



MÜGE TEPE FINDIK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2024

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE
DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
İZOLATLARINDA SEFTOBİPROLÜN TEK BAŞINA VE
KOMBİNE HALDE *IN VITRO* ETKİNLİĞİ

MÜGE TEPE FINDIK

DANIŞMAN
PROF. DR. LÜTFİYE ÖKSÜZ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2024

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik bilgisini ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana rehberlik eden, tez çalışmamın her aşamasında karşılaştığım zorlukların üstesinden gelmeme destek olan, değerli danışman hocam Prof. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Dilek ŞATANA, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Sevim MEŞE, Doç. Dr. Hayriye UYSAL, Doç. Dr. Gonca ERKÖSE GENÇ, Doç. Dr. Bahar AKGÜN KARAPINAR ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖNEL'e,

Yüksek lisans sürecini birlikte geçirmekten mutluluk duyduğum, laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen ve beni motive eden canım arkadaşım Göknur KARA ALTAY'a,

Beni her koşulda sevgi ile destekleyen canım annem Şule TEPE'ye, canım babam Ferhan TEPE'ye, canım kardeşim Anıl TEPE'ye ve canım eşim Mehmet Barış FINDIK'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39781

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Stafilokoklar.....	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Morfoloji, Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri	4
2.1.3. Virülans Faktörleri	5
2.1.3.1. Hücre Bileşenleri.....	8
2.1.3.2. Enzimler	12
2.1.3.3. Toksinler	15
2.1.4. <i>S. aureus</i> 'un Neden Olduğu Enfeksiyonlar.....	19
2.1.4.1. Cilt Ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	19
2.1.4.2. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar	22
2.1.4.3. Bakteriyemi	23
2.1.4.4. Endokardit	23
2.1.4.5. Pnömoni ve Ampiyem.....	24
2.1.4.6. Osteomyelit	24
2.1.4.7. Septik Artrit.....	25
2.1.5. <i>S. aureus</i> Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler	25
2.1.5.1. Beta Laktam Antibiyotikler.....	25
2.1.5.2. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B	28
2.1.6. Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler	29

2.1.6.1. Glikopeptidler	29
2.1.6.2. Daptomisin	33
2.1.6.3. Seftobiprol.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. GEREÇ	39
3.1.1. Bakteri izolatları.....	39
3.1.1.1. Çalışmaya dahil etme kriterleri	39
3.1.1.2. Çalışmadan hariç tutma kriterleri.....	39
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri	39
3.1.2.1. Triptik Soy Agar (TSA)	39
3.1.2.2. Mueller-Hinton II Agar (MHA).....	40
3.1.2.3. Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth (KAMHB).....	40
3.1.2.4. Kalsiyum ilaveli Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth.....	40
3.1.2.5. DNaz Agar	40
3.1.2.6. Beyin Kalp İnfüzyon Agar (BKİA).....	41
3.1.2.7. Vankomisin İlaveli Beyin Kalp İnfüzyon Agar (VİBKİA).....	41
3.1.2.8. Serum Fizyolojik.....	41
3.1.3. Antibiyotikler	41
3.1.3.1. Antibiyotik Toz Maddeleri.....	41
3.1.3.2. Antibiyotik Diskleri	42
3.1.4. Test Kitleri	42
3.1.5. Diğer Kimyasal Maddeler	43
3.1.6. Sarf Malzemeler	43
3.1.7. Kullanılan Cihazlar Ve Diğer Gereçler.....	44
3.2. YÖNTEMLER.....	44
3.2.1. Bakteri İzolasyonu Ve Tanımlanması.....	44
3.2.1.1. Gram Boyama	46
3.2.1.2. Katalaz Testi.....	47
3.2.1.3. Tüpte Plazma Koagülaz Testi	48
3.2.1.4. DNaz Testi	49
3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	49
3.2.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi	49
3.2.2.2. D-Zon Testi	51

3.2.2.3. Metisiline Direncin Sefoksitin Tarama Testi ve MRSA Lateks Aglütinasyon Kitiyle Saptanması	52
3.2.2.4. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi.....	53
3.2.2.5. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi	57
3.2.2.6. Vankomisin Agar Tarama	60
3.2.2.7. Makro Gradyent Test	61
4. BULGULAR.....	62
4.1. İzolatların İzole Edildiği Klinik Örneklerle Göre Dağılımı	62
4.2. İzolatların Kliniklere Göre Dağılımı.....	63
4.3. Hastaların Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı.....	63
4.4. İzole Edilen Suşların İdentifikasyon Sonuçları.....	64
4.4.1. Gram Boyama Sonuçları	64
4.4.2. Katalaz Testi Sonuçları	64
4.4.3. Plazma Koagülaz Testi Sonuçları	65
4.4.4. DNAz Testi Sonuçları.....	65
4.5. Disk Difüzyon Sonuçları.....	66
4.6. D-Zon Testi Sonuçları.....	70
4.7. Penisilin Bağlayan Protein (PBP2'/PBP2a) Lateks Aglütinasyon Test Sonuçları	72
4.8. Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları	72
4.8.1. Seftobiprol Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları	72
4.8.1.1. Seftobiprol için zon çapı - MİK değerleri karşılaştırması.....	73
4.8.2. Daptomisin Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları	74
4.8.3. Vankomisin Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları.....	75
4.9. Dama Tahtası (Checkerboard) Test Sonuçları	76
4.10. Vankomisin Agar Tarama Sonuçları	78
4.11. Makro Gradyent Test Sonuçları.....	78
5. TARTIŞMA	79
KAYNAKLAR	93
HAM VERİLER	103
FORMLAR	110
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	111

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>S. aureus</i> 'un virülans faktörleri.....	7
Tablo 2-2: Beş kuşak sefalosporin sınıfındaki antibiyotikler.	27
Tablo 3-1: <i>S. aureus</i> izolatlarında disk difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotiklerin inhibisyon zon çapı sınır değerleri.....	50
Tablo 3-2: <i>S. aureus</i> izolatlarında BMD testiyle MİK sınır değerleri.	57
Tablo 3-3: Dama tahtası yöntemi ile seftobiprol-vankomisin kombinasyonuna örnek..	58
Tablo 3-4: Dama tahtası yöntemi ile seftobiprol-daptomisin kombinasyonuna örnek...	59
Tablo 3-5: Σ FİK değeri yorumlanması.	60
Tablo 4-1: Tüm MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçları.....	66
Tablo 4-2: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.	67
Tablo 4-3: Kan kültüründen izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.....	68
Tablo 4-4: MRSA izolatlarında klinik örneklerle göre iMLS _b , cMLS _b , MS _b fenotipleri.	71
Tablo 4-5: BPR-dirençli MRSA izolatlarının DAP ve VAN için MİK değerleri.	74
Tablo 4-6: DAP-dirençli MRSA izolatlarının BPR ve VAN için MİK değerleri.	74
Tablo 4-7: BPR, DAP, VAN için MİK aralıkları, MİK ₅₀ ve MİK ₉₀ değerleri.....	75
Tablo 4-8: BPR-VAN kombinasyonun örnek grafik sonuçları.	76
Tablo 4-9: Dama tahtası sonuçları.	77
Tablo 5-1: BPR, DAP, VAN duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması.....	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>S. aureus</i> 'da virülansın düzenlenmesi.....	7
Şekil 2-2: Epidermiste desmoglein izoformlarının farklı dağılımı.	18
Şekil 2-3: Vankomisin Lipid II ile etkileşimi.	31
Şekil 2-4: VRSA izolatlarında <i>vanA</i> tipi vankomisine direnç mekanizması.	32
Şekil 2-5: Seftobiprolün kimyasal yapısı.....	35
Şekil 2-6: MRSA izolatlarında PBP2a'nın seftobiprol ile inhibisyonu.....	37
Şekil 3-1: TSA besiyerinde <i>S. aureus</i> 'un altın sarısı pigmentli kolonilerinin görüntüsü.	46
Şekil 3-2: <i>S. aureus</i> 'un Gram boyama mikroskopik görüntüsü.....	47
Şekil 3-3: Katalaz pozitif ve katalaz negatif test sonuçlarını gösteren çalışma.....	48
Şekil 3-4: MRSA izolatlarında iMLS _b , cMLS _b ve MS _b fenotipleri.....	51
Şekil 3-5: BMD deneyinde kullanılan şablon örneği.....	56
Şekil 3-6: Vankomisin agar tarama testinde kullanılan şablon örneği.	61
Şekil 4-1: İzolatların izole edildiği klinik örneklerle göre oranları.	62
Şekil 4-2: Tüm MRSA izolatlarının kliniklere göre dağılımı.....	63
Şekil 4-3: Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılım oranları.	64
Şekil 4-4: Katalaz testi pozitif 30 numaralı izolat.	64
Şekil 4-5: İnkübasyon süresi sonunda plazma koagülaz testi pozitif 20 numaralı suş. ..	65
Şekil 4-6: DNaz testi pozitif olan 28 ve 29 numaralı izolatlar.	65
Şekil 4-7: Çalışılan tüm MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.....	67
Şekil 4-8: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.....	68
Şekil 4-9: Kan kültüründen izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.....	69
Şekil 4-10: Klinik örneklerle göre disk difüzyon sonuçlarında antibiyotiklere dirençli MRSA izolat sayıları.	69
Şekil 4-11: Disk difüzyon deneyine ait örnek plak (18 numaralı izolat).....	70
Şekil 4-12: D-zon testi pozitif olan örnek çalışma.	70

