşlarında hücre duvarının, vankomisine duyarlı olan *S.aureus* izolatlarına kıyasla daha kalın olduğu saptanmıştır.(25)

Tanım	MİK Değerleri	2006 Öncesi MİK Değerleri
Vankomisin Duyarlı	$\leq 2 \mu\text{g/mL}$	$\leq 4 \mu\text{g/mL}$
Vankomisin İntermediate (VISA)	4-8 $\mu\text{g/mL}$	8-16 $\mu\text{g/mL}$
Vankomisin Direçli (VRSA)	$\geq 16 \mu\text{g/mL}$	$\geq 32 \mu\text{g/mL}$

Tablo 2: CLSI kriterlerine göre *S.aureus* vankomisin MİK değerleri

VRSA, VISA ve hVISA izolatlarının yanı sıra ortaya çıkan bir başka problem ise son yıllarda özellikle bazı merkezlerde ortaya çıkan vankomisin MİK değerlerinde görülen yükselmedir (26,27). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* izolatlarının vankomisin MİK değerleri, CLSI direnç sınır değerlerinin altında olmasına rağmen, yıllara göre değerlendirme yapıldığında vankomisin MİK değerlerinde yükselmeler olduğu gözlenmiştir. Duyarlılık aralığında kalmak koşuluyla vankomisin MİK değerlerinde yükselme görülmesi "MIC creeping" olarak adlandırılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda vankomisin MİK değerleri 1 ve 2 $\mu\text{g/ml}$ olan MRSA izolatları ile meydana gelen enfeksiyonlar karşılaştırıldığında, vankomisin tedavi başarısızlığının, vankomisin MİK değerleri yüksek izolatlarla meydana gelen enfeksiyonlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır.(27)

2.1.4.Staphylococcus aureus Enfeksiyonları

S. aureus'un oluşturduğu enfeksiyonlar;

- Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları
- Toksinleriyle oluşan hastalıklar

- Bakteriyemi ve endokarditler
- Organ enfeksiyonları olmak üzere dört grupta incelemek mümkündür.

2.1.4.1 Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Follikülit: Kıl follikülü kanallarının tıkanması ile karakterize küçük, kızamık ve ağrılı bir lezyondur. Kendini sınırlayarak sistemik belirti vermez.

Fronkül: Follikülitin daha derin inflamatuvar nodüle dönüşümüyle meydana gelen lezyondur. Yüz, boyun, koltuk altı ve kalçalar gibi kıl folliküllerinin yoğun olduğu bölgelerde sıklıkla görülmektedir. Ağrılı, sert, ortasında nekrotik bölümü olan kabarıklık lezyonlardır. Spontan apse drenajı veya cerrahi eksizyon ile iyileşir (28).

Karbonkül: Birçok kıl follikülünü bir arada tutan özellikle boyundaki deri altı dokulara ilerleyen, daha sonra birden fazla sinüsle dışarı açılan, ağrılı, daha büyük lezyonlardır. Hızla ilerleyerek 1 cm çapında, hipertrofik skar dokusu ile çevrili, sert nodüller oluşur. Sistemik bulgular olmasa da, bazen bakteremiye neden olabilir. Tedavide oral antibiyotikle beraber intranazal antistafilokokal pomadlar da kullanılmalıdır (28-30).

İmpetigo: Özellikle çocuklarda görülen yüzeysel deri enfeksiyonudur. Genellikle yüzde kırmızı bir makül şeklinde başlar, bu alan üzerinde ortaya çıkan veziküller hızlı bir şekilde rüptüre olarak sarımsı bir kurut tabakası ile kaplanır. İmpetigoda gözlenen en sık etken stafilokoklardır. Ancak *Streptococcus pyogenes* de impertigoda etken olabilir. Tedavisinde enfeksiyonun yayılımına göre lokal veya sistemik antibiyoterapi uygulanır (10).

Hidradenitis Süpurativa: Aksilla, perine ve genital bölgelerde görülen, ter bezlerinin piyojenik enfeksiyonudur. Lezyonlar fronkül benzeri gruplar halinde görülür. Birden fazla drenaj açıklığı olabilir. İyileştiğinde skar bırakır.

2.1.4.2 Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar

Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu: Çoğunlukla yenidoğan ve bir yaş altındaki çocuklarda görülen eksfoliyatif toksinin sorumlu olduğu enfeksiyonlardır. Hastalık büyük büller ve epidermiste geniş katlar halinde ayrılmayla karakterizedir. Mukozal tutulum yoktur. Cildin sağlam görülen bölgeleri, hafif bir sürtünmeyle soyulur. Buna Nikolsky bulgusu denir. Komplikasyon olarak sepsis, sıvı ve elektrolit kaybı sonucunda hipovolemik şok görülebilir(31).

Toksik Şok Sendromu (TŞS): Menstrüasyonla ilişkili toksik şok sendromu ve menstrüasyonla ilişkisiz toksik şok sendromu şeklinde kendini gösterir. Menstrüel TŞS, TŞST-1 adı verilen toksin ile oluşmaktadır. Menstrüasyonun bitiminden sonraki ilk iki gün içerisinde başlar ve yüksek emici özellikteki tamponlarla direkt ilişkilidir. İlk dönemde ateş, halsizlik, myalji, bulantı ve ishal vardır. Birkaç gün sonra deskuamasyona neden olan eritemli makülopapüler döküntü, bol sulu ishal, konfüzyon ve renal yetmezlik ortaya çıkar. Menstrüel olmayan TŞS, *S. aureus*'un toksin salgılayan suşlarının vajinal kolonizasyonu ile ilişkilidir ve vajinal enfeksiyon, kontraseptif aletlerin kullanımı, doğum, abortus ve postpartum dönem gibi koşullarda oluşur. Tampon kullanımıyla bağlantılı değildir. Vakaların sadece %50'sinde suşlar TŞST-1 üretir diğerleri enterotoksin B ve C üretirler. Tedavide hızlı sıvı, elektrolit kolloid replasmanı çok önemlidir. Antibiyoterapi hemen başlanmalıdır. Tedavinin ilk gününde klindamisin kombinasyonu toksin üretimini azaltmak için önerilmektedir.(31)

Stafilokokal Besin Zehirlenmesi: Isıya dirençli enterotoksin B veya diğer enterotoksinlerle kontamine gıdaların yenilmesi sonucu ortaya çıkar. Genellikle bol karbonhidratlı ve sütlü tatlılar, patates salataları, tavuk eti ve dondurma gibi yiyeceklerle bulaşmaktadır. Yiyecek hazırlayıcılarının ellerinde kolonize olmuş *S.aureus* suşlarının yiyeceklere bulaşması bulaşta oldukça önemlidir. Yemeğin görünümü, kokusu ve tadı normaldir. Hastalık 2-6 saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra bulantı ve kusmayla başlar, daha sonra karında kramplar ve ishal tabloya eklenir. Antibiyotik tedavisine gerek kalmadan 8 saat içerisinde kendini sınırlar.(31)

2.1.4.3. Stafilokokların Yayılımı ile Oluşan Enfeksiyonlar

Bakteriyemi: Stafilokokların yaptığı bakteriyemiler hastane kökenli ve toplum kökenli olmak üzere iki grupta incelenmektedirler. Hastane kökenli MRSA bakteriyemiler daha çok kateterlerden ve diğer invaziv girişimlerden kaynaklanırken toplum kökenli stafilokokal bakteriyemiler genellikle selülit, osteomyelit, endokardit ve pnömoni gibi bir odaktan kaynaklanır.

Endokardit: *S. aureus* endokarditte en sık mitral kapağı tutar, ancak aort kapağı tutulumunda prognoz daha kötüdür. Etken olduğu endokarditler akut başlar ve hızla ilerler. Endokarditte yüksek ateş, kalpte üfürümler, yaygın metastatik enfeksiyonlar ve emboliler, miyokardiyal abse, perikardit, mikotik anevrizmalar, bilinç değişiklikleri, akut bakteriyel menenjit ve kalp yetmezliği hızla gelişebilir.(31)

2.3.4.4. Organ Enfeksiyonları

Pnömoni ve ampiyem: Toplumdan kazanılmış *S. aureus* pnömonisi en sık viral alt solunun yolu enfeksiyonlarından sonra görülür. Genellikle influenza enfeksiyonundan birkaç gün sonra başlar. İnfluenza epidemilerinin olduğu dönemlerde sıklığı artar.

Hastane kökenli *S.aureus* pnömonisi genellikle entübasyon yada aspirasyon sonucu meydana gelir. Enfekte trombotik emboli ya da triküspiddeki vejetasyonlara bağlı olarak hematojen yollarda *S.aureus* pnömonisi gelişebilir. Pnömonikal pnömoni tedavisine cevap vermeyen, hızlı kaviteasyon gösteren, birden fazla konsolidasyon alanı görülen ve plevral ampiyemle birlikte giden pnömoni olgularında *S. aureus* etken olarak düşünülmelidir(10). Radyolojik olarak en sık lobar pnömoni şeklinde görülmesine rağmen segmenter tutulum ya da bilateral yama tarzında görünüm de olabilir. Ampiyem, piyopnömotoraks, çok sayıda abseler, plevral efüzyon, bronkoplevral fistül, pulmoner venlere septik trombus gelişimi ve pnömatosel gibi komplikasyonlar görülebilir(32).

Septik artrit: Puberte öncesinde gelişen septik artritlerde en sık rastlanılan etken *S.aureus*'tur. Erişkinlerde ise septisemi komplikasyonu olarak ya da romatoid artrite sekonder gelişir. Tutulan eklemlerde şişlik, sıcak artışı ve ağrı gözlenir. Kalça, diz, omuz, el bileği ve parmak eklemlerinde görülür. Tanı eklem aspirasyonu ile konulur. Yayımda polimorfonükleer lökositler ve gram pozitif koklar görülür. (9)

2.2. OSTEOMİYELİT

2.2.1.Tanım

Osteomiyelit, farklı mikroorganizmalara bağı olarak gelişen, kemik ve kemik iliğinin inflamatuvar bir hastalığıdır. Osteomiyelit, mikroorganizmaların kemiğin periost, medüller kavite, korteks gibi çeşitli komponentlerine invazyonu sonucu gelişen enflamasyon, destrüksiyon, nekroz ve yeni kemik oluşumuyla karakterize bir patolojidir.(33)

2.2.2. Patogenezi

Osteomiyelit gelişmesi sırasında mikroorganizmalar kemiğe 3 yolla ulaşırlar:

1. Hematojen yol (Sepsis veya bakteriyemi sırasında)
2. Direkt inokülasyon (Açık kırık, penetrasyon, ponksiyon veya cerrahi girişim sonrası)
3. Komşu dokulardan yayılım

Lokal travma, kronik hastalık, malnutrisyon ve immun yetmezlik gibi faktörler osteomiyelit gelişmesinde kolaylaştırıcı rol oynamaktadırlar.(34)

2.2.3. Sınıflandırma

Osteomiyelitte enfekte olan kemik, hastalığın oluş mekanizması, hastalığın süresi, hastanın yaşı, altta yatan hazırlayıcı bir olayın varlığı ve diğer bazı konakçı faktörler belli başlı prognostik faktörlerdir. Bütün bunlar göz önüne alınarak osteomiyelitin değişik sınıflandırmaları yapılmıştır. (35,36)

<p>Hastalığın Süresine Göre</p> <p>Akut: Sistemik hastalık var/ Kemik değişikliği yok/ Hikaye 10 günden az.</p> <p>Subakut: Sistemik hastalık hafif / Kemik değişikliği var/ Hikaye 10 günden fazla daha önce atak yok.</p> <p>Kronik: Sistemik hastalık var veya yok/ Kemik değişikliği var/Hikaye eski/ Önceden enfeksiyon atağı veya atakları var.</p>
<p>Konakçı Cevabına Göre</p> <p>Pyojen Kronik: Sistemik hastalık var veya yok/ Kemik değişikliği var/Hikaye eski/ Önceden enfeksiyon atağı veya atakları var. Etken Gram negatif veya pozitif bakteriler.</p> <p>Non pyojenik(Granulamatöz): Etken spiroket veya mikobakterium gibi bakteriler.</p>
<p>Oluş Mekanizmasına Göre</p> <p>Hematojen Osteomyelit (Seconder veya İndirekt)</p> <p>Primer Osteomyelit (Direkt Osteomyelit)</p> <p>Vasküler Yetmezliğe Bağlı Olan Osteomyelit</p> <p>Kronik Osteomyelit</p>
<p>Tuttuğu Yere veya Konakçı Cevabına Göre</p> <p>Anatomik Sınıflama</p> <p>Evre 1: Meduller Osteomyelit</p> <p>Evre 2: Superfisyal Osteomyelit</p> <p>Evre 3: Lokalize Osteomyelit</p> <p>Evre 4: Diffüz Osteomyelit</p>
<p>Fizyolojik Sınıflama</p> <p>A: Normal Konakçı</p> <p>B: İmmüniteyi veya yara iyileşmesini bozan lokal (L) veya sistemik (S) faktörlerin olması</p> <p>Bs: Sistemik olarak riskli konakçı: İleri yaş, steroid kullanımı, malnütrisyon, böbrek veya karaciğer yetmezliği, diyabetüs mellitus, malign hastalıklar</p> <p>Bl: Lokal olarak riskli konakçı: Kronik olarak lenfödemi, venöz staz, arteritis, büyük ve küçük damar yetmezliği, lokal duyu kaybı, sigara alışkanlığı, radyasyon fibrozisi ve skara bağlı olumsuz faktörlerin varlığı</p> <p>C: Minimal sakatlık, engelleyici morbidite ve/veya kür için kötü prognoz</p>