Şekil 4-13: MRSA izolatlarında klinik örneklerle göre iMLS _b , cMLS _b , MS _b fenotipleri.	71
Şekil 4-14: PBP2' lateks aglütinasyon test kitine örnek.	72
Şekil 4-15: MRSA izolatlarında BPR için mikropalak örneği.	73
Şekil 4-16: BPR için zon çapı ve MİK değerleri karşılaştırması.....	73
Şekil 4-17: Tüm MRSA izolatlarında BPR, DAP ve VAN için MİK dağılımları.....	75
Şekil 4-18: BPR-VAN kombinasyonuna ait dama tahtası örnek çalışması.....	77
Şekil 4-19: Vankomisin agar tarama yöntemine ait örnek çalışma.	78
Şekil 4-20: Makro gradiyent test yöntemine ait örnek çalışma.	78
Şekil 5-1: Seftobiprole duyarlılık sonuçlarının literatüre göre karşılaştırılması.....	90



KISALTMALAR LİSTESİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AD: Atopik dermatit

Agr: accessory gene regulator (aksesuar gen düzenleyici)

ASM: American Society for Microbiology (Amerika Mikrobiyoloji Derneği)

BKİA: Beyin kalp infüzyon agar

BMD: Sıvı mikrodilüsyon

BPR : Seftobiprol

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri)

ClfA: Kümeleşme faktörü A

ClfB: Kümeleşme faktörü B

cMLS_B: Konstitütif makrolid linkozamid streptogramin B

Cn: Kollajen

Cna: Kollajen adezin

CP5: Serotip 5

CP8: Serotip 8

CRİg: Ig süper ailesinin kompleman reseptörü

CRF: Coagulase reacting factor

CYD: Cilt ve yumuşak doku

CYDE: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu

DAP: Daptomisin

Dsg: Desmoglein

eDNA: ekstraselüler DNA

ETA: Eksfoliyatif toksin A

ETB: Eksfoliyatif toksin B

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)

FDA: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)

FİK: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon (FİK)

FnBP: Fibronektin bağlayıcı protein

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz

GT: Gradiyent test

HKP: Hastane kökenli pnömoni

H₂O₂: Hidrojen peroksit

hVISA: Heterorezistan vankomisine orta duyarlı *Staphylococcus aureus*

IDSA: Infectious Diseases Society of America (Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği)

Ig: İmmünoglobulin

IL: İnterlökin

iMLS_B: İndüktif (indüklenebilir) makrolid linkozamid streptogramin B

KAMHB: Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth

KNS: Koagülaz negatif stafilokoklar

LAP: Lenfadenopati

LB: Luria Bertani

LDL: Low-density lipoprotein (düşük yoğunluklu lipoprotein)

LTA: Lipoteikoik asit

MBL: Mannoz bağlayıcı lektin

MGL: Makrofaj galaktoz tipi lektin

MHA: Mueller-Hinton II agar

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

MPO: Miyeloperoksidaz

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MS_B: Makrolid streptogramin B

MSCRAMM: Yapışkan matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri

MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

NAG: N-asetilglukozamin

NAM: N-asetilmuramik asit

nuc: termonükleaz

PBP: Penisilin bağlayan protein

PNL: Polimorfonükleer lökositler

PRSP: Penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*

PVL: Panton-Valentine lökositidin

SCC: Staphylococcal cassette chromosome (stafilokokal kaset kromozom)

SF: Serum fizyolojik

SHDS: Stafilokokal haşlanmış deri sendromu

SREC-1: Scavenger reseptör

TA: Teikoik asit

TKP: Toplum kökenli pnömoni

TNF: Tümör nekroz faktörü

TSA: Triptik soy agar

TŞS: Toksik şok sendromu

TŞST-1: Toksik şok sendromu toksini 1

UAMDSS: Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi

VAN: Vankomisin

VISA: Vankomisine orta duyarlı *Staphylococcus aureus*

VİBKİA: Vankomisin ilaveli beyin kalp infüzyon agar

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni

VLDL: Very-low density lipoprotein (çok düşük yoğunluklu lipoprotein)

VRSA: Vankomisine dirençli *Staphylococcus aureus*

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

WTA: Hücre duvarı teikoik asiti

YDD: Yüksek dozda duyarlı



ÖZET

Tepe Fındık, M. (2024) Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında seftobiprolün tek başına ve kombine halde *in vitro* etkinliği. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Staphylococcus aureus, bakteriyemi, endokardit, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, solunum yolu enfeksiyonu gibi enfeksiyonlara neden olan önemli bir insan patojenidir. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) enfeksiyonları, tedavi seçeneklerinin azalmasına, hastanede yatış süresinin uzamasına, sağlık maliyetlerinin artmasına neden olmakta ve halk sağlığı için küresel bir tehdit oluşturmaktadır. MRSA izolatlarında vankomisine duyarlılığın azalması ve daptomisine dirençli MRSA izolatlarının ortaya çıkması yeni tedavi seçeneklerini zorunlu kılmıştır. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen 100 MRSA izolatında seftobiprolün tek başına ve kombine halde *in vitro* etkinliği araştırılmıştır. Rutin kullanılan antibiyotikler için duyarlılık testleri, disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Seftobiprol, daptomisin ve vankomisin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Heterorezistan vankomisine orta duyarlı *S. aureus* (hVISA) varlığı, makro gradiyent test ile araştırılmıştır. Seftobiprole dirençli bulunan izolatlarda, seftobiprol-daptomisin ve seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının etkinliği dama tahtası yöntemiyle araştırılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle, dört (% 4) izolat seftobiprole dirençli (MİK: $>2 \mu\text{g/ml}$) ve dört (% 4,12) izolat daptomisine dirençli (MİK: $>1 \mu\text{g/ml}$) bulunmuştur. Vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA), vankomisine orta duyarlı *S. aureus* (VISA) ve hVISA varlığı saptanmamıştır. Seftobiprole dirençli izolatlarda, seftobiprol-daptomisin ve seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının indifferens etki gösterdiği bulunmuştur. Seftobiprole direnç oranı düşük olmasına rağmen, direnç artışı olasılığı nedeniyle farklı antibiyotik kombinasyonlarının denenmesi gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, seftobiprol, daptomisin, vankomisin, antibiyotik kombinasyonları

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39781

ABSTRACT

Tepe Findık, M. (2024). *In vitro* efficacy of ceftobiprole alone and in combination on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates isolated from clinical specimens. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology. Master Thesis. İstanbul.