Tablo 3: Farklı kriterlere göre kronik osteomyelit sınıflaması

2.2.4. Etyoloji

Osteomyelitte oluş mekanizmasına göre, yaşa ve alta yatan hastalığa göre etken mikroorganizmalar farklılık gösterebilmektedir. Bunun yanında osteomyelitte en sık saptanan bakteri *S.aureus*'dur. *S.aureus*'u Gram negatif enterik basiller izler. *S.aureus* özellikle akut hematogen osteomyelitte ve vertebral osteomyelitte en sık izole edilen mikroorganizmadır. Protez eklem enfeksiyonlarında *S.epidermidis* özellikle etken olarak karşılaşılr (37). Üriner kaynaklı osteomyelitlerde gram-negatif basiller, IV ilaç kullanıcılarında ise *P.aeruginosa* ve *Serratia marcescens* en sık etkenler olarak gözlenmektedir. Penetran yaralanmalar sonrası gelişen osteomyelitlerde ve diyabetik hastalarda polimikrobiyal flora saptanabilmektedir. İnsan ve hayvan ısırıklarında *Pasteurella multocida* ve *Eikenella corrodens* osteomyelit etkeni olabilirken, uzun süre hastanede yatanlarda *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa*, *Candida* spp. gibi etkenler sık olarak gözlenebilmektedir (38). Anaerob mikroorganizmalar da osteomyelitte etken olarak karşımıza çıkabilir. Anaeroblar içerisinde özellikle *Bacteroides* ve *Peptococcus* türleri en sık karşılaşılan bakterilerdir. İnvaziv fungal enfeksiyonların sıklığının artması ile birlikte fungal artrit ve osteomyelit vakaları da artmıştır (39).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda elde edilen sonuçlar da benzerdir. Kasımoğlu ve arkadaşlarının kronik osteomyelitleri kapsayan çalışmalarında en sık izole edilen bakteri olarak (%46) *S. aureus* saptanmıştır (40). Hacettepe Üniversitesinden Duru ve arkadaşları 17 osteomyelit olgusunun 12'sinde etkeni *S. aureus*, 3'ünde pseudomonas, 2'sinde klebsiella olarak saptamışlardır (41).

KLİNİK TABLO	ETKEN
Klasik Osteomyelit	<i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin duyarlı veya dirençli)
Yabancı Cisim Reaksiyonu	Koagülaz negatif Stafilokoklar veya <i>Propionibacterium spp</i>
Nozokomiyal Enfeksiyonlar	<i>Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Candida spp</i>
Diyabetik Ayak Yarası veya Dekübit Ülseri	Streptokoklar ve/ veya Anaerobik Bakteriler
Sickle-cell Anemi	<i>Salmonella spp</i> veya <i>Streptococcus pneumoniae</i>
HIV Enfeksiyonu	<i>Bartonella henselae</i> veya <i>B. quintana</i>
İnsan veya Hayvan Isırıkları	<i>Pasteurella multocida</i> veya <i>Eikenella corrodens</i>
İmmünyetmezlik Hasta	<i>Aspergillus spp, Candida albicans, veya Mycobacteria spp</i>
Tüberkülozun Yaygın Görüldüğü Bölgeler	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Bazı Etkenlerin Endemik Olarak Görüldüğü Bölgeler	<i>Brucella spp, Coxiella burnetti, Bölgeye Özel Mantar Türleri</i>

Tablo 4: Etkenlere göre osteomyelit sınıflaması

2.2.4.1. *Stafilokok Aureus* Osteomyeliti

Kemik dokusunun harabiyetinden üç mekanizma sorumlu tutulur (42) .

1. Bakterinin salgıladığı endotoksinlerin yaptığı hasar (bakteriyel lipopolisakkarit).
2. Bakterinin osteoklastik aktiviteyi tetiklemesi.
3. Kemik matriks sentezinin engellenmesi

Enfeksiyöz mekanizmaların önceleri osteomyelit sonrası gelişen kemik hasarında daha etkin olduğu düşünülürken, günümüzde mikroorganizmaların tetiklediği inflamatuvar yanıtın kemik hasarında daha etkin olduğu ortaya konmuştur. Osteomyelit sonrası gelişen kemik hasarında makrofajlardan ve bakteriyel lipopolisakkarit ile stimüle edilen osteoblastlardan salınan IL-1, IL-6, IL-11, nitrik oksit ve TNF gibi sitokinler rol oynar. Yapılan çalışmalarda inflamasyonun diğer bir kolu olan lökotrienlerin de osteoklastik aktiviteyi artırdığı saptanmıştır. Lökotrien yolağının 5-lipoksigenaz enzim inhibisyonu ile bloke edilmesi sonucunda kemik rezorpsiyonunda azalma olduğu gösterilmiştir. (43).

S. aureus'un osteomyelitte bu inflamatuvar mekanizmalara ek farklı patojenik özellikleri vardır. *S. aureus* hem PG-E2 üzerinden T lenfositlerinin çoğalmasını engeller (44) , hem de ortama gelen nötrofillerin ve monositlerin içine girerek konak savunma mekanizmalarından korunur (45). Böylece akut alevlenmeler ile karakterize tedavisi zor kronik enfeksiyonlar oluşur (46). Kollajen bağlayan protein ve fibronektin bağlayan protein yapıları *S. aureus*'un organik yüzeylere tutunmasını sağlar. *S.aureus*'un salgıladığı protein-A, Ig G'nin Fc kısmına bağlanarak kompleman sistemini bloke eder. Ayrıca nötrofilleri parçalayan lökosidin adlı maddeyi salgılar. (47,48) . Kemik kendisine ait, kollajen olmayan osteonektin, osteokalsin, proteoglikan ve sialoprotein gibi materyalleri de *S. aureus* için hedef proteinlerdir. Özellikle kemik sialoproteinini ile sadece osteomyelit etkeni olan *S.aureus* suşları arasında spesifik bir bağlantı modeli olduğu gösterilmiştir (47) .Bu bağlantı ısıya hassas ve geriye dönüşümlüdür.

Osteomyelit gelişimine neden olan virülans faktörlerinden birisi de bakterilerin biyomateryallere ve organik dokulara bağlanma ve biyofilm oluşturma kapasitesidir. Bakterilerin birbirlerine ve materyallere bağlanarak oluşturduğu bu yapı polisakkarid

içeriklidir. Antibiyotiklerin mikroorganizmalara ulaşmasını engeller (49,50). Vücutta bulunan biyofilmlerin %80'i stafilokoklar tarafından oluşturulur(51).

2.2.5. Epidemiyoloji

Osteomyelit bütün yaş gruplarını etkilemekle birlikte, akut hematojen osteomyelit çoğunlukla çocukluk çağında gözlenir. Artan trafik kazaları ve çeşitli ortopedik girişimler nedeniyle osteomyelit insidansında artış gözlenmektedir. Ayrıca İmmün yetmezliği olan hasta grubundaki artışla birlikte bu grupta görülen osteomyelit oranı ve beklenen etken mikroorganizmaların dışında mikroorganizmaların saptanma olasılığı artmıştır (53). Yapılan bir araştırmada farklı ülkelerde farklı insidansların bulunduğu bildirilirken, aynı çalışmada daha çok yaz sonu ve sonbahar başında osteomyelit insidansının arttığı tespit edilmiştir. 55 Genel insidans 100.000' de 15 ile 170 arasında değişmektedir (40).

2.2.6. Akut Hematojen Osteomyelit

En sık rastlanan kemik enfeksiyonu tipidir. Çoğunlukla çocukluk çağında görülür. Her yaş grubunda erkeklerde kadınlardan daha sık olduğu bilinmektedir. Akut hematojen osteomyelit bakteriyemi sonucunda oluşur. Bakteriyemi sonucunda kemiğe bakterilerin ekilmesinde genellikle lokalize travma, kronik hastalık, malnütrisyon ve immün sistem yetersizliği gibi faktörler etkilidir.(54)

Çocuklarda osteomyelit uzun kemiklerin metafizini tutar. Bakteriler inflamatuvar reaksiyona neden olur. Bu inflamatuvar reaksiyon ödeme; ödem vasküler konjesyona, vasküler konjesyon ise küçük damarlarda tromboza neden olur. Kemik dokudaki lokal iskemi, nekroza neden olur. Nekroz ilerledikçe apseleşir; apse ilerledikçe intramedüller basınç artar. Böylece kortikal iskemi gelişir. Apse zayıflamış korteksi geçerse

subperiostal apse meydana gelir. Eğer, akut osteomyelit bu aşamaya kadar tedavi edilirse kronikleşmenin önüne geçilebilir (55). Enfeksiyonun, ölü kemik dokunun ve yetersiz konak cevabın bir arada oluşu, hastalığın kronikleşmesine yol açar. Akut osteomyelitin yetersiz tedavi edildiğinde kronik osteomyelite dönüştüğü klinik ve histolojik çalışmalarla gösterilmiştir (56).

Fizisler kapandıktan sonra akut hematojen osteomyelit daha nadir görülmektedir. Erişkinde kemiğe hematojen yolla enfeksiyonun yayılması immün sistemi zayıf hastalarda gözlenir. En sık vertebra korpusları etkilenir. Bu hastalarda apse yavaş yayılmakta ve nadiren büyük sekestralar oluşmaktadır. Eğer kortikal kemikte lokal destrüksiyon olursa patolojik kırık oluşabilmektedir (57).

2.2.7. Subakut Hematojen Osteomyelit

Akut osteomyelite göre sinsi başlangıçlı olan subakut hematojen osteomyelitin semptomlarının daha hafif seyretmesi nedeniyle tanısı daha zor konmaktadır. Subakut osteomyelitin sinsi seyri kemik direncinin artmış olması, bakterinin virulansının düşük olması veya semptomlar başlamadan önce antibiyotik kullanılmış olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (58). Subakut osteomyelitin en sık karşılaşılan örneği brodie apsesidir. Özellikle genç erişkinlerde ve sıklıkla alt ekstremitelerin uzun kemiklerinde görülür (55). Fizler kapanmadan önce en sık metafizer bölge, erişkinlerde ise epifizometafiziyal bileşke tutulur. Uzun süre devam eden lokalize ağrı en sık olan şikayettir. Radyografide etrafı sklerotik kemik dokusu ile sarılmış bir apse görünümü vardır.

Subakut osteomyelitin sinsi seyri nedeniyle tanı 2 haftadan daha uzun sürede konabilmektedir. Sistemik semptom ve bulguların çok az olduğu subakut

osteomyelitte, genellikle ateş yoktur, olursa hafif yükselmiştir. Tanıyı destekleyen tek sabit belirti, hafif orta şiddette ağrı olarak bildirilmektedir. Lökosit sayısı genellikle normaldir. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) olguların sadece %50'sinde yükselmiştir ve kan kültürü genellikle negatiftir (59).

2.2.8. Kronik osteomyelit

Kronik osteomyelit kemik dokusunda mikroorganizma invazyonu ile nekroza neden olan ve debridman gerektiren enfeksiyon olarak tanımlanır (60). Kronik osteomyelit akut enfeksiyonun sekeli olarak ortaya çıkmaktadır. Kemik dokusu, enfeksiyona karşı çok özel fizyolojik ve anatomik özelliklere sahiptir. Mikroorganizma kemiğe invaze olunca önce akut bir inflamasyona neden olur. Birçok inflamatuvar faktör ve lökositler kemikte yıkım ve nekroza yol açar ve sekestrum olarak bilinen irili ufaklı nekrotik kemik parçacıkları oluşur. enfekte ve nekroze kemiğin (sekestr) etrafı reaktif olarak gelişen kemik dokusuyla (involukrum) çevrelenir. Etken mikroorganizmalar primer enfeksiyondan sonra yıllarca bu sekestrum içerisinde canlılıklarını sürdürebilirler.