Staphylococcus aureus is an important human pathogen that causes infections such as bacteremia, endocarditis, skin and soft tissue infection, urinary tract infection, respiratory tract infection. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) infections cause reduced treatment options, longer hospital stays, increased healthcare costs and pose a global threat to public health. Decreased susceptibility to vancomycin and emergence of daptomycin resistance in MRSA isolates have necessitated new treatment options. In this study, the *in vitro* activity of ceftobiprole alone and in combination was investigated on 100 MRSA isolates isolated from clinical samples. Susceptibility tests for routinely used antibiotics were performed by disk diffusion method. Minimum inhibitory concentration (MIC) values for ceftobiprole, daptomycin and vancomycin were determined by the broth microdilution method. The presence of heteroresistant vancomycin intermediate *S. aureus* (hVISA) was investigated by the macro gradient test. The effectiveness of ceftobiprole-daptomycin and ceftobiprole-vancomycin combinations in ceftobiprole-resistant isolates was investigated by the checkerboard method. By the broth microdilution method, four (4%) isolates were found to be resistant to ceftobiprole (MIC: $>2 \mu\text{g/ml}$), and four (4.12%) isolates were resistant to daptomycin (MIC: $>1 \mu\text{g/ml}$). The presence of vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA), vancomycin intermediate *S. aureus* (VISA) and hVISA was not detected. Ceftobiprole-daptomycin and ceftobiprole-vancomycin combinations in ceftobiprole-resistant isolates were found to have indifference effect. Although the rate of resistance to ceftobiprole is low, it is necessary to try different antibiotic combinations due to the possibility of increased resistance.

Key Words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ceftobiprole, daptomycin, vancomycin, antibiotic combinations

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 39781

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Önemli bir insan patojeni olan *Staphylococcus aureus*, bakteriyemi, endokardit, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonu, solunum yolu enfeksiyonu gibi toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlara neden olmaktadır [1]. *S. aureus*, çeşitli virülans faktörlerine ve çoğu antibiyotiğe direnç kazanma yeteneğine sahiptir [2]. Penisilinin kullanıma girmesini takiben penisiline dirençli suşların ortaya çıkması nedeniyle, penisilinaz (beta laktamaz) üreten penisiline dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde beta-laktamaza dayanıklı antibiyotik olan metisilin kullanılmıştır [3-5]. Daha sonraki yıllarda *S. aureus* izolatları, *mecA* geninin belirli bir bölgede kromozoma dahil edilmesiyle metisiline dirençli hale gelmiştir [2, 5].

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) kaynaklı enfeksiyonlar, tedavide sorunlara, hastanede yatış süresinin uzamasına, sağlık maliyetlerinin artmasına, mortalite ve morbidite artışlarına neden olmaktadır. MRSA enfeksiyonları, hastane kaynaklı *S. aureus* enfeksiyonlarının en az %25 ila 50'sinden sorumludur ve halk sağlığı için küresel bir tehdit oluşturmaktadır. MRSA izolatlarının beta-laktam antibiyotiklere dirençli olması, MRSA enfeksiyonlarının tedavisi ve kontrolü açısından zorluk oluşturmaktadır [2, 6]. Ciddi MRSA enfeksiyonları için önerilen tedavi olan vankomisine duyarlılığın giderek azalması, yeni tedavi seçeneklerinin gereksinimini ortaya çıkarmıştır [6-8]. Bu yeni tedavi seçenekleri glikopeptidlerden oritavansin, telavansin, dalbavansin; aminoglikozitlerden plazomisin; lipopeptidlerden daptomisin; sefalosporinlerden seftarolin ve seftobiprol gibi yeni geliştirilen antibiyotiklerdir [9]. Daptomisin, Gram pozitif bakterilere karşı bakterisidal etkili ve lipopeptid yapıda bir antibiyotiktir. Daptomisinin kalsiyuma bağlanmasıyla konformasyonunda meydana gelen değişiklikler, daptomisinin membrana kolaylıkla bağlanmasını sağlamaktadır. Daptomisine duyarlı olmayan MRSA izolatlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisi için, daptomisinin bir β -laktam antibiyotik ile kombinasyonu önerilmektedir [10-14].

Seftobiprol, anti-MRSA etkili, geniş spektrumlu, yeni nesil 5. kuşak sefalosporinler içinde yer alan, beta-laktam grubu bir antibiyotiktir. Seftobiprolün geniş aktiviteli spektrumu, patojenlerdeki çoklu penisilin bağlayan protein (PBP)'lere bağlanmasına dayanmaktadır. Seftobiprol, anti-MRSA aktivitesini *mecA* geni tarafından kodlanan ve metisiline direnç geliştirmesini sağlayan mutant PBP2a formuna hızlı ve sıkı bağlanmasıyla göstermektedir [15, 16].

Seftobiprolün PBP2a'ya yüksek afinite göstermesi, MRSA kökenli enfeksiyonların tedavisi için tercih sebebi olmuştur [15, 17]. Ancak Kanada, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde yapılan çalışmalarda seftobiprole duyarlı olmayan MRSA izolatları bildirilmiştir. Son yıllarda MRSA izolatlarının seftobiprole duyarlılığının azalması nedeniyle seftobiprolün daptomisin veya vankomisin ile kombinasyon halinde kullanılması önerilmiştir [18-20]. Bazı çalışmalarda, seftobiprol-daptomisin ve seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının MRSA izolatlarında sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir [16, 21-23].

Bu çalışmada, klinik örneklerden (cilt ve yumuşak doku örnekleri, kan kültürü örnekleri, solunum yolu örnekleri ve diğer örnekler) izole edilen 100 MRSA izolatında seftobiprolün tek başına ve kombine halde *in vitro* etkinliği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilokoklar

2.1.1. Tarihçe

Staphylococcus aureus, ilk kez 1880 yılında İskoçyalı cerrah ve bilim insanı Alexander Ogston tarafından cerrahi yara enfeksiyonundan izole edilmiştir. Ogston, izole edilen mikroorganizmanın farelere enjekte edildiğinde apse oluşturduğunu ve patojen olduğunu bildirmiştir. Ogston, 1882 yılında bu mikroorganizmalara üzüm salkımına benzeyen kümeler oluşturmaları nedeniyle “*Staphylococcus*” (Staphyle: üzüm salkımı, kokkos: meyve) adını vermiştir. Alman doktor Friedrich Julius Rosenbach, 1884 yılında *Staphylococcus* cinsi bakterileri kolonilerinin rengine göre ayırarak beyaz renkli koloni meydana getirenleri *Staphylococcus albus* (Latince *albus*: beyaz) ve sarı renkli koloni meydana getirenleri ise *Staphylococcus aureus* (Latince *aurum*: altın) olarak isimlendirmiştir. Daha sonra *S. albus*, insan derisinde yaygın olarak bulunmasından dolayı *S. epidermidis* olarak adlandırılmıştır [2, 24, 25].