2.2.8.1. Kronik Osteomyelit Sınıflaması

Kronik osteomyelit için en çok kabul edilen sınıflandırma; Cierny ve ark.(62) tarafından hastalığın derecelendirilmesi için anatomik ve fizyolojik kriterler göz önüne alınarak yapılan sınıflandırmadır.

Anatomik Sınıflama		
1	Medüller	Endosteal Hastalık
2	Süperfisyal	Örtü Defekti Nedeniyle Kortikal Yüzey Enfektedir
3	Lokalize	Stabilite Yaratmadan Çıkarılabilecek Kortikal Sekestrum
4	Diffüz	Önceki Tablolara Ek Olarak Debridman Öncesi ve Sonrası Mekanik Stabilite
Fizyolojik Sınıflama		
Konak A	Normal	Lokal Damarlanması İyi Olan İmmün Yeterli Konak
Konak B	Bozulmuş	İmmüniteyi veya Yara İyileşmesini Bozan Lokal veya Sistemik Faktörlerin Olması
Konak C	Engelleyici	Minimal Sakatlık, Engelleyici Morbidite ve/veya Kür İçin Kötü Prognoz

Tablo 5: Kronik Osteomyelitte Cerny ve Mader Evreleme Sistemi

2.2.8.2. Kronik Osteomyelitte Tanı

Osteomyelit tanısında kemik biyopsisi ve kültürü altın standart olarak kabul edilmekle birlikte hastanın öyküsü, fizik muayenesi, görüntüleme yöntemleri de tanıda önemlidir. Ağrının yeri, süresi, sistemik enfeksiyon bulguları ve travma öyküsü iyi sorgulanmalıdır. Fizik muayenede deri ve yumuşak doku bütünlüğüne odaklanılmalı, hassasiyet bölgeleri belirlenmeli, kemik stabilitesi ölçülmeli ve ekstremitenin nörovasküler durumu değerlendirilmelidir. Diabetes mellitus gibi eşlik eden diğer hastalıklarda damar ve sinir patolojilerinden dolayı belirtiler izlenmeyebilir. Nekrotik kemik açık görülmesi ve fistül açıklığı izlenmesi kronik osteomyelit için tanı koydurucudur. 2x2 cm veya daha geniş diyabetik ayak ülserlerinin osteomyelit varlığının önemli bir belirleyicisi olduğu bildirilmiştir(63). Laboratuvar incelemeleri genellikle nonspesifiktir ve enfeksiyonun şiddetini belirtmez. ESH ve C-reaktif protein

(CRP) hastaların çoğunda yükselmekte ve lökosit sayısı hastaların sadece %35'inde artmaktadır (64).

Kronik osteomyelitin değerlendirilmesinde çok sayıda görüntüleme yöntemi kullanılabilir. Bununla birlikte hiçbir teknik osteomyelit kesin tanısında yeterli değildir. Görüntüleme yöntemleri tanıyı doğrulamak ya da cerrahi tedaviye hazırlık amacıyla yapılmaktadır(65). Osteomyelit tanısında direkt radyografiler başlangıçta istenilen ilk görüntüleme yöntemidir. Kronik osteomyelitte fokal trabeküler yapının bozulması, periost reaksiyonu, belirgin kemik yapım yıkımı ve yumuşak doku şişliği şeklinde bulgular izlenebilir.

Üç fazlı kemik taraması Teknesyum (^{99m}Tc)-difosfonat kullanarak osteoblastik aktivitenin ve kemik metabolizmasının artışı gösterir. Duyarlılığı %94, özgüllüğü ise %95 olarak bildirilmiştir (66). Galyum-sintigrafisi enjeksiyondan 24 saat sonra görüntülenmesi, nöropatik değişiklikleri olan dokular, kırık ve tümör varlığında tutulumun artması nedeniyle az tercih edilir. Kronik osteomyeliti diabetik ayağın nöropatik artropatisinden ayırmada faydalı olan indium işaretli lökosit sintigrafisi, teknesyum ve galyum sintigrafisine göre daha duyarlıdır. Bilgisayarlı tomografi; kemik korteksteki yıkımın, periost reaksiyonunun, küçük odakların, medulla içindeki gaz ve yabancı cisimlerin tespitinin, sinüs yolunun, sekestr oluşumunun ve yumuşak dokunun durumunun gösterilmesinde yol gösterici çok önemli bir tanı aracıdır(67). Duyarlılığı manyetik rezonans görüntülemeye göre daha düşük olduğu için osteomyelit tanısında rutin kullanılmaz. Manyetik rezonans görüntüleme kullanılmayan durumlarda tercih edilir. Manyetik rezonans görüntüleme osteomyelitin erken tanısında, kemik ve yumuşak dokunun normal ve anormal dokusunun ayrılmasında önemlidir. Osteomyelitin tanısında en doğru tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir (68).

Tüm bu tanı yöntemlerinin yanında daha öncede belirttiğimiz gibi osteomyelitte altın standart tanı yöntemleri biyopsi, kültür ve kültür antibiyogramdır. Biopsinin sadece tanının konması için değil, aynı zamanda uygun antibiyotik tedavinin uygulanması için de yardımcı olduğu bildirilmektedir (64,65).

2.2.8.3. Kronik Osteomyelitte Tedavi

Kronik osteomyelit tedavisinin temel bileşenleri (68)

1-Uygun ve yeterli drenaj ile debridman

2- Ölü boşluğun doldurulması

3-Yara bakımı

4- Uygun antibiyotik kullanımı

Osteomyelitte optimal düzeyde tedavi sağlayabilmek için öncelikle hastanın sistemik hastalıkları, özellikle diyabet kontrol altına alınmalıdır. Osteomyelit tedavisi, multidisipliner bir tedavi yaklaşımı gerektirir. Tedavi ekibinde; ortopedist, enfeksiyon hastalıkları uzmanı, plastik cerrah ve sistemik hastalıklara bağlı gerekli uzman hekimler olmalıdır.

2.2.8.3.1. Cerrahi Tedavi

Tedavide uygulanan cerrahi prensipler, yeterli drenaj, tüm nekrotik dokuların geniş debridmanı, ölü boşluğun doldurulması, yeterli yumuşak doku örtüsü ve etkili kan dolaşımının tekrar sağlanmasıdır. Kemik debridmanı geride canlı ve sağlıklı doku kalana kadar tüm enfekte ve nekrotik dokuların ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Kemik debridmanı noktasal kanama görülünceye kadar (Paprika işareti) yapılır (69). Yeterli

debridman sonrası geride “ölü boşluk” olarak adlandırılan geniş bir kemik defekti oluşur. Kanlanması iyi olmayan bu ölü boşluk enfeksiyonun devamı için risk oluşturur. Ölü boşluk tedavisinde ölü kemik ve skar dokusunu yerine sağlam, kanlanan dokular yerleştirilmelidir. Serbest vaskülarize kemik grefti, lokal doku flepleri, serbest flepler veya kansellöz kemik greftleri kullanılabilir.

Antibiyotik emdirilmiş akrilik boncuklar kaviteye dezenfeksiyonu ve geçici olarak doldurulmasında yardımcı bir yöntem olarak kullanılabilir. Bu yöntemde seçilen antibiyotiğin sorumlu mikroorganizmaya karşı etkin olması önemlidir. Uygulanan antibiyotik sistemik dolaşıma geçmemeli, yan etkisi çok az veya hiç olmamalıdır. Kullanılan antibiyotik vücut ısısında dengeli ve suda çözülebilir olmalıdır. Ayrıca süper enfeksiyona yol açmamalıdır. Akrilik boncuk tekniğinde en çok kullanılan antibiyotikler sefazolin, moksalaktam, sefotaksim, tobramisin, gentamisin, vankomisin ve tikarsilindir (70).

Vakum destekli kapatma sistemleri yumuşak doku yaralarının iyileştirilmesinde kullanılan yardımcı sistemlerdendir. Bu sistemde, cihaz yara yüzeyi üzerine lokalize negatif basınç uygulayarak sıvının dışarı çıkmasına yardımcı olur. Bu sistem Granülasyon dokusu oluşma hızını artırarak yaranın iyileşmesini hızlandırır (71).

Osteomyelit cerrahisinin başarılı olması için kemiğin yumuşak doku ile yeterli bir şekilde örtülmesi gereklidir. Küçük yumuşak doku defektleri parsiyel kalınlıktaki cilt greftleri ile kapatılabilir. Geniş yumuşak doku defektlerinde ise lokal vaskülarize kas flepleri ile kapatılabilir. Defektlerin kapatılmasındaki amaç antibiyotik taşınması, kemik ve yumuşak doku iyileşmesi için önemli olan vasküler beslenmeyi sağlayarak, lokal biyolojik çevreyi düzeltmektir (71,72).

Enfeksiyonu kontrolü sağlanamayan vakalarda, genel durum bozukluğu olan hastalarda, aşırı yumuşak ya da kemik doku kaybı olan hastalarda, malign bir olaya eşlik eden osteomyelit vakalarında amputasyon uygulanabilir (73). Arteriyel yetmezlik, major sinir paralizileri, eklem kontraktürleri ve eklem sertliği gibi ekstremitenin fonksiyonel kullanım kapasitesinin çok azaldığı olgularda da amputasyon endikedir (90).

2.2.8.3.2. Sistemik Antibiyotik Tedavisi

Kemik dokuya antibiyotik penetrasyonunun güçlüğü nedeni ile ortopedik enfeksiyonlar tedavileri en güç enfeksiyonlar arasındadır. Ortopedik enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotiğin kemik dokuya geçişi iyi olmalıdır. Antibiyotiğin serum konsantrasyonu yüksek olmalı ve uzun süre bu seviyeyi korumalıdır. Bunun yanında biyofilm tabakasını parçalayabilmelidir (68,75).

Etkenin tespiti için mutlaka doku ve kemik örneğinden Gram boyama ve kültürleri yapılmalıdır. Yüzeysel sürüntü ve fistül ağzı kültürlerinin teşhis değeri yoktur (75).Kültür sonucu belli olana kadar ampirik tedaviye başlanabilir. Enfeksiyon toplum kökenli ise sıklıkla MSSA ve Gram negatif bakterilerin de etken olduğu polimikrobiyal enfeksiyon düşünülür. Tedavide ampisilin-sulbaktam, rifampisin / siprofloksasin, teikoplanin, klindamisin/seftriakson veya sefepim ya da siprofloksasin düşünülebilir. Hastane kaynaklı enfeksiyon düşünülüyorsa yani etkenin MRSA olma ihtimali yüksek ise tedaviye teikoplanin veya rifampisin ile kombine edilerek başlanmalıdır (76). Polimikrobiyal olma olasılığı yüksek ise ampisilin/sulbaktam, siprofloksasin/klindamisin veya imipenem tercih edilebilir (77).

Klindamisin, rifampin, kotrimoksazol ve fluorokinolonlar da osteomyelitin oral tedavisindeki etkinlikleri kanıtlanmış antibiyotiklerdir. Rifampisin özellikle eklem enfeksiyonu ya da prostetik materyale yapışmış olan bakteri eradikasyonunda etkilidir. Rifampisine direnç gelişimi nedeniyle kombine antibiyotik tedavilerinde kullanımı önerilmektedir (78). Kinolonlar biyoyararlanımlarının iyi olması nedeni ile osteomyelit tedavisinde tercih edilebilir. Siprofloksasinin rifampin ile birlikte kullanımı iyi sonuçlar verdiği ortaya konmuştur. Üçüncü ve dördüncü kuşak kinolonların ikinci kuşak kinolonlara göre gram-pozitif bakterilere etkinliği daha iyidir (79). Klindamisin kemik dokuya iyi penetre olması ve yüksek oral biyoyararlanımı nedeniyle duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu osteomyelitlerde tek başına veya kombine olarak uzun dönem tedavide kullanılabilir. Fusidik asid dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Fusidik asit rifampisin gibi yüksek hücre içi konsantrasyonuna ulaşır ve *S. aureus* etkenli osteomyelit tedavisinde etkindir. Enfekte kemikte bakterisidal konsantrasyona ulaşır. Rifampisinde olduğu gibi tedavide ikinci bir ajan eklenmediğinde hızla direnç gelişir(80).