Alexander Fleming, 1928 yılında stafilokokları içeren kültür plağında bulunan *Penicillium notatum*’un çevresindeki inhibisyon bölgesini gözlemleyerek penisilini keşfetmiştir. Penisilin 1940’lı yıllarda piyasaya sunulması ve yaygın olarak kullanılmasının ardından penisilinaz (beta laktamaz) üreten penisiline dirençli *S. aureus* suşları ortaya çıkmıştır [3, 4, 26, 27]. Daha sonra 1959 yılında beta-laktamaz enzimine dayanıklı metisilin keşfedilmiştir. *S. aureus*’un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde metisilin kullanımı başarılı olmasına rağmen 1961 yılında İngiltere’de ilk defa MRSA izolatı bildirilmiştir. Metisiline direnç, *mecA* geninin belirli bir bölgede kromozoma dahil edilmesi yoluyla meydana gelmektedir [2, 5]. MRSA salgınları, 1980’li ve 1990’lı yıllarda Birleşik Krallık, İrlanda, Avustralya, Uzak Doğu ve ABD gibi birçok ülkeden bildirilmiştir. MRSA enfeksiyonları, halk sağlığı için küresel bir tehdit oluşturmaktadır. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin (IDSA) güncel rehberinde MRSA kökenli enfeksiyonlar için önerilen tedavi vankomisin olarak belirtilmiş olup ilk basamak antibiyotiklerden biri olmaya devam etmektedir. Ancak 2002 yılında ABD Michigan’da ilk kez vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) izole edilmiş olup dünya çapında VRSA izolatları bildirilmeye devam etmektedir [2, 6, 7].

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) 2021 verilerine göre % 0,1 VRSA saptanmıştır [28]. MRSA izolatlarında vankomisine duyarlılığının azalması, MRSA enfeksiyonları için yeni tedavi seçeneklerinin gereksinimini ortaya çıkarmıştır [8].

2.1.2. *Staphylococcus aureus*'un Morfoloji, Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Staphylococcus aureus, *Staphylococcaceae* ailesi içinde yer alan 0,5 – 1,5 µm çapında, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob, Gram pozitif kok şeklinde bakteridir. Hücre bölünmesi birden fazla farklı düzlemde gerçekleştiği için hücreler üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturmaktadır [29, 30].

Staphylococcus aureus, basit besiyerleri de dahil olmak üzere birçok besiyerinde optimum 37°C'de üreyebilmektedir. Triptik soy agar (TSA), beyin kalp infüzyon agar (BKİA), Luria Bertani agar (LB agar) ve kanlı jeloz gibi besiyerlerinde altın sarısı karotenoid pigment (stafiloksantin) üreten *S. aureus* suşları sarı pigmentli koloniler meydana getirmektedir [30-32]. Sarı pigmentli *S. aureus*, linoleik asit ve kurumaya karşı gelişmiş duyarlılık gösteren pigmentsiz türevler üretebilmektedir. Altın rengi karotenoid pigment üreten ve hastanede geniş bir dağılıma sahip olan MRSA suşları, pigmentsiz veya az miktarda pigment üretenlere göre daha uzun süre hayatta kalabilmektedir [32]. Kanlı jeloz besiyerinde 24 saatte düzgün yüzeyli, konveks, porselen görünümünde, sıklıkla sarı pigmentli *S. aureus* kolonileri oluşmakta ve kolonilerin çevresinde genellikle karakteristik hemoliz zonları meydana gelmektedir [30]. *S. aureus*, stafilokokların izolasyonu için seçici bir besiyeri olarak kullanılan ve yüksek tuz konsantrasyonu içeren mannitol salt agarda mannitolü fermente ederek sarı renkli koloniler oluşturabilmektedir [33, 34]. Yumurta sarısı-tellürit-glisin-pirüvat agar olarak da adlandırılan Baird-Parker agardaki tellürit ve lityum klorür çoğu bakterinin üremesini engellerken, piruvat ve glisin özellikle *S. aureus*'un üremesini desteklemektedir. Stafilokokların tellüriti tellüre indirgemesinden dolayı siyah renkli koloniler oluşmaktadır. Yumurta sarılı agar, lesitinaz üretimini ve lipaz aktivitesini saptamak için kullanılmaktadır. Lesitinaz üreten stafilokoklar yumurta sarısındaki lesitini parçalayıp kolonilerin etrafında şeffaf, berrak zonlar oluşturur. Lipaz aktivitesi olan izolatlarda, bir lipit çökelti bölgesi oluşmakta ve yansıyan ışıktaki görülebilen opak zon gözlenebilmektedir [31, 35-38].

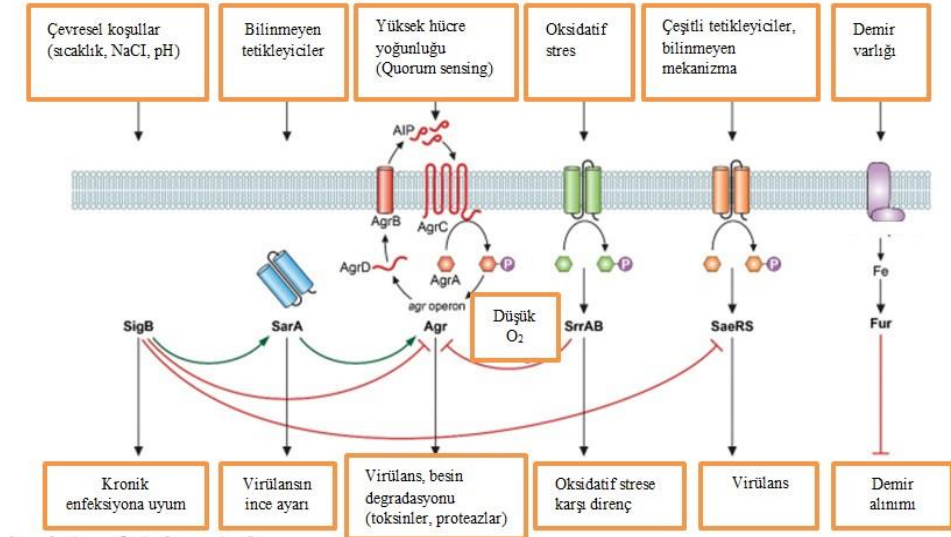
2.1.3. Virölans Faktörleri

“Virölans faktörü” terimi, kolonizasyon ve immün sisteminden kaçma mekanizmaları yoluyla bir enfeksiyonun oluşmasını ve sürdürülmesini teşvik eden faktörler olarak tanımlanmaktadır [39].

Stafilokoklarda virölans faktörlerinin ekspresyonu, *agr* (accessory gene regulator-aksesuar gen düzenleyici) operonunun karmaşık şekildeki kontrolü altında gerçekleşmektedir [33]. Kapsamlı olarak incelenen stafilokokal virölans düzenleyicisi, hücre yoğunluğu belirli bir eşiğe ulaştığında birçok toksini ve virölans belirleyicisini düzenleyen bir quorum-sensing (QS-çoğunluğu algılama) sistemi olan *agr*’ dir [39]. *agr* quorum-sensing sistemi, *S. aureus*’un önemli bir küresel düzenleyici sistemi olup patojenitesine katkıda bulunmaktadır. Quorum-sensing kontrol sistemi, adhezyon proteinlerinin ekspresyonuna izin vermekte ve bakteri yoğunluğu düşük olduğunda doku kolonizasyonunu, yoğunluk yüksek olduğunda doku istilasını ve hidrolitik enzim ve toksinlerin üretimini desteklemektedir [33, 40]. *agr* operonu, hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ve popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak protein ekspresyonunu düzenleyen otoindükleyici peptidleri (AIP 1-4) kodlamaktadır. AIP peptidlerine bağlanan ve *agr* sinyalini baskılayan, çok düşük ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (VLDL, LDL) ana yapısal proteini olan apolipoprotein B, bakteriyel virölansın doğal bağışıklık sistemini düzenlemesine aracılık etmektedir. Optimum koşullarda, bakteri yoğunluğu düşük konsantrasyonda tutulmakta, doku istilası ve tahribatına yol açmadan stafilokokların kolonize edilmesiyle bağışıklık sistemi uyarılmaktadır [33]. *S. aureus* *agr* sistemi, amino asit polimorfizmlerine göre *agrA*, *agrB*, *agrC*, *agrD* olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır. *agr* aktivasyonu, gruba özgü olduğu için *agr* aktivitesinde ve patojenitede farklılıklara neden olmaktadır. Farklı *agr* sistemine sahip suşlar farklı fenotiplere sahip olabilmektedir [40]. *S. aureus* virölans faktörleri, *agr* başta olmak üzere, *sarA* (*S. aureus* aksesuar düzenleyici) homologları, *sae* (*S. aureus* ekzoprotein ekspresyonu), *sigB* (alternatif sigma faktör B), *srrAB* (staphylococcal respiratory response AB - stafilokokal solunum yanıtı) gibi çeşitli düzenleyici lokuslar tarafından doğrudan veya dolaylı olarak yönetilmektedir [39, 41-43]. *Sar* ailesi, sarmal DNA bağlama dizilerine sahip birkaç kısa proteinden oluşmaktadır. *Sar* ailesi proteinleri, birden fazla virölans faktör hedefine sahiptir ve çok sayıda diğer düzenleyici sistemle etkileşime girmektedir. *SarA*, *agr*’nin P2 promotor bölgesine ve daha az ölçüde P3 promotor bölgesine spesifik olarak bağlanarak virölans faktörlerinin *agr* aracılı

düzenlenmesini destekleyen bir DNA bağlayıcı proteindir [39, 41]. *SarA*'nın DNA'ya bağlanmasına ek olarak, mRNA'ya da bağlanabilmesiyle dönüşümü etkileyebildiği gösterilmiştir [44, 45]. *SarA*, fibronektin ve fibrinojen bağlayan proteinlerin (FBP), ekzoproteinlerin, hemolizinlerin (alfa, beta ve gama hemolizinler), enterotoksinlerin, toksik şok sendromu toksini 1 (TŞST-1)'in, oksidatif streslerin ve biyofilm oluşumunda rol oynayan genlerin sentezini düzenlemektedir. Ayrıca *SarA*, proteazların, protein A'nın ve kollajen bağlayıcı proteinlerin ekspresyonunda etki göstermektedir [39, 41, 44]. Bakteriyel adezyon, immün modülasyon veya toksisite ile ilişkili çeşitli virülans faktörlerinin önemli bir düzenleyicisi olarak *Sae* görev almaktadır. *Sae* lokusu, çevresel faktörlerden (düşük pH, yüksek NaCl konsantrasyonu ve antibiyotiklerin alt inhibitör konsantrasyonları) etkilenmektedir [41]. *Sae* gen kümesi *SaeP*, *SaeQ*, *SaeR* ve *SaeS* olmak üzere dört genden oluşmaktadır. Dört genin tümünün transkripsiyonu, P1 promotörü üzerinden gerçekleşmektedir. *SaeR* ve *SaeS*'nin transkripsiyonu, *SaeQ*'nin kodlama bölgesinde yer alan P3 promotörü aracılığıyla güçlendirilmektedir [45]. *SaeRS* iki bileşenli düzenleyici sistemi, koagülaz, alfa toksin, beta toksin, gama toksin, stafilokokal immünoglobulin bağlayan protein, FBP, Pantan-Valentine lökositin (PVL), TŞST-1, eksfoliyatif toksin, nükleaz dahil olmak üzere birçok önemli ekzoprotein ekspresyonunu yürütmektedir [41, 45, 46]. *SigB*, çeşitli çevresel etmenlere (ısı, antibiyotik stres, oksidatif stres) karşı direnç gelişimini sağlayan genlerin transkripsiyonunun artmasını ve bakteriyel kümeleşme için kümeleşme (clumping) faktöründen sorumlu genlerin ekspresyonunun düzenlenmesini sağlamaktadır [41]. *S. aureus* izolatlarında virülans, biyofilm oluşumu, antibiyotik direnci gibi işlevlerden sorumlu genleri doğrudan ve dolaylı olarak *SigB* kontrol etmektedir. Bu düzenleyici işlevlerin birçoğu, *agr* ve *SarA* gibi virülans düzenleyicilerin düzenlemesiyle yürütülmektedir. Ayrıca *SigB*, iki virülans düzenleyici *agr* ve *SarA*'yı içeren dolaylı bir mekanizma yoluyla TŞST-1'i düzenlemektedir [45]. *SigB*, *agr* ve *SarA* gibi birçok düzenleyiciyle etkileşim halinde olup virülans gen ekspresyonu üzerinde derin bir etkiye sahiptir [39]. *SrrAB* iki bileşenli sistemi, *S. aureus* virülansının küresel bir düzenleyicisi olup enfeksiyon bölgelerinde bulunan hipoksik, oksidatif ve nitrozatif stres gibi çevresel koşullar altında hayatta kalmak için kritik önem taşımaktadır. Reaktif oksijen türevlerine (ROS) dirençte önemli bir role sahip olan ve oksijeni algılayan *SrrAB*, oksidatif strese karşı direnci artırmakta görev alan, oksijene duyarlı bir sistemdir. Diğer önemli küresel düzenleyiciler arasında olan ve düşük demir varlığına

yanıt veren *Fur*, demir alımını, virülans genlerini ve toksinler gibi virülans faktörlerini de düzenlemektedir [39, 43]. *S. aureus*'da virülansın düzenlenmesi Şekil 2.1'de gösterilmiştir [39].



Şekil 2-1: *S. aureus*'da virülansın düzenlenmesi.

Tablo 2-1: *S. aureus*'un virülans faktörleri.

Hücre Bileşenleri	Enzimler	Toksinler
Kapsül	Katalaz	Sitotoksinler (alfa toksin, beta toksin, delta toksin, gama toksin ve Panton-Valentine lökositidin-PVL)
Slime Tabaka	Koagülaz	Eksfoliyatif Toksinler
Peptidoglikan Tabaka	Nükleaz	Enterotoksinler
Teikoik Asit Lipoteikoik Asit	Lipaz	Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)
Yüzey Proteinleri	Proteaz	
	Hiyaluronidaz	
	Fibrinolizin (Stafilokinaz)	
	Penisilnaz (β - laktamaz)	

2.1.3.1. Hücre Bileşenleri

➤ Kapsül

Staphylococcus aureus izolatlarının çoğunda, bakteriyel hücre duvarını en dıştan saran polisakkarit yapıda kapsül bulunmaktadır. Kapsül, kemotaksisi, fagositozu, mononükleer hücrelerin çoğalmasını engellemekte ve bakteriyi fagositoza karşı dirençli hale getirerek mikrobiyal virülansı artırmaktadır [33, 47]. Serumdaki opsoninler (IgG, kompleman faktörü C3) kapsüllü stafilokoklara bağlanmakta ancak kapsül, polimorfonükleer lökositler (PNL'ler) tarafından organizmaların fagositozunu inhibe ederek bakterileri korumaktadır [33] [48]. C3b fragmanları ve *S. aureus* hücre duvarı bileşenlerine yönelik antikorlar, kapsülün altındaki bakteriyel hücre duvarı üzerinde biriktirilmektedir. Kapsül, hücre duvarına bağlı C3b veya immünoglobulin (Ig) ile fagositik hücre reseptörleri arasındaki etkileşimi engelleyerek bakterinin fagositozdan kaçmasına neden olmaktadır. Ancak yönlendirilmiş spesifik antikorların varlığında, stafilokoklara karşı artan C3'ün bakterilere bağlanması ve bakteri yüzeyinde biriktirilip fagositik hücre reseptörleri tarafından tanınmasıyla fagositoz meydana gelebilmektedir [33, 47, 48]. Kapsül biyosentezinden sorumlu olan enzimler, kapsül serotiplerinden sorumlu yüksek oranda korunmuş, değişken genlere sahip olan çok genli bir lokus (*cap*) içinde kodlanmıştır [49]. *S. aureus* 'un klinik izolatlarında, tanımlanan serotipler içinde serotip 5 (CP5) ve serotip 8 (CP8) kapsüller polisakkaritler açısından baskındır [39, 47, 50]. CP5 ve CP8, insanlardaki enfeksiyonların çoğunluğuyla ilişkilendirilmektedir. Serotip 1 ve serotip 2 ise çok kalın kapsüller ve mukoid görünen kolonilerle ilişkili serotiplerdir [33].