MRSA etkenli osteomyelit enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptitler (vankomisin ve teikoplanin) temel antibiyotiklerdir. Vankomisinin kemik geçişi diğer ajanlardan daha azdır ve anaerobik ortamlarda aktivitesi azalmaktadır. Vankomisin kullanımını kısıtlayan en önemli yan etki nefrotoksik etkisidir. Teikoplaninin uygulanması kolaydır ve ayaktan tedaviye uygundur. Proteine bağlanma özelliğinin daha yüksek olması ve kemik dokuya penetrasyonunun iyi olması önemli avantajlardır(81).

Artan antimikrobiyal direnç yeni ajanların kullanımını gündeme getirmiştir. Linezolid, kinopristin, dalfopristin, daptomisin, dalbavansin, tigesiklin gibi alternatif

ilaçların MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde etkinliklerinin değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır.

Osteomyelit tedavisinde belirli bir rehber yoktur. Ayrıca antimikrobiyal tedavinin süresi ile ilgili kesin bir ortak görüş yoktur. Yapılan çalışmalarda 6 haftalık tedavi süresiyle altı haftadan daha uzun süreli tedaviler arasında tedavi başarısı açısından bir fark olmadığı ve kısa süreli tedaviler sonrasında yüksek relaps oranlarına rastlandığı bildirilmiştir. Bu nedenle daha çok 4-6 haftalık antimikrobiyal tedavi önerilmektedir(82).

2.2.9. Teikoplanin

Glikopeptid grubu antibiyotik olan teikoplanin, *Actinoplanes teichomyceticus*'un mayalanma ürünlerinden elde edilmiştir. Klinik kullanıma 1984 yılında girmiştir.

Kimyasal Özellikleri: Yaklaşık 2000 dalton molekül ağırlığındaki beş glikopeptidten oluşan kompleks bir moleküldür. Vankomisine göre daha lipofilik özellik taşır. Yapısında bulunan fenolik gruplar ile karboksil ve amino uçlarının oluşturduğu asit yükü ise fizyolojik pH'da çözünmesini sağlar (83).

Antimikrobiyal Aktivite: Teikoplanin gram pozitif bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidlerin terminal D-ala-D-ala dizisine bağlanarak transglikozilasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe eder. Bakteriler üzerine bakterisidal etki gösterir. Fakat Gram negatif bakterilerin lipid membranlarına penetre olamadıkları için etki göstermezler (84). MRSA, KNS, viridans streptokoklar, *Corynebacterium* spp. (*C.jejkeium* dahil), *Bacillus* spp., beta hemolitik streptokoklar, pnömokoklar (penisiline dirençli suşlar dahil), anaerob streptokoklar ve *Clostridium* spp.'e karşı bakterisidal etki göstermektedir. Enterokoklara karşı ise bakteriyostatik etki gösterirler.

Bunun yanında *L.monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Bacillus anthracis*, aktinomiçesler, *difteroid basiller*lere de etkilidir(84).

S. aureus için MİK değeri genellikle 2 mg/l 'nin altındadır. Teikoplaninin hem MRSA hem de MSSA suşları üzerine etkinliklerinin aynı olduğu kabul edilmektedir(84). KNS suşlarının teikoplanin duyarlılığı değişkendir. *S. haemolyticus* teikoplanine en dirençli türdür. Teikoplanine dirençli bazı *S. epidermidis* ve *S. hemolyticus* suşları vankomisine duyarlı olabilmektedir (85).

Farmokokinetik Özellikleri: Teikoplanin gastrointestinal sistemden emilemez. Bu nedenle intravenöz ve intramusküler kullanılabilir. Klinik kullanımı daha çok 3 mg/kg/gün (200mg /gün)ve 6 mg/kg/gün(400 mg/gün) şeklindedir. Son yıllarda çeşitli endikasyonlarda yüksek doz kullanım (12-30 mg/kg/gün) kullanımı yaygınlaşmıştır. Kanda %90 oranında proteinlere bağlanır ve vücutta geniş dağılım hacmine sahiptir. Lipofilik yapısı nedeniyle hücre ve dokulara penetrasyonu çok iyidir. Periton sıvısı, bül sıvısı, safra, karaciğer, pankreas, mukoza ve kemikte terapötik konsantrasyonlara ulaşır. Fakat inflame olmayan meninkslerden BOS'a geçişi iyi değildir (85). Teikoplaninin %80'i idrar ile aktif formda atılmaktadır. Tek bir I.V enjeksiyonu takiben ilacın vücuttan atılması yaklaşık 35 gün sürer. Böbrek yetmezliğinde yarı ömrü uzar ve değişik doz uygulamaları önerilir. Periton dializi ve hemodializ yoluyla kandan temizlenemez.

Klinik Kullanım: MRSA ve Metisilin dirençli *S. epidermidis* olmak üzere dirençli gram pozitif bakterilerin etken olduğu sepsis, enfdokardit, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve osteomyelit gibi ağır enfeksiyon tabloları başlıca kullanım alanlarıdır. Vankomisin ile karşılaştırıldığında yan etkisinin daha az olduğu belirtilmiştir. Ayrıca

kas içine ve günde tek doz uygulanabilir olması APAT (Ayaktan Parantral Antibiyotik Tedavisi) tedavisini kolaylaştırmaktadır (86). Teikoplanin terapötik dozlarda iyi tolere edilebilen bir ilaçtır ve yan etki insidansı düşüktür. En sık karşılaşılan yan etkiler alerjik cilt döküntüsü ve ilaç ateşidir. Nadir de olsa kırmızı adam sendromu, eozinofili, nötropeni, karaciğer enzimlerinde yükselme görülebilir.

2.2.10. Tigesiklin

Tigesiklin, minosiklinin 9-t-butilglisilamido sentetik türevi olup yeni jenerasyon antibiyotik olan glisilsiklin grubunda yer almaktadır.

Kimyasal yapısı ve etki mekanizması: Tigesiklinin kimyasal yapısı tetrasiklinlere benzerdir. Merkezde dört halkalı karboksilik iskelete sahiptir ve D-9 pozisyonunda modifiye glikamido grubu bulundurur. Minosiklinin 9-t-butilglisilamido derivativesidir. Tigesiklin, geri dönüşümlü olarak 30S ribozomal alt birimine bağlanır ve protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir (87).

Etki Spektrumu: Tigesiklin in-vivo olarak MSSA, MRSA, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus pyogenes*, vankomisine duyarlı *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides vulgatus*, *Clostridium perfringens*, *Peptostreptococcus micros* türlerine karşı etkilidir. Ayrıca vankomisine dirençli (VRE), Geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sentezleyen *E.coli* izolatlarında, *Acinetobacter* türleri, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis*'e etkinliği vardır(88). *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Proteus vulgaris* tigesiklinine dirençlidir (85).

Farmakokinetik özellikler: Tigesiklin intravenöz olarak kullanılır. Dağılım hacminin geniştir ve dokulara hızlı bir şekilde yayılır. Plazma yarılanma ömrü 36 saattir. Plazma proteinlerine bağlanma oran %71- %89 civarındadır. Çalışmalarda akciğer, cilt ve karaciğer dokularına geçişinin iyi olduğu gösterilmiştir. Atılımı safra, feçes veya böbrek yoluyla olur. Tigesiklinin %22'si değişmeden idrarla atılır. İdrarla yoluyla atılımı düşük olduğu için üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılması önerilmemektedir. Sitokrom P450 enziminden bağımsız olarak etki gösterdiği için ilaç etkileşimi azdır.

Tigesiklinin önerilen dozu 100 mg yükleme dozunu takiben idame doz olarak 12 saatte bir 50 mg'dir. İlaç intravenöz yoldan 30-60 dakika içinde verilmelidir. Oral formu mevcut değildir. Yapılan az sayıdaki çalışmada böbrek bozukluğu olan veya hemodiyalize giren hastalarda doz ayarlamasına gerek yoktur. Hafif ve orta dereceli karaciğer bozukluğunda doz ayarlaması gerekmez. Ancak ciddi karaciğer yetmezliği olanlar için önerilen doz 100 mg yükleme dozunu takiben 12 saattebir 25 mg'dır (85).

Klinik kullanım: Tigesiklin ilk olarak komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve komplike intraabdominal enfeksiyonların tedavisinde kullanımı için onay alınmıştır. En son 2009 yılında duyarlı patojenler ile gelişen toplum kökenli pnömonilerin tedavisi için de onay almıştır

Direnç: Tigesiklin klinik kullanımda çok uzun süredir bulunmadığı için direnç gelişimi hakkında bilgi sınırlıdır. Çoklu ilaç dirençli efluks pompalarının gelişmesi dirençten sorumlu tutulabilir. Faz 3 çalışmalarında beş dirençli suş tanımlanmıştır. Bunlar ; *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *Morganella morganii* ve *A.baumannii*'dir (89).

2.2.11. Daptomisin

Daptomisin, siklik lipopeptidler olarak adlandırılan antibiyotik sınıfının ilk ve tek üyesidir. Toprakta yaşayan bir bakteri olan *Streptomyces roseosporus* tarafından nonribozomal peptid sentez mekanizması ile üretilen doğal bir üründür. Siklik lipopeptidler, 1985’de keşfedilmiş bir antibiyotik sınıfıdır. Fakat o dönemde daptomisin üzerinde yapılan çalışmalar yüksek doz kullanımına bağlı kas toksisitesi nedeniyle faz 1 düzeyinde durdurulmuş, ardından bu yan etkilerin önlenmesi ile 1999 yılında çalışmalar tekrar başlatılmıştır (90).

Kimyasal Yapı Ve Etki Mekanizması: *Streptomyces roseosporus* tarafından üretilen daptomisin aminoasit siklik lipopeptiddir. Bu lipopeptid yapı 13 aminoasitten oluşan hidrofilik bir kor (çekirdek) ve 10 karbondan oluşan lipofilik (hidrofobik) bir kuyruktan oluşur (91). Daptomisin gram pozitif bakterilerin membran sentezini bozarak etki gösterir. Bunun yanında hücre membranlarında transmembran kanallar ile hücre içi iyon dengesini bozar. Bu etkisini göstermek için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Önce kalsiyum molekülüne bağlanan daptomisin, lipofilik kuyruğu ile gram pozitif bakteri membranında bulunan lipoteikoik asite irreversible olarak bağlanır. Oligomerizasyon sonucu transmembran kanallar oluşturur. Oluşan bu kanallar hücre içi iyonların (K^+ , Mg^{++}) ve ATP’nin dışarı sızmasına, ayrıca makromoleküllerin sentezinin engellenmesine neden olur. Bu olaylar sonucunda bakteri hücresinde lizis görülmeden hücre ölümü meydana gelir (92,93).

Antimikrobiyal aktivite: Daptomisin’in etki spektrumu, gram pozitif aerop ve anaerop bakteriler ile sınırlıdır. MRSA, VISA, VRSA) dahil stafilokoklara, vankomisin direnci bulunan *E.faecalis* ve *E.faecium* dahil enterokoklara ve penisilin dirençli *S.pneumoniae*

dahil streptokoklara karşı etkilidir. Ayrıca *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri gibi vankomisin direnci bulunan bakterilere *Clostridium*, *Bacillus* gibi anaeroplara karşı da etkindir (92,94).

Farmakolojik Özellikler: Daptomisin hızlı bakterisidal etkili olup, konsantrasyona bağlı antimikrobiyal aktivite gösterir. Daptomisinin bir diğer avantajı da hem büyüme hem de dinlenme fazındaki bakterilere karşı etkili olmasıdır(96). Tedavi etkinliğini sağlayan bir diğer özelliği de bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm tabakaya yüksek penetrasyon göstermesidir. Linezolid, tigesiklin ve vankomisin ile yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, biyofilm tabakaya etki ederek bakterileri öldürme oranı daptomisinde %96 iken tigesiklinde bu oran %57, linezolidde %55 ve vankomisinde ise %81 olarak bulunmuştur (96).