➤ Slime Tabaka

Stafilokokların çoğu, monosakkaritler, proteinler ve küçük peptidlerden oluşan gevşek bağlı, suda çözünür bir slime tabakasını değişen miktarlarda üretmektedir. Bu hücre dışı madde, bakterileri kateter, greft, protez kapakçık, eklem ve şant gibi dokulara ve yabancı cisimlere bağlar ve avirulan koagülaz negatif stafilokokların hayatta kalması için önemlidir. Slime tabakası, yabancı cisimlere yapışmayı kolaylaştırmaktadır [33].

Canlı ya da cansız yüzeylerde bakterinin kendi ürettiği protein ve ekzopolisakkaritten oluşan bu hücre dışı tabaka tarafından tutulan bakteri topluluğunun oluşturduğu yapı biyofilm olarak adlandırılmaktadır [33, 51, 52].

➤ Peptidoglikan Tabaka

Staphylococcus aureus'un da dahil olduğu Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısının anlaşılması, hücre duvarının birçok önemli antibiyotiğin hedefi olması açısından önem taşımaktadır [33, 53]. Hücre duvarının ana yapısal bileşeni olan ve ağırlıkça yarısını oluşturan peptidoglikan tabakası, birbirine β -(1,4) glikozit bağlarıyla bağlanan N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetilglukozamin (NAG) alt birimlerinden meydana gelen glikan zinciri katmanlarından oluşmaktadır. Oligopeptid yan zincirleri, NAM alt birimlerine bağlandıktan sonra peptid köprüleriyle çapraz bağlanmaktadır [33, 53, 54]. NAM'a bağlanan ve sırasıyla L-alanin, D-izoglutamik asit, L-lizin, D-alanin, D-alanin aminoasitlerinden meydana gelen pentapeptid yan zincirlerinin pentaglisin köprüleri aracılığı ile diğer zincirdeki NAM'a çapraz bağlanması ile kafes yapısı oluşmaktadır. *S. aureus*'taki köprü yapısı, zincirdeki L-lizin ile diğer zincirdeki D-alanin arasındaki çapraz bağlantı ile oluşturulmaktadır [53-55]. Gram negatif bakterilerin aksine Gram pozitif bakterilerdeki peptidoglikan tabaka, hücre duvarını daha katı yapan birçok çapraz bağlı katmandan meydana gelen daha kalın bir yapıya sahiptir [33, 56].

Hücrenin bütünlüğünü koruyan peptidoglikan tabakasının oluşumunu katalizleyen enzimler, PBP'ler olarak adlandırılmaktadır. PBP'ler, penisilinlerin ve diğer beta-laktam antibiyotiklerin hedefidir. Metisiline direnç, beta laktam antibiyotiklere karşı düşük afiniteye sahip yeni bir PBP olan PBP2a'yı kodlayan *mecA* geninin varlığıyla sağlanmaktadır. *mecA* geni, stafilokokal kaset kromozom *mec* (SCC*mec*) üzerinde yer almaktadır. Bu kasetin çoklu gen dizileri tanımlanmaktadır. Antibiyotiklere direnç gelişimi, MRSA kaynaklı enfeksiyonların kontrolünü daha da zorlaştırması açısından önem taşımaktadır [33, 53, 56]. Peptidoglikan, endojen pirojenlerin üretimini, kompleman aktivasyonunu, monositlerden interlökin (IL)-1 üretimini ve PNL'lerin toplanmasını (apse oluşumundan sorumlu bir süreç) uyaran endotoksin benzeri aktiviteye sahiptir. Ayrıca peptidoglikan, ozmotik stabilite sağlama ve fagositozu engelleme işlevlerini gerçekleştirmektedir [33].

➤ Teikoik Asit ve Lipoteikoik Asit

Teikoik asit (TA) glikopolimerleri, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının önemli bir bileşenini oluşturmaktadır. TA'ler, hücre duvarının peptidoglikan tabakasındaki NAM'a veya sitoplazmik membrandaki lipitlere (lipoteikoik asitler) kovalent olarak

bağlanan, türe özgü, fosfat içeren polimerlerdir. Plazma zarına sabitlenen lipoteikoik asit (LTA) ve peptidoglikana kovalent olarak bağlanan hücre duvarı teikoik asiti (WTA) olmak üzere her iki TA tipi de hücre büyümesinde, çevresel strese korunmada ve konağın kolonizasyonu ve enfeksiyonunda önemli rollere sahiptir [33, 57]. Teikoik asitler zayıf immünojenler olmasına rağmen, peptidoglikana bağlandıklarında spesifik bir antikor yanıtı uyarılmaktadır [33]. WTA, *S. aureus*'un burunda kolonizasyonuna ve bağışıklık etkileşimine katkıda bulunmaktadır. Farklı Ig reseptörleri, *S. aureus*'un WTA'daki glikan modifikasyonlarını tanımaktadır. Bu reseptörler arasında, bağışıklık hücreleri üzerinde eksprese edilen reseptörler (langerin ve makrofaj galaktoz tipi lektin-MGL), scavenger reseptörler (SREC-1) ve serumdaki çözünebilir reseptörler (spesifik antikorlar ve mannoz bağlayıcı lektin-MBL) yer almaktadır. *S. aureus*'a ait WTA'nın modifikasyonları, katyonik antimikrobiyal peptidlere ve antibiyotiklere direnç sağlayarak, faj adsorpsiyonuna aracılık ederek ve kolonizasyonu kolaylaştırarak molekülü işlevselleştirmektedir [57]. Gram-pozitif bakterilerdeki peptidoglikan ve LTA gibi bakteriyel bileşenler, sistemik enflamasyona neden olabilmekte ve bağışıklık sistemini aktive edebilmektedir [58]. *S. aureus* ile enfekte olmuş makrofajlar, NLRP6 proteini ve sitozolik LTA arasındaki etkileşim yoluyla NLRP6 inflamatuvar proteinini aktive etmektedir. Enflamasyon, daha sonra kaspaz-1'i aktive etmektedir. Kaspaz-1, sitokinler IL-1 β ve IL-18'i aktif formlarına dönüştürüp sistemik enfeksiyonun şiddetlenmesine neden olmaktadır. Kupffer hücreleri olarak bilinen karaciğer dokusundaki yerleşik makrofajlar, LTA'nın Ig süper ailesinin kompleman reseptörü (CRIg) tarafından tanınması ile dolaşımdaki *S. aureus*'u yakalayabilmektedir. Kupffer hücreleri, patojenlerin dolaşımdan temizlenmesindeki rolüyle enfeksiyonlar sırasında bakteriyel yayılımı önlemektedir. LTA, serumda mevcut olan çeşitli çözünür reseptörler (MBL ve L-fikolin) tarafından da tanınarak kompleman sisteminin aktivasyonuna ve *S. aureus*'un opsonizasyonuna neden olmaktadır [57].

➤ Yüzey Proteinleri

Staphylococcus aureus'un önemli virülans faktörleri olan yüzey proteinlerinin konak dokulara bağlı konak matriks proteinlerine yapışabilme özellikleri bulunmaktadır. Bu yüzey adhezyon proteinlerinin çoğu, stafilokoklarda hücre duvarı peptidoglikanına kovalent olarak bağlanmakta ve MSCRAMM (yapışkan matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri) proteinleri olarak adlandırılmaktadır [33, 59].