Daptomisin plazma proteinlerine özellikle de albümine %90-93 oranında geri dönüşümlü olarak bağlanır. Daptomisin sadece intravenöz yoldan uygulanır. Yarı ömrü ise 8-9 saattir. Molekül yapısı büyük olduğu için gastrointestinal sistemden emilemez. Böbreklerden metabolize edilir ve %60'ı değişmeden idrarla atılır. Karaciğerde bulunan sitokrom P450 sistemi ile veya ilaçlarla etkileşimi yoktur (90). Böbrek fonksiyonları normal olan kişilerde dozu 4-6 mg/kg olup intravenöz olarak, tek dozda verilir. *S.aureus* bakteriyemisi ve sağ kalp endokarditinde 6 mg/kg dozunda, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında ise 4 mg/kg dozunda kullanılmaktadır. Kreatinin klerensi 30 ml/dak.'ya düşünceye kadar doz ayarlanmasına ihtiyaç yoktur. Kreatinin klerensi 30 ml/dak.'nın altında ise 4-6 mg/kg dozunda, 48 saatte bir verilmesi önerilmektedir (91). Diyaliz hastalarında ilacın mümkünse diyalizden sonra verilmesi uygundur (90).

Klinik kullanım: Daptomisin komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında 2003 yılında, sağ kalp endokarditini de içeren *S. aureus* bakteriyemisinde ise 2006 yılında onay almıştır.

Direnç: Daptomisine karşı direnç çok nadirdir. Stafi lokokların daptomisin direncinde *mprF* (lizilfosfatidilgliserol sentetazı kodlayan), *ycyG* (histidin kinazı kodlayan) ve *rpoB* ve *rpoC* (RNA polimeraz subunitlerini kodlayan) genlerindeki mutasyonlar rol oynar (97). Daptomisine dirençli *S. aureus* kökenlerinde daptomisinin hücre membranına bağlanmasının azaldığı gösterilmiştir (98).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Etik Kurul onayı

Çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (03.07.2014. tarih ve 66332047-604.01.02/112-15143 sayılı onay belgesi) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı 'ında yapılmıştır.

Deney Hayvanları ve Deneyin Yapıldığı Ortam

Çalışma grupları için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanlarını Üretme ve Araştırma Laboratuvarı'ndan elde edilen 30 adet erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar 220-275 gram ağırlıkta ve 5-7 aylık olacak şekilde temin edildi. Ratlar Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanlarını Üretme ve Araştırma Laboratuvarı Laboratuvarında; 1 kafeste 6 adet fare olacak şekilde, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortam sağlanarak, ısıtma ve havalandırma ekipmanı bulunan ortamda, standart fare yemi ve su ile beslenerek barındırıldı.

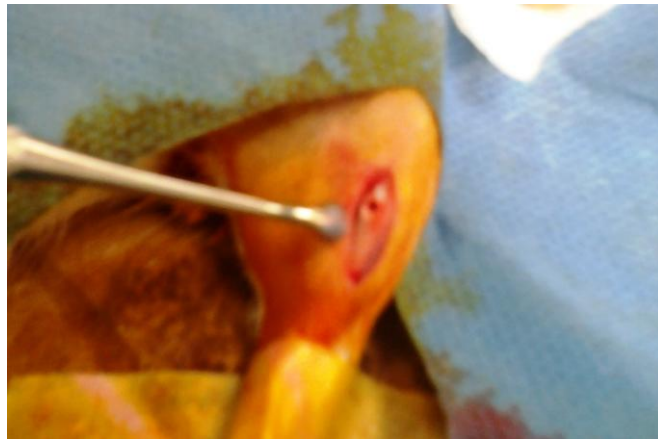
Deneyisel osteomyelit modeli için bakteri suşu G.Ü.T.F, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD. Laboratuvarı'ndan temin edilen liyofilize *S.aureus* ATCC 43300 standart suşu kullanıldı. Temin edilen suştan kanlı agar besiyerine steril plastik öze yardımıyla pasaj yapıldı. 37 °C'de bir gecelik inkübasyon sonrası elde edilen koloniler bakteri süspansiyonlarının hazırlanmasında kullanıldı. Bir miktar MRSA kolonisi %0,09'luk steril sodyum klorür çözeltisi ile tüp karıştırıcı yardımıyla karıştırdı. 600 nm dalga boyuna ayarlanan spektrofotometre cihazı ile bulanıklık ölçümleri yapıldı.

0.5 McFarland (MF) bulanıklık değerine sahip solüsyonlar elde edilene kadar bakteri süspansiyonlarına MRSA kolonileri ya da %0,09'luk sodyum klorür çözeltisi eklendi.

Ön Çalışma ve Cerrahi Model:

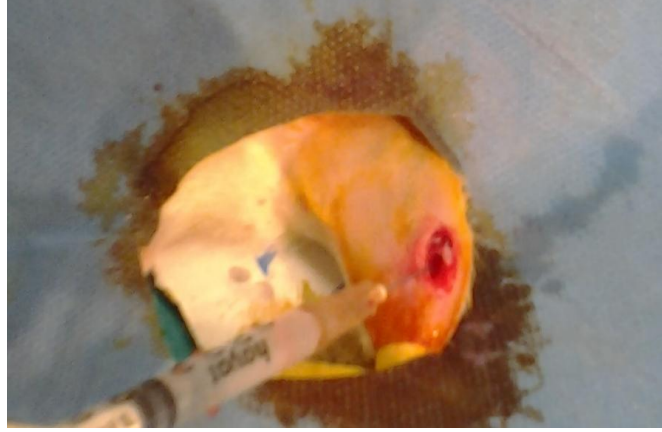
Ratlarda kronik osteomyelit geliştirilirken Kandemir ve ark.larının (99) deneysel osteomyelit modeli kullanıldı. Ratlara, 10mg/kg Ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Ketalar Phizer W.Lambert Türkiye) intramüsküler (İ.M.) verilerek, genel anestezi uygulandı. Uygulamadan 5 dk. sonra ilk ilaç verilen rattan başlanarak genel anestezi altında ratlar cerrahiye alındı.

Herbir ratın solunumu kontrol edilip solunum arresti olmadığı kontrol edildi. 20 x 20 cm lik tahta zemin üzerine yatırılarak sadece sağ ayağı serbest kalacak şekilde zemine ratların uzuvları bantlandı. Onbir numara bistüri ile tibia diafizi üzerinden longitudinal insizyon yapıldı. Cilt-ciltaltı geçilerek kemiğe ulaşıldı. Cilt-ciltaltı geçilerek kemiğe ulaşıldıktan sonra, dental burr ile tibia anterior korteksine 1x2 mm genişlikte kortikotomi yapıldı (Resim 1).



Resim1:Dental burr ile 1x2 mm genişlikte kanal açılması

Bu alanda; 50 µlt Atherosyklarole (skleroan ajan) kemik içerisine enjekte edildi. Aynı seansta 0.1 ml MRSA (1×10^8 KOB/ml) suşu dekortike kemik dokusu içerisine enjekte edildi.



Resim 2: 50 mikrolt Atherosyklarole ve 0.1 ml MRSA verilmesi

Cilt 3/0 non-absorbable sütür (ipek) ile kapatıldı. Operasyondan 3 hafta sonra çekilen direkt grafide ratın sağ kruris radyolojik olarak tablo-8'de belirtilen An ve arkadaşlarının modifiye edilmiş kriterlerine göre değerlendirilerek kronik osteomyelit tespit edildi.

RADYOLOJİK GÖRÜNTÜ

- 1-Periosteal Reaksiyon
- 2- Osteolizis
- 3- Yumuşak Doku Şişliği
- 4- Deformite
- 5- Sekestrum Formasyonu

Tablo 6: An ve arkadaşlarının modifiye edilmiş radyolojik kronik osteomyelit kriterleri

n alışma sonrası diğer 29 hayvana da aynı cerrahi model uygulandı. 3 hafta sonra kronik osteomyelit modeli radyolojik yöntemle doğrulandı. Osteomyelit tanısı alan ratlar altışarlı gruplara ayrıldı.

Deney Grupları :

Grup 1:Negatif Kontrol (n:6): Osteomyelit modeli oluşturulup sadece takip edildi.

Grup 2: Teikoplanin (n:6): Osteomyelit modeli oluşturulduktan sonra 3 hafta boyunca hergün, antibiyotik (Teikoplanin 20mg/kg/gün 1x1 I.M.) uygulandı.

Grup 3:Tigesiklin (n:6): Osteomyelit modeli oluşturulduktan sonra 3 hafta boyunca hergün, antibiyotik (Tigesiklin 14 mg/kg/gün 1x1 S.C.) uygulandı.

Grup 4: Daptomisin 60 mg/kg (n:6): Osteomyelit modeli oluşturulduktan sonra 3 hafta boyunca hergün, antibiyotik (Daptomisin 60 mg/kg/gün 1x1 S.C.) uygulandı.

Grup 5: Daptomisin30 mg/kg (n:6): Osteomyelit modeli oluşturulduktan sonra 3 hafta boyunca hergün, antibiyotik (Daptomisin 30 mg/kg/gün 1x1 S.C.) uygulandı.

Sakrifikasyon ve mikrobiyolojik örnek alınması

Bütün ratlara 6 hafta sonra, 10 mg/kg Rompun, ve 90mg/kg Ketalar İ.M. olarak verilerek, sakrifiye edildi. Steril koşullarda kemik ortaya konularak bir steril mini ronjer yardımı ile kemik doku alındı.



Resim 3: Abse oluşmuş osteomyelit modeli

Alınan kemik örnekleri steril falkon tüplere konuldu. Daha sonra hassas terazide (Shimadzu, Libror AEG-120, Japonya) tartıldı. 0.5 ml serum fizyolojik eklendikten sonra kemikler steril havanda, mekanik olarak homojenize edildi. Homojenize edilen süspansiyondan 0.01 ml'lik öze yardımı ile koyun kanlı agar besiyerine kantitatif yayma tekniği ile ekim yapıldı. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun ardından ratlardan alınan her bir örnekte üreyen koloniler sayıldı.



Resim 4: 1 gecelik inkübasyon sonrası üreyen MRSA kolonileri

Koloniler sayılırken koloni yapısı, rengi ve hemoliz zonu incelendikten sonra gram boyama ve katalaz testleri ile kolonilerin *S.aureus* bakterilerine ait oldukları doğrulandı. Ekim yapılan besiyerlerinde *S.aureus* dışında bakteri saptanmadı.

Alınan örneklerdeki üremelerin miktarı koloni sayısı olarak tespit edildi.

Bakteri Sayısı (KOB): $\frac{\text{Plaktaki Koloni Sayısı} \times \text{Tüp Dilüsyon Oranı} \times \text{Dilüsyon Faktörü}}{\text{Dokunun Ağırlığı (Gram)}}$

formülü kullanılarak gram kemik başına düşen koloni sayısı hesaplandı.

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygun dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov Smirnov testiyle, varyansların homojenliğiyse Levene testiyle analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum şeklinde gösterildi.

Gruplar arasında üreyen mikroorganizma sayısı yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Üreyen mikroorganizma sayısı açısından söz konusu farka neden olan durum(lar) ise post hoc LSD testi kullanılarak araştırıldı. Üreyen mikroorganizma sayısına ait veriler normal dağılıma uygun dağılmadığı için üssel dönüşüm yapıldı. İstatistiksel analizlerde dönüştürölmüş veriler kullanıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma gruplarından elde edilen KOB/gr değerleri Tablo'da gösterilmektedir.

Denek	KOB/gr
Kontrol 1	39370,08
Kontrol 2	43103,45
Kontrol 3	39370,08
Kontrol 4	43103,45
Kontrol 5	39370,08
Kontrol 6	43103,45
Teikoplanin 1	19157,09
Teikoplanin 2	51,55
Teikoplanin 3	0,00
Teikoplanin 4	559,70
Teikoplanin 5	133,69
Teikoplanin 6	13020,83
Tigesiklin 1	1564,95
Tigesiklin 2	87,26
Tigesiklin 3	237,72
Tigesiklin 4	43,18
Tigesiklin 5	12101,91
Tigesiklin 6	1739,13
Daptomisin60 1	657,89
Daptomisin60 2	396,83
Daptomisin60 3	56390,98
Daptomisin60 4	474,68
Daptomisin60 5	54,95
Daptomisin60 6	609,76
Daptomisin30 1	418,99
Daptomisin30 2	57803,47
Daptomisin30 3	9541,98
Daptomisin30 4	280,90
Daptomisin30 5	80,91
Daptomisin30 6	506,76

Tablo 7: Deneklerden elde edilen kemiklerdeki gram başına düşen koloni sayısı

Üreyen mikroorganizma sayılarına ilişkin veriler Kolmogorov Smirnov testine göre normal dağılıma uygun dağılım göstermediği ($K=0,367$ ve $p<0,001$) için istatistiksel analizlere geçmeden önce üssel dönüşüm yapıldı. Üssel dönüşümün ardından verilerin dağılımını normal dağılıma uygun olduğu Kolmogorov Smirnov testine göre görüldü ($K=0,142$ ve $p=0,193$). Levene istatistiği 1,532 olup üssel dönüşüm sonrası varyansların homojenliği varsayımı da Levene testiyle sağlanmış oldu ($p=0,229$). Verilerin analizinde orijinal değil dönüştürülmüş veriler kullanıldı.

Gruplar	n	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum
Kontrol	6	35777,82	12121,35	12886,60	47297,30
Teikoplanin	6	5487,14	8440,59	0,00	19157,09
Tigesiklin	6	2629,03	4701,60	43,18	12101,91
Daptomisin 60	6	9764,18	22843,37	54,95	56390,98
Daptomisin 30	6	11438,84	23011,85	80,91	57803,47
Toplam	30	13019,40	19147,89	0,00	57803,47

Tablo 8: Gruplara göre üreyen mikroorganizma sayılarına ait tanımlayıcı istatistikler

Üssel dönüşümün ardından yapılan tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında üreyen mikroorganizma sayıları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($F=3,403$ ve $p=0,024$). Bir sonraki aşamada post hoc LSD testi kullanılarak söz konusu farka neden olan durum(lar) tespit edildi. Buna göre söz konusu farka neden olan durum kontrol grubuna göre diğer grupların tümünde üreyen mikroorganizma sayısının istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmasıydı ($p<0,05$). Diğer grupların birbirleri arasında mikroorganizma sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Tablo 3'te gruplar arasında yapılan çoklu karşılaştırmalar yer

almaktadır. Aşağıda ise tek yönlü varyans analizine ait sonuçların yer aldığı varyasyon kaynakları tablosu verilmiştir.

Varyasyon Kaynakları	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri
Gruplar	80,633	4	20,158	3,403	0,024
Hata	148,109	25	5,924		
Toplam	228,742	29			

Tablo 9: Tek Yönlü varyans analizine ilişkin varyasyon kaynaklarına ait istatistikler

5.TARTIŞMA

Çeşitli mikroorganizmalara bağlı olarak gelişen, kemik ve kemik iliğinin enflamatuvar bir hastalığı olan osteomyelit; gelişen antibiyotikler ve tedavi yöntemlerine rağmen kronikleşme ve rekürrens eğilimi olan, hatta kimi zaman ölüm riski taşıyan, ciddi bir enfeksiyondur. Osteomyelit gelişiminde mikroorganizmalar kemik dokuya farklı yollardan ulaşabilmektedir. Mikroorganizmalar genel olarak; hematojen yol, direkt inokülasyon ve komşu dokulardan yayılım şeklinde kemiğe ulaşmaktadır. Mikroorganizmanın virülansı, hastanın immün sistem durumu, eşlik eden diğer hastalıkları ve kemik yapısı gibi faktörler osteomyelit patogenezinde rol oynayan önemli faktörlerdir (34).

Osteomyelitte etken mikroorganizmalar; oluş mekanizmasına, yaşa ve alta yatan hastalığa bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Örneğin eklem protezi enfeksiyonlarında özellikle *S.epidermidis* ile etken olarak karşılaşılır(37). Üriner kaynaklı osteomyelitlerde gram-negatif basiller, IV ilaç kullanıcılarında ise *P.aeruginosa* ve *Serratia marcescens* en sık etkenler olarak gözlenmektedir. Penetran yaralanmalar sonrası gelişen osteomyelitlerde ve diyabetik hastalarda polimikrobiyal flora saptanabilmektedir. İnsan ve hayvan ısırıklarında *Pasteurella multocida* ve *Eikenella corrodens* osteomyelit etkeni olabilirken, uzun süre hastanede yatanlarda *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa*, *Candida* spp. gibi etkenler sık olarak gözlenmektedir (38). Bunların yanında osteomyelitte en sık saptanan bakteri *S.aureus*'dur.

S. aureus yapısında bulunan kollajen bağlayan protein ve fibronektin bağlayan protein ile kemik dokusuna kolayca yapışabilmektedir. Salgıladığı protein-A ile Ig G'nin Fc kısmına bağlanarak kompleman sistemini bloke edebilmektedir. Yine

salgıladığı lökosidin ile nötrofilleri parçalayabilmektedir. Bunların yanında biyofilm oluşturma kapasitesinin yüksek oluşu, osteoblastların çekirdeklerine invaze olup fagositer hücrelerden korunabilmeleri *S.aureus*'un osteomyelitte önemli virulans faktörleridir.(44,45)

Osteomyelit tedavisi multidisipliner bir tedavi yaklaşımı gerektirir. Tedavi ekibinde; ortopedist, enfeksiyon hastalıkları uzmanı, plastik cerrah ve sistemik hastalıklara bağlı gerekli uzman hekimler olmalıdır. Uygun ve yeterli drenaj ile debridman, kavitasyonun doldurulması, yara bakımı, uygun antibiyotik kullanımı osteomyelit tedavisinin temel bileşenleridir (49).

Kemik dokuya antibiyotik penetrasyonunun güçlüğü nedeni ile ortopedik enfeksiyonlar tedavileri en güç enfeksiyonlar arasındadır. Ortopedik enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotiğin kemik dokuya geçişi iyi olmalıdır. Antibiyotiğin kemik konsantrasyonu yüksek olmalı ve uzun süre bu seviyeyi korumalıdır. Bunun yanında biyofilm tabakasında parçalayabilmelidir (49,75). Osteomyelit enfeksiyonları, özellikle MRSA'nın etken olduğu osteomyelit enfeksiyonları tedavisi zor tablolardır. MRSA enfeksiyonlarının tedavisini güçleştiren durum antibiyotik seçeneğinin kısıtlı olmasıdır. MRSA etkenli osteomyelitlerde ilk tedavi seçeneği glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. Glikopeptid grubu antibiyotiklerden teikoplanin; kemik iliğine iyi penetrasyon göstermesi, yan etkilerinin diğer glikopeptid grubu antibiyotiklerden az (ototoksisite, nefrotoksisite gibi) olması, ilaç monitörizasyonu gerektirmemesi ve günde tek doz kullanılabilmesi gibi olumlu özelliklerinden dolayı osteomyelit tedavisinde tercih edilmektedir. Bu nedenle tez çalışmamızda glikopeptid grubu antibiyotiklerden teikoplanini kullanmayı tercih ettik.

Son yıllarda VISA, hVISA ve VRSA suşlarının ortaya çıkması ile beraber tedavide glikopeptid grubu antibiyotiklerin tedavi etkinlikleri tartışılmaya başlanmıştır (23). VRSA, VISA ve hVISA izolatlarının yanı sıra *S.aureus* izolatlarının vankomisin MIK değerlerinde de yükselmeler gözlenmeye başlamıştır. *S.aureus* izolatlarının vankomisin MIK değerlerindeki yükselme kliniğe glikopeptid ile tedavide başarısızlık olarak yansiyabilmektedir (100). Değişen antibiyotik direnç profili MRSA enfeksiyonlarında yeni tedavi seçeneklerini gündeme getirmektedir.

Tigesiklin başlangıçta komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve komplike intraabdominal enfeksiyonların tedavisi için kullanım onayı almıştır. Son olarak 2009 yılında duyarlı patojenler ile gelişen toplum kökenli pnömonilerin tedavisi için de onay almıştır. Gram-negatif, gram-pozitif, anaerop ve atipik bakterilere karşı etkilidir. Tigesiklin geri dönüşlü olarak bakterilerin 30S ribozomal alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Bakteriostatik etki gösterir .Etki spektrumunun geniş olması ile polimikrobiyal enfeksiyonlarda tercih edilebilmesi ve direnç gelişim mekanizmalarının henüz netlik kazanmaması gibi avantajları düşünüldüğünde osteomyelit tedavilerinde düşünülebilecek önemli bir ajandır. Tigesiklinin kemik ve eklem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu nedenle tez çalışmamızda osteomyelitte tedavi alternatifi olabilecek tigesiklinin osteomyelit tedavi etkinliği değerlendirilmiştir.

2003 yılında kullanıma giren daptomisin siklik lipopeptidler olarak adlandırılan antibiyotik sınıfının ilk ve tek üyesidir. Klinik kullanım endikasyonları komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, *S.aureus* bakteriyemisi ve *S.aureus*'a bağlı sağ kalp endokarditidir. Daptomisin gram pozitif bakterilerin membran sentezini bozarak etki gösterir. Daptomisin hızlı bakterisidal etkili olup, konsantrasyona bağlı antimikrobiyal

aktivite gösterir. Daptomisinin etki spektrumu, gram pozitif aerop ve anaerop bakteriler ile sınırlıdır. MRSA, VISA, VRSA dahil stafilokoklara, vankomisin direnci bulunan *E.faecalis* ve *E.faecium* dahil enterokoklara ve penisilin dirençli *S.pneumoniae* dahil streptokoklara karşı etkilidir (92,94).

Daptomisinin bir diğer avantajı da hem büyüme hem de dinlenme fazındaki bakterilere karşı etkili olmasıdır. Ayrıca daptomisinin makrofaj içinde yaşayabilen MSSA ve MRSA'ya karşı aktivite gösterebilmesi ve slime sentezini inhibe etmesi ortopedik enfeksiyonlarda etkin olabileceğini göstermektedir (88). Bu nedenle tez çalışmamızda daptomisin de osteomyelit tedavisi etkinliği değerlendirilmiştir.

Tez çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde; teikoplanin, tigesiklin ve daptomisin kullanılan grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken, tüm tedavi gruplarının tedavi uygulanmayan kontrol grubundan üstün olduğu gözlemlendi. Çalışmamızın bulguları bazı çalışmalar ile paralellik gösterirken bir kısmı bile çelişmektedir. Osteomyelit tedavisinde kullanım onayı olmayan tigesiklin ve daptomisin kronik MRSA osteomyelitinde ki etkinliğini değerlendirecek yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kandemir ve ark. yaptıkları çalışmada MRSA etkenli kronik osteomyelit enfeksiyonlarında teikoplanin ile tigesiklinin etkinliklerini karşılaştırmıştır (99). Çalışmada Sparaque-Dawley albino rat kullanılmıştır. Sonuç olarak teikoplanin ve tigesiklinin tedavi uygulanmayan kontrol grubundan üstün olduğu ama ikisi arasında anlamlı farklılık olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın bulguları çalışmamızın bulgularını desteklemektedir. Yin yan ve ark yaptıkları deneysel osteomyelit çalışmasında ise bir glikopeptit grubu antibiyotik olan vankomisin ile tigesiklinin

monoterapileri ve rifampisin ile kombine tedavilerinin MRSA kronik osteomyelitindeki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak tigesiklinin vankomisinden üstün olduğu, tigesiklin-rifampisin kombinasyonunun en etkin tedavi yöntemi olduğu bildirilmiştir (101).

Carolin A Kreis ve ark. yaptığı insan osteoblast enfeksiyon modelinde tigesiklinin osteoblastlar içine yerleşen *S.aureus* suşlarına da etkili olabileceği gösterilmiştir(102). Griffin ve ark. yaptıkları retrospektif bir çalışmada ise MRSA etkenli osteomyelit olgularında tigesiklin kullanımının tedavi etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışmada bildirilen hastalarda polimikrobiyal enfeksiyon olması, beta laktam grubu antibiyotiklere karşı hastanın alerjisinin olması veya kullanılan bir önceki ajanda yan etki gelişmiş olması nedeni ile tigesiklin tercih edilmiştir. Sonuç olarak tigesiklin ile tedavi edilen 19 hastanın 11'inde başarılı sonuç alındığı bildirilmiştir.(103)

Tigesiklinin farklı bakterilere bağlı osteomyelit tablolarındaki etkinliğini değerlendiren çalışmalarda mevcuttur. *P.auroginosa* etkenli osteomyelit vakasında tigesiklin sinerjistik fayda amaçlı kolistin ile beraber kullanılmış, sonuç olarak etkin tedavi sağlandığı bildirilmiştir (104). Başka bir olgu raporunda ise çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* ve *Klebsiella spp.* etkenli osteomyelit olgusunda tigesiklin kullanımının başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (105,106).