Protein A : Stafilokokal protein A (*spa*), IgG1, IgG2 ve IgG4'ün Fc reseptörüne bağlanmaktadır. Protein A, *S. aureus*'un çok işlevli bir hücre duvarına sabitlenmiş CWA proteini olup serumdan IgG yakalama yeteneği sayesinde doğal bağışıklık tepkilerinden kaçmayı desteklemektedir. Bakteriyel hücreler, ters bağlanan IgG ile kaplandığından antikorun Fc bölgesi, nötrofiller üzerindeki Fc reseptörü tarafından tanınmamaktadır. Kompleman fiksasyonunun klasik yolunu başlatmak için kompleman proteini C1q' nun, bağlı IgG'nin Fc bölgesine bağlanabilmesi gerekmektedir. Böylece, opsonofagositoz, IgG ve C3b opsoninlerinin nötrofiller üzerindeki Fc reseptörü ve kompleman reseptörü tarafından tanınmasının engellenmesiyle kapsamlı bir şekilde inhibe edilmektedir. *S. aureus*'un klinik suşları tarafından eksprese edilen protein A, kalıcı nazal taşıyıcılıkta ve enfeksiyon sırasında kazanılmış bağışıklık tepkilerinin bozulmasında önem taşımaktadır [33, 59].

Kümeleşme (clumping) faktörü: Koagülaz olarak da adlandırılan hücre duvarına sabitlenmiş protein olan kümeleşme faktörü, doğrudan fibrinojeni fibrine dönüştürerek stafilokokların kümeleşmesini sağlamaktadır. Kümeleşme faktörü A (*ClfA*), hareketsizleştirilmiş fibrinojene yapışma ve çözünabilir fibrinojeni bağlayarak bağışıklıktan kaçınma işlevlerini gerçekleştirmektedir. Kümeleşme faktörü B (*ClfB*), atopik dermatit (AD) hastalarının burun deliklerinden ve derisinden dökülen hücrelere yapışmakta ve *S. aureus* burun kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır [33, 59-61].

Fibronectin bağlayan protein: *S. aureus* izolatlarının çoğu, hücre duvarına bağlı fibronectin bağlayan protein (FnBP) olan FnBPA ve FnBPB'yi eksprese etmektedir. UAMS-1 ve Mu50 (VISA) adlı iki suş ise sadece FnBPA'yı barındırmaktadır [62]. FnBP'ler, bakterilerin hareketsizleştirilmiş fibronektine yapışmasını teşvik etmektedir. Bu durum, bakterilerin yabancı cisim enfeksiyonlarını başlatmak amacıyla implante edilmiş tıbbi cihazlara yapışabilmesini açıklamaktadır [63].

Kollajen bağlayıcı protein: Kollajen, dokular için yapısal destek sağlayan, hücre dışı matriksin birleştirilmesi için iskele görevi gören ve belirli hücresel reseptörler aracılığıyla hücre davranışını doğrudan etkileyebilen bir protein sınıfıdır. Bakterinin insanlarda bol bulunan bir protein olan kollajene yapışması, çok sayıda bakteriyel enfeksiyonun başlatılmasında ve devamında kritik bir adımdır [64]. Bakteriyel patojen *S. aureus*, konağın hücre dışı matriks proteinlerine bağlanan çeşitli hücre yüzeyi yapışma proteinlerini eksprese etmektedir. Bunlar arasında, kollajen (Cn) bağlayıcı

protein olan hücre duvarına sabitlenmiş kollajen adezin (Cna), bakterinin konağa yapışmasında ve bağışıklıktan kaçmada önemli roller oynamaktadır [64, 65].

2.1.3.2. Enzimler

➤ Katalaz

Fagositoz ile hücre içine alınan bakterinin ürettiği katalaz enzimi, ortamdaki toksik etki gösteren hidrojen peroksiti (H_2O_2) detoksifiye etmek için su ve oksijene dönüştürerek fagosite edilen bakterinin oksijen radikalleri ile öldürülmesini engellemektedir. Ayrıca *spin* proteini, güçlü ROS olan hipokloriti üreten miyeloperoksidazı (MPO) inhibe etmektedir. Sarı pigment (stafiloksantin) de genellikle *S. aureus*'u ROS'dan korumaktadır. Virülans faktörü olan katalaz enziminin tespiti, stafilokokların streptokoklardan ayrılmasını sağlamaktadır [30, 33, 39].

➤ Koagülaz

Stafilokoklar, koagülaz enzimi sentezleyebilme özelliğine göre *S. aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. *S. aureus* izolatlarında bulunan koagülaz, serbest ve bağlı koagülaz şeklinde bulunmaktadır. Serbest koagülaz, plazmada bulunan coagulase reacting factor (CRF) ile birleşip trombin işlevine sahip stafilotrombini oluşturur. Stafilotrombin, fibrinojeni fibrine dönüştürerek plazma yapısını pıhtılaştırır. Hücre duvarına bağlı halde bulunan koagülaz (clumping factor), doğrudan fibrinojeni fibrine dönüştürmektedir. Stafilokokların kümeleşmesi ve fibrin molekülerinin bakterinin etrafını çevrelemesiyle bakteri fagositik hücreye karşı dirençli hale gelmektedir [30, 33, 39, 66].

➤ Nükleaz

Staphylococcus aureus izolatları, DNA'yı hidroliz edebilen, ısıya dayanıklı nükleaz (termonükleaz) enzimi üretmektedir [33]. *S. aureus*'un patogenezi için önemli enzimlerden biri olan termonükleaz (*nuc*), *S. aureus* izolatlarında biyofilm matriks bileşeni olan ekstraselüler DNA (eDNA)'yı parçalayıp biyofilm oluşumunu engelleyerek bakterinin diğer bölgelere yayılmasında rol oynamaktadır. Hem metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) hem de MRSA suşlarında *nuc* üretiminin görülmesi nedeniyle, *S. aureus*'un doğrudan tespiti için bir belirteç olarak kullanılmıştır. *nuc* üretimi, *SaeRS* iki bileşenli sistemi tarafından düzenlenmektedir. *S. aureus*'da *nuc2* olarak adlandırılan, hücre yüzeyine bağlı hücre dışı nükleaz bulunmaktadır [67-69].

➤ Lipaz

Staphylococcus aureus ve KNS suşlarının bazıları lipitleri hidroliz eden, vücudun yağ içeren bölgelerinde stafilokokların hayatta kalmasını sağlayan birkaç farklı lipaz üretmektedir [33]. *S. aureus* lipazlarının insan plazmasında başta oktadesenoik asit olmak üzere yağ asitlerinin salınımından sorumlu olduğu keşfedilmiştir. Bu lipazların çoğunun aktivitesi Ca^{+2} varlığında artmakta ve EDTA buna uygun olarak bir katalizör görevi görmektedir [70]. *S. aureus* tarafından üretilen lipaz, konak granülosit fonksiyonuna müdahale etmekte ve bakterisidal lipitleri etkisiz hale getirerek konak savunması sırasında bakterilerin hayatta kalmasını sağlamaktadır [71].

➤ Proteaz

Proteazların üretimi, *S. aureus*'un *agr* quorum-sensing sistemi aracılığıyla düzenlenmektedir. Proteazlar, konağın bağışıklık sisteminin spesifik bileşenlerini parçalayabilme, hücre dışı matriks/hücreler arası bağlantıların bütünlüğünü bozabilme özelliklerine sahiptir. Konağın bağışıklık tepkilerini manipüle etmek için *S. aureus*, sistein proteaz, serin proteaz ve metalloproteinaz gibi çeşitli proteazlar salgılamaktadır [41, 69].