Tigesiklinin osteomyelitteki etkinliğinin yetersiz olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Polilli E ve ark bildirdiği bir vakada MRSA etkenli akut kalkaneus osteomyelit tablosunda tigesiklin tedavisinin başarısızlığı ifade edilmiştir.(107) Rodvold ve ark yaptığı çalışmada tigesiklinin insan kemik konsantrasyonunun

beklenenden düşük olduğu gözlenirken Ji ve ark. yaptığı çalışmada tigesiklinin insan kemik konsantrasyonunu yüksek bulmuştur (108). Sonuç olarak tigesiklinin osteomyelitteki etkinliğini değerlendiren daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç olduğu gözlenmektedir.

Daptomisin MRSA osteomyelitindeki etkinliğini değerlendiren çalışmalar da mevcuttur. Lefebvre ve ark. yaptıkları çalışmada tavşanlarda oluşturulan deneysel MRSA akut osteomyelit modelinde daptomisin, vankomisin ve bu iki antibiyotğin rifampisinle kombinasyonlarının tedavi etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak rifampisin daptomisin kombinasyonunun tedavi etkinliğinin diğerlerinden üstün olduğu bildirilmiştir. Daptomisin ve vankomisin monoterapilerinin MRSA osteomyelitinde etkin olmadığı, ayrıca daptomisin monoterapisi alan grupta direnç geliştiiği bildirilmiştir (109).

Poepl ve ark. yaptıkları çalışmada daptomisin, fosfomisin ve bu iki antibiyotğin kombinasyonunun MRSA osteomyelitindeki etkinlilerini karşılaştırmıştır. Sonuç olarak daptomisinin tedavi uygulanmayan kontrol grubundan üstün olduğu ve orta dereceli tedavi etkinliği gösterdiği bildirilmiştir. Bunun yanında fosfomisin kullanılan grupta yüksek tedavi etkinliği gözlendiği, daptomisin-fosfomisin kombinasyonunun tedavi etkinliği bakımından herhangi bir avantaj sağlamadığı bildirilmiştir (110).

Deneysel çalışmaların yanı sıra daptomisinin osteomyelitte kullanım ile ilgili klinik olgu raporlarında bildirilmiştir. Gallagher ve ark. yaptığı daptomisinin etkinliğini değerlendiren retrospektif bir çalışmada; daptomisinin osteomyelit tedavisinde glikopeptidlere ciddi bir alternatif olabileceği ifade edilmiş. Bunun yanında Liang ve

ark. yaptıkları vaka kontrol çalışmasında kemik eklem enfeksiyonlarında daptomisin ve vankomisin tedavideki başarı oranlarının benzer olduğu belirtilmiş, daptomisin kemik eklem enfeksiyonlarında vankomisine alternatif olabileceği ifade edilmiştir (111).

Daptomisin tedavilerinde önerilen doz 4-6 mg/kg iken ciddi enfeksiyon tablolarında 8-10 mg/kg dır. Literatürde daptomisin MRSA etkenli osteomyelitte kullanılması önerilen optimal dozu hakkında yeterli bilgi yoktur. Bu nedenle çalışmamızda daptomisin iki farklı dozda kullanımının tedavi etkinliği değerlendirildi. Çalışmamızda insanlardaki doz karşılığı 4mg/kg doza ratlarda eş değeri olarak 30mg/kg, 8mg/kg doza ratlarda eş değeri olarak 60 mg/kg daptomisin dozu kullanılmıştır(112). Fakat bu iki grubun tedavi etkinlikleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Rouse ve ark yaptıkları hayvan modeli çalışmasında vankomisin ile daptomisin iki farklı dozunun (50 mg/kg ve 60 mg/kg) kronik MRSA osteomyelitinde tedavi etkinliklerini karşılaştırmıştır. Sonuç olarak tedavi gruplarının tedavi uygulanmayan kontrol grubundan üstün olduğu, tedavi grupları arasında ise anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (113). Bizim çalışmamızda da daptomisin dozları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak daptomisin dozları arasında dramatik bir farklılık bulunmasına rağmen anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Daptomisin farklı dozlarda etkinliğini değerlendiren insan çalışmaları da mevcuttur. Byren ve ark. yaptıkları çalışmada 22 farklı merkezde MSSA, MRSA, KNS ve MRKNS etkenli eklem protezi enfeksiyonlarında glikopeptit grubu antibiyotikler ile daptomisin iki farklı dozunun (6-8 mg/kg) tedavi etkinliklerini değerlendirmiştir.

Sonuç olarak stafilokokal eklem protez enfeksiyonlarında daptomisinin iki farklı dozunun da güvenli ve etkin olduğunu bildirmişlerdir(114).

Seaton ve ark. yaptıkları çalışmada Avrupa merkezli oluşturulan Cubicin Outcomes Registry and Experience (CORE) veri tabanından elde edilen bilgiler doğrultusunda daptomisinin osteomyelitteki başarısını değerlendirmiştir. Çalışmada MRSA etkenli osteomyelitlerde daptomisin ile tedavi edilen hastaların %77'sinde başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda yazarlar daptomisinin osteomyelit tedavisinde etkin doz ve kullanım rejiminin tam olarak açıklığa kavuşturulamadığını, tedavisi zor vakalarda daptomisin monoterapisi ve kombine terapilerinin ve 6mg/kg'ın üzerinde kullanımının tedavi başarısındaki etkisinin değerlendirilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir(115). Çalışmamızda hem yüksek doz hemde düşük doz daptomisin monoterapilerinin tedavi etkinliklerini değerlendirdik. Yapılacak yeni çalışmalarda daptomisinin MRSA etkenli kronik osteomyelitte diğer ilaçlar ile kombine kullanımının etkinliği değerlendirilebilir.

SONUÇLAR

Yaptığımız deneysel MRSA etkenli kronik osteomyelit çalışması sonucunda;

- 1) MRSA etkenli kronik osteomyelitinin tedavisinde tigesiklin ve daptomisinin altın standart olan teikoplanin kadar etkili olduğu ortaya kondu.
- 2) Daptomisin ve tigesiklinin tedavi etkinliği bakımından benzer etkinlik gösterdiği ortaya kondu.
- 3) Ciddi enfeksiyon tablolarında yüksek doz kullanımı önerilen daptomisinin MRSA etkenli kronik osteomyelit tablolarında düşük dozda yüksek dozdaki kadar tedavi etkinliği gösterdiği ortaya kondu.

KAYNAKLAR

1. Warner CW. Osteomyelitis. In: Crenshaw Atl, editor. Cambell's Operative Orthopaedics. NewYork: Mosby Company, 1992;131
2. Murray P R, Baron JE, Jorgensen HJ, Landry LM, Pfaller AM. Manual of Clinical Microbiology, 9th 28: 390- 411, 2007
3. Yoon, K. S., Fitzgerald, R. H., Sud, S., Song, Z., & Wooley, P. H.. Experimental acute hematogenous osteomyelitis in mice. II. Influence of Staphylococcus aureus infection on T-cell immunity. Journal of orthopaedic research, 1999;17(3), 382-91.
4. Gresham, H. D., Lowrance, J. H., Caver, T. E., Wilson, B. S., Cheung, A. L., & Lindberg, F. P. Survival of Staphylococcus aureus inside neutrophils contributes to infection. The Journal of Immunology, 2000;164(7), 3713-22
5. Bowler IC. Is control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus justified? QJ Med 1997;90(4) 243-6
6. Sancak, B. (). Staphylococcus aureus ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bul*, 2011;45(3), 565-76.
7. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase positive cocci that grow aerobically. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Phaller MA, Yorcken RH In: Manual of clinical microbiology, 8th ed. Washington DC: ASM Press, 2003:

384-404

8.Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Gram positive cocci PartI: Staphylococci and related gram positive cocci. Colar Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed. Philadelphia, Lippincott, ; 623-662.

9.Tünger A. Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 2004; 9-38.

10- Ayşe Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyolojisi 3. Baskı Nobel Tıp Kitabevi

11.Öztürk ŞB. Bakteri yüzey slime yapısındaki moleküllerin, bakteri adheransı ve antibiyotik direncine etkisi. Uzmanlık tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, 2006.

12. Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (). Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clinical microbiology reviews, 2000;13(1), 16-34.

13. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS et al. Staphylococcus and related organisms. Medical Microbiology 4th ed. St. Louis Mosby Inc; 202-216.

14. Bilgehan H. Staphylococcus. Bilgehan H (Ed). Özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları, İzmir: Fakülteler kitabevi, Barış yayınları, 2000: 240-66.

15.Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Infect 2007; 13(3): 222-35

16. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC) Elements (IWG-SCC). www.sccmec.org
17. Pithout JDD, Sanders CC, Sanders WE. Antimicrobial resistance with focus on β -lactam resistance in gram-negative bacilli. *Am J Med* 1997; 103(1): 51-9
18. Shorr AF. Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clin Infect Dis* 2007; 45(Suppl 3): 171-6.
19. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40(1):135-6
20. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 1999; 340(7): 493-501.
21. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. *Lancet* 1998; 352(9110):1212
22. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(1):99-139
23. Gould IM. Clinical activity of anti-Gram-positive agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(Suppl 4):17-21

24. Stryjewski ME, Corey GR. New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Crit Care* 2009;15(5):403-12
25. McAleese F, Wu SW, Sieradzki K, et al. Overexpression of genes of the cell wall stimulon in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* exhibiting vancomycin-intermediate-*S. aureus*-type resistance to vancomycin. *J Bacteriol* 2006; 188(3):1120-33
26. Moise PA, North D, Steenbergen JN, Sakoulas G. Susceptibility relationship between vancomycin and daptomycin in *Staphylococcus aureus*: facts and assumptions. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(10):617-24
27. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Dowzicky M, Babinchak T. Rising incidence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin and susceptibility to antibiotics: a global analysis 2004-2009. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(3):219-24
28. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E. W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Gram-Positive Cocci. İçinde: Washington C. Winn Jr. (ed). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6. baskı. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 623-671.
29. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *The Staphylococci*. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Medical Microbiology*. 12. Baskı New York: Javets, Melnick & Adelberg's 2004: 223-230
30. Tevfik CA. *Stafilokoklar*. Ustaçelebi Ş. (ed) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003 : 339-348.

31. Moreillon P, Que Y, Glauser MP. Principles and Practice of Infectious diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2321-52
32. Köksal F. Bakteriyeel Patojenite Adaları/Genomik Adalar. İçinde: IV. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu. Durmaz R. (ed). İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Malatya 3-7 Eylül 2007: 144-152.
33. Sipahi OR., Osteomyelit, Gündeş S.(editörler). Deri, yumuşak doku, eklem ve kemik enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008;419-27.
34. Warner CW. Osteomyelitis. In: Crenshaw Atl, editor. Cambell's Operative Orthopaedics. New York: Mosby Company, 1992;131
35. Cierny G, Mader JT. Adult chronic osteomyelitis. Orthopaedics 1984;7(10):1557-64.
36. Mader JT, Calhoun J. Osteomyelitis. In: Mandell GL, Douglas RG, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone Inc, 2000;1182
37. Gillspie WJ. Prevention and management of infection after total joint replacement. Clin Infect Dis 1997;25(6):1310-5
38. Luciana Souza Jorge, Alceu Gomes Chueire, Alceu Gomes Chueire, Osteomyelitis: a current challenge. Braz J Infect Dis 2010;14(3):3150-59.
39. Kohli R, Hadley S. Fungal arthritis and osteomyelitis. Infect Dis Clin North Am 2005;19(4):831-51

- 40-. Kasımoğlu Ö, Dağoğlu T. Kronik osteomyelit vakalarından izole edilen bakteriler ve antibiyotiklere hassasiyetleri. İst. Tıp Fak. Mecm. 1975;38:48.
41. Duru S, Yuluğ N, Mümtaz A. Ofloxasin in osteomyelitis International Congress for Infectious Disease, 1990 July 15-19; Montreal, Canada.
- 42.Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B:Bacterially induced bone destruction: mechanisms and mis-conceptions. Infect Immun 1996;64(7):2371-80.
43. Franchi-Miller C, Saffar JL: The 5-lipoxygenase inhibitorBWA4C impairs osteoclastic resorption in a synchronizedmodel of bone remodeling. Bone 1995;17(2):185-91
- 44.Yoon KS, Fitzgerald RH, Sud Jr S, Song Z, Wooley PH:Experimental acute hematogenous osteomyelitis in mice.Influence of staphylococcus aureus infection on T-cellimmunity. J Orthop Res 1999;17(3):382-91.
- 45.Gresham HD, Lowrance JH, Caver TE, Wilson BS, CheungAL, Lindberg FP: Survival of Staphylococcus aureus insideneutrophils contributes to infection. J Immunol 2000;164(7):3713-22.
- 46.Hudson MC, Ramp WK, Nicholson NC, Williams AS,Nousiainen MT: Internalization of Staphylococcus aureus bycultured osteoblasts. Microb Pathog 1995;19(6):409-19.
- 47.Ryden C, Yacoub AI, Maxe I, Heinegard D, Oldberg A,Franzen A, Ljungh A, Rubin K. Specific binding of bonesialoprotein to Staphylococcus aureus isolated from patientswith osteomyelitis. Eur J Biochem 1989;184(2):331-6.

48. Nilsson M, Frykberg L, Flock JI, Pei L, Lindberg M, Guss B: A fibrinogen-binding protein of *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun* 1998;66(6):2666-73.
49. Lew DP, Waldvogel FA: Osteomyelitis. *Lancet* 2004;364(9431):369-79.
50. Gillaspay AF, Lee CY, Sau S, Cheung AL, Smeltzer MS: Factors affecting the collagen binding capacity of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 1998;66(7):3170-8.
51. Gracia E, Lacleriga A, Monzon M, Leiva J, Oteiza C, Amorena B: Application of a rat osteomyelitis model to compare in vivo and in vitro the antibiotic efficacy against bacteria with high capacity to form biofilms. *J Surg Res* 1998;79(2):146-53.
52. Gillespie WJ. Haematogenous osteomyelitis. In: D'ambrosia RD, Marier RL, editors. *Orthopaedic Infections*. New Jersey:1989:1.
53. Gillespie WK. The epidemiology of acute haematogenous osteomyelitis of childhood. *Inter J Epidemiol* 1985; 14(4): 600-6
54. Emslie KR, Nade S. Acute haematogenous staphylococcal osteomyelitis: a description of the natural history in an avian model. *Am J Pathol* 1983;110(3):333-45
55. Campbell's Operative Orthopaedics Editör: S. Terry Canale Türkçe baskı çeviri editörü: Işık Akgün 2007; 1: 661-80
56. Moutschen MB, Scheen AJ, Lefebvre PJ. Impaired immune responses in diabetes mellitus; analysis of the factors and mechanisms involved. Relevance to the factors and increased susceptibility of diabetic patients to specific infections. *Diabete Metab* 1992;18(3): 187-2001

57. Longjohn DB, Zionts LE, Stott NS. Acute hematogenous osteomyelitis of the epiphysis. *Clin Orthop* 1995;(316):227-34.
58. Roberts JM, Drummond DS, Breed AL, Chesney J. Subacute hematogenous osteomyelitis in children: a retrospective study. *J Pediatr Orthop* 1982;2(3):249-54
59. Ross ERS, Cole WG. Treatment of subacute osteomyelitis in childhood. *J Bone Joint Surg* 1985; 67(3):443-8
60. Browner BD. Chronic osteomyelitis. In: Browner BD, Levine AM, Jupiter JJ, Trafton PG, Krettek C, editors. *Skeletal trauma basic science, management, and reconstruction*. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2009; 589-614
62. Cierny G 3rd, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2003;414:7-24
63. Newman LG, Waller J, Palestro CJ, Schwartz M, Klein MJ, Hermann G, et al. Unsuspected osteomyelitis in diabetic foot ulcers. Diagnosis and monitoring by leukocyte scanning with indium in 111 oxyquinoline. *JAMA* 1991;266(9):1246-51.
64. Cierny G III, Mader JT. Approach to adult osteomyelitis. *Orthop Rev* 1987;16(4):259-70.
65. Cierny G III, Mader JT. Adult chronic osteomyelitis 1984; 7(10): 1557-64
66. Schauwecker DS. The scintigraphic diagnosis of osteomyelitis. *AJR Am J Roentgenol* 1992;158(1):9-18.

67. Termaat MF, Raijmakers PG, Scholten HJ, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. The accuracy of diagnostic imaging for the assessment of chronic osteomyelitis: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87(11):2464-71.
68. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet*. 2004;364(9431):369-79.
69. Tetsworth K, Cierny G. Osteomyelitis debridement techniques. *Clin Orthop Relat Res* 1999;360:87-96
70. Parsons B, Strauss E. Surgical management of chronic osteomyelitis. *Am J Surg* 2004;188(1ASuppl):57-66
71. Lazzarini L, Mader JT, Calhoun JH. Osteomyelitis in long bone. *J Bone Joint Surg Am* 2004;86(10):2305-18.
72. Couch L, Cierny G, Mader JT. Inpatient and outpatient use of the Hickman catheter for adults with osteomyelitis. *Clin Orthop* 1987; Jun(219):226-35
73. Kapukaya A, Arslan H, Necmioğlu S, Uluç D, Yıldırım K. Kronik kalkaneal osteomyelitin parsiyel rezeksiyonla tedavisi. *Acta Orthop Trauma Turc.* 1997; 31:212.
74. Warner Jr. WC. Osteomyelitis. In: *Campbell's Operative Orthopaedics*. (Ed) Canale, ST, St. Louis, Mosby; 1998. p. 563-78
75. Özsüt H. Ortopedik enfeksiyonların güncel tedavisi. *Klimik* 2005;18(2):177
76. Concia E, Prandini N, Massari L, Ghisellini F, Consoli V, Menichetti F, Lazzeri E. Osteomyelitis: clinical update for practical guidelines. *Nucl Med Commun* 2006;27(8):645-60.

- 77.Ulutan F, Şenköylü A, Bölükbaşı S. Osteomyelit. In: Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, editörler. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2008. s. 1353-63.
- 78.Laffer RR, Graber P, Ochsner PE, Zimmerli W. Outcome of prosthetic knee-associated infection: evaluation of 40 consecutive episodes at a single centre. Clin Microbiol Infect 2006;12(5):433-9.
- 79.Greenberg RN, Newman MT, Shariaty S, Pectol RW. Ciprofloxacin, lomefloxacin, or levofloxacin as treatment for chronic osteomyelitis. Antimicrob Agents Chemother 2000;44(1):164-6
- 80.Lautenbach EE, Robinson RG, Koornhof HJ. Serum and tissue concentrations of sodium fusidate in patients with chronic osteomyelitis and in normal volunteers. S Afr J Surg 1975;13(1):21-32
- 81.LeFrock JL, Ristuccia AM, Ristuccia PA, Quenzer RW, Haggerty PG, Allen JE, et al. Teicoplanin in the treatment of bone and joint infections. Teicoplanin Bone and Joint Cooperative Study Group, USA. Eur J Surg Suppl 1992;(567):9-13
- 82.Fraimow HS.Systemic Antimicrobial Therapy in Osteomyelitis. Semin Plast Surg 2009;23(2):90-9.
- 83.Arman D.Dirençli Gram Pozitif Kok İnfeksiyonları: Kullanımdaki Tedavi Seçenekleri, Ankem Derg, 2008;22 (Ek 2): 287-296,
84. Greenwood D. Microbiological properties of teicoplanin. J Antimicrob Chemother. 1988;21 (Suppl A): 1-13

85. Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Gaye USLUER Ve Sercan ULUSOY, Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler Bilimsel Tıp Yayınevi 2007
86. Brogden RN, Peters DH Teicoplanin. A reappraisal of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. 1994;47(5):823-54
87. Pankey GA: Tigecycline, J Antimicrob Chemother 2005;56(3):470-80
88. Roveta S, Marchese A, Schito GC. Activity of daptomycin on biofilms produced on a plastic support by Staphylococcus spp. Int J Antimicrob Agents. 2008 ;31(4):321-8
89. Çalık N, Akova M Tigesiklin ANKEM Derg 2007;21(Ek 2):29-3
90. Kosmidis C, Levine DP. Daptomycin: pharmacology and clinical use. Expert Opin Pharmacother 2010;11(4):615-25.
91. Schriever CA, Fernández C, Rodvold KA, Danziger LH. Daptomycin: a novel cyclic lipopeptide antimicrobial. Am J Health Syst Pharm 2005;62(11):1145-58.
92. Hair PI, Keam SJ. Daptomycin: a review of its use in the management of complicated skin and soft-tissue infections and Staphylococcus aureus bacteraemia. Drugs 2007;67(10):1483-512.
93. Vergidis PI, Falagas ME. New antibiotic agents for bloodstream infections. Int J Antimicrob Agents 2008;32(1):60
94. Kosmidis C, Levine DP. Daptomycin: pharmacology and clinical use. Expert Opin Pharmacother 2010;11(4):615-25
95. 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

96. Smith K, Perez A, Ramage G, Gemmell CG, Lang S. Comparison of biofilm-associated cell survival following in vitro exposure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to the antibiotics clindamycin, daptomycin, linezolid, tigecycline and vancomycin. *Int J Antimicrob Agents* 2009;33(4):374-8
97. Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(6): 2137-45
98. Kaatz GW, Lundstrom TS, Seo SM. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents.* 2006; 28(4): 280-7.
99. Kandemir O, Oztuna V, Colak M, Akdag A, Camdeviren H. Comparison of the efficacy of tigecycline and teicoplanin in an experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis model. *J Chemother* 2008;20:53-7
100. Hanaki H, Hososaka Y, Yanagisawa C, Otsuna Y, Nagasawa Z, Nakae T, Sunakawa K Occurrence of vancomycin-intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *J Infect Chemother* 2007; 13(2): 118-21
101. Yin, L. Y., Lazzarini, L., Li, F., Stevens, C. M., Calhoun, J. H. Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005;55(6):995-1002.
102. Kreis, C. A., Raschke, M. J., Roßlenbroich, S. B., Tholema-Hans, N., Löffler, B., Fuchs, T. Therapy of intracellular *Staphylococcus aureus* by tigecyclin. *BMC infectious diseases*, 2013;13(1):267

103. Griffin, A. T., Harting, J. A., Christensen, D. M. Tigecycline in the management of osteomyelitis: a case series from the bone and joint infection (BAJIO) database. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2013; 77(3):273-7.
104. Stanzani, M., Tumietto, F., Giannini, M. B., Bianchi, G., Nanetti, A., Vianelli, N., Baccarani, M. Successful treatment of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* osteomyelitis after allogeneic bone marrow transplantation with a combination of colistin and tigecycline. *Journal of medical microbiology*, 2007;56(12):1692-5
105. Chen PL, Yan JJ, Wu CJ, Lee HC, Chang CM, Lee NY. Salvage therapy with tigecycline for recurrent infection caused by ertapenem-resistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;68(3):312–4.
106. Schafer JJ, Mangino JE. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* osteomyelitis from Iraq. *Emerg Infect Dis* 2008;14(3):512–4.
107. Polilli E, Ursini T, Mazzotta E, Sozio F, Savini V, D'Antonio D, Parruti, G. (). Successful salvage therapy with Daptomycin for osteomyelitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a renal transplant recipient with Fabry-Anderson disease. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 2012;11(1);1-5.
108. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ. Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother* 2006;58(6):1221–9.
109. Lefebvre M, Jacqueline C, Amador G, Le Mabecque V, Miegerville A, Potel G, Caillon J, Asseray N. Efficacy of daptomycin combined with rifampicin for the

treatment of experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) acute osteomyelitis. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Dec;36(6):542-4.

110. Poepl W, Tobudic S, Lingscheid T, Plasenzotti R, Kozakowski N, Lagler H, Georgopoulos A, Burgmann H. Daptomycin, fosfomicin, or both for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in an experimental rat model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4999-5003.

111. Gallagher JC, Huntington JA, Culshaw D, McConnell SA, Yoon M, Berbari E. Daptomycin therapy for osteomyelitis: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 2012;12(1):12:133.

112. Sakoulas G, Eliopoulos GM, Alder J, Eliopoulos CT. - Efficacy of daptomycin in experimental endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(5):1714-8.

113. Rouse MS, Piper KE, Jacobson M, Jacofsky DJ, Steckelberg JM, Patel R. Daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* experimental chronic osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(2):301-5.

114. Byren I, Rege S, Campanaro E, Yankelev S, Anastasiou D, Kuropatkin G, Evans R. Randomized controlled trial of the safety and efficacy of Daptomycin versus standard-of-care therapy for management of patients with osteomyelitis associated with prosthetic devices undergoing two-stage revision arthroplasty. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(11):5626-32

115. Seaton RA, Malizos KN, Viale P, Gargalianos-Kakolyris P, Santantonio T, Petrelli E, Pathan R, Heep M, Chaves RL. Daptomycin use in patients with osteomyelitis: a preliminary report from the EU-CORE(SM) database. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(7):1642-9.