Sistein Proteazlar: Staphopain A (ScpA) ve staphopain B (SspB) olarak tanımlanan iki sistein proteazı bulunmaktadır. ScpA, dokularda bulunan elastin, kollajen, fibrinojen ve fibronektini parçalayan 20 kDa'lık bir proteindir. İnaktif olarak sentezlenip hücre dışında kendiliğinden aktive olan ScpA, doğal bağışıklıkta görev alan nötrofilleri önemli ölçüde etkilemektedir [41, 72]. SspB da 20 kDa'lık bir protein olup yapısal olarak ScpA'ya benzemekte, ancak nükleotit sekanslarında farklılık göstermektedir. SspB de inaktif olarak sentezlenmekte ancak aktive olabilmesi, bir serin proteaz olan V8 veya SspA'nın bir metalloproteinazı olan *aur* (aureolysin) aracılı proteolitik aktivasyonuna bağlıdır. SspB'nin monositlerin antibakteriyel tepkisini engellemesi, monositlerin makrofajlar tarafından fagosit edilmesine, bağışıklık sisteminin zayıflamasına ve bakterilerin kolonizasyonunun artmasına yol açmaktadır [41, 72].

Serin Proteazlar: *S. aureus* tarafından serin proteazlar (SspA veya V8 ve SplA-F) üretilmektedir. İnaktif olarak üretilen SspA, *aur* aracılı olarak hücre dışında otomatik olarak aktifleşmektedir. SspA, spesifik olarak Ig'lerin glutamat ve daha az ölçüde aspartatın karboksil tarafında bulunan peptid bağlarını hedef almaktadır. SspA, Ig'lerin

Fc bölgesini bozarak hücre yüzeyindeki antijenlerin Ig'lerin aracılık ettiği immün efektör hücrelerle etkileşimini engellemektedir. IgG menteşesinin SspA tarafından bölünmesi, hücrel ve humoral immün yanıtları engellemektedir [41, 69, 72].

Metalloproteinaz: *S. aureus* bir metalloproteinaz olan *aur*'u üretmektedir. M4 metallopeptidaz ailesine ait olup enzim aktivitesi için bir çinko iyonu ve yapısal stabilite için dört kalsiyum iyonu içermektedir. *aur*, inaktif olarak sentezlenip dış membrandan salgılanarak geçişi sırasında aurproteolitik aktivite sağlanmaktadır. *aur*, serin proteaz SspA ve sistein proteaz SspB'nin aktivasyonunu sağlamaktadır. SspA ve SspB aktivasyonu, *aur*'un SspA'yı işlediği ve SspA'nın daha sonra SspB'yi işlediği bir proteolitik kademeye dayanmaktadır. *aur*, konağın bağışıklık sisteminden bakteriyel kaçıışı desteklemekte, bakteriyel yayılım ve invazyona yol açan protrombinin ve fibrinolitik sistemin aktivasyonunda rol oynamaktadır [41, 69, 72].

➤ **Hiyalüronidaz**

Hiyalüronidaz enzimi, bağ dokusunun aselüler matriksinde bulunan hiyalüronik asitleri hidroliz etmektedir [33]. Hiyalüronidaz, NAG ve D-glukuronik asitin tekrarlanan disakkarit birimlerinden oluşan büyük moleküler ağırlıklı bir polimer olan hiyalüronik asitin β -1,4 glikozid bağını parçalayan enzimdir. *S. aureus* izolatlarında bulunan hiyalüronidaz, hiyalüronik asiti parçalaması ile bakteriyel yayılımı kolaylaştırmakta ve virülansı artırmaktadır [73].

➤ **Fibrinolizin (Stafilokinaz)**

Stafilokinaz olarak da adlandırılan fibrinolizin, fibrin pıhtılarını çözerek bakteriyel enfeksiyonun dokularda yayılımını kolaylaştırmaktadır [33, 74].

Stafilokinazın virülans faktörü olarak görev alması, stafilokinazın plazminojen ve alfa-defensinler ile etkileşimine dayanmaktadır. Alfa-defensinler, insan nötrofillerinden kaynaklanan bakterisidal peptidlerdir. Stafilokinazın alfa-defensinlere bağlanması, bakterisidal özelliklerini ortadan kaldırmaktadır. Bu durum, konağın doğal bağışıklığına karşı stafilokokların direnç geliştirmesi için stafilokinazı hayati bir araç haline getirmektedir. Stafilokinaz ve plazminojen arasındaki kompleks bağlanma, geniş spektrumlu bir proteolitik enzim olan aktif plazmin oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Plazmin, fibrini parçalayan proteolitik bir madde olduğundan bakterilerin çevre dokulara nüfuz etmesini sağlamaktadır. Laboratuvar uygulamalarında stafilokinaz

üretimi, plazminojeni aktive etme ve fibrinolizisi tetikleme yeteneği ile tespit edilmektedir [33, 74].

➤ **Penisilinaz (β -laktamaz)**

Penisilinin keşfi ve yaygın olarak kullanımından bir süre sonra *S. aureus* suşları penisilinaz enzimi üreterek penisiline direnç geliştirmişlerdir. Beta-laktam antibiyotikler, bakteriyel hücre duvarı sentezinden sorumlu PBP'leri inhibe eden dört halkalı bir beta-laktam halkası içermektedir. Hücre duvarı oluşumunun engellenmesi, hücresel bütünlüğün kaybolmasına ve bakteriyel hücre ölümüne neden olmaktadır. β -laktam antibiyotiklere karşı en yaygın direnç mekanizması, merkezi β -laktam halkasının β -laktamaz adı verilen enzimler tarafından hidrolizidir. Bu mekanizma, antibiyotikleri inaktif etmektedir. Beta-laktamaz enzimini kodlayan genin aktarımı çoğunlukla plazmid ve transpozonlar ile sağlanır [3, 4, 75].

2.1.3.3. Toksinler

➤ **Sitotoksinler**

Sitotoksinler, eritrosit, trombosit, lökosit, makrofaj, fibroblast ve birçok hücre için toksiktir. Sitotoksinlerin nötrofilleri parçalayabilmeleri, çevredeki dokulara zarar veren lizozomal enzimlerin salınmasına neden olabilmektedir. Sitolitik veya membrana zarar veren bu toksinler, alfa, beta, delta, gama ve Panton-Valentine lökositin (PVL) dir [33, 76].

Alfa Toksin: İnsan hastalıklarına neden olan çoğu *S. aureus* suşu tarafından üretilen, hem bakteriyel kromozom hem de bir plazmid tarafından kodlanabilen 33 kDa ağırlığında bir polipeptittir. Bu toksin, kan damarlarındaki düz kasların bozulmasına neden olmaktadır. Eritrositler, trombositler, lökositler, hepatositler ve birçok hücre üzerinde toksik etki göstermektedir. Toksinin hücre yüzeyine bağlanıp 1-2 nm'lik bir gözenek oluşturmakta, iyonların (K^+ , Na^+ , Ca^{+2}) ve diğer küçük moleküllerin akışına izin vererek ozmotik reaksiyona neden olmaktadır. Ozmotik reaksiyon sonucunda hücre şişmekte ve lizise uğramaktadır. Stafilokok kaynaklı enfeksiyonlarda meydana gelen doku hasarında alfa toksinin rol aldığı düşünülmektedir. Alfa toksin, birçok memeli hücre tipine karşı sitolitik ve sitotoksik aktiviteye sahiptir. Hedef hücre türüne ve toksinin dozuna bağlı olarak alfa toksin tarafından bir dizi olay tetiklenebilmektedir. Toksinin yüksek konsantrasyonları esas olarak hedef hücrelerde nekroza neden olurken,

sublitik konsantrasyonlar ağırlıklı olarak apoptozu ve hedef hücrelerde inflamatuvar yanıtı indüklemektedir [33, 77].

Beta Toksin: Sfingomiyelinaz C olarak da adlandırılan bu toksin, insanlarda ve hayvanlarda hastalıklardan sorumlu çoğu *S. aureus* suşu tarafından üretilen, 35 kDa ağırlığında, ısıya dayanıklı bir proteindir. Beta toksin, *S. aureus*'un kolonizasyonuna ve hastalığın gelişmesine katkıda bulunan önemli bir virülans faktörüdür. Beta toksin, infektif endokardit gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca bu sitotoksin, sfingomiyelinaz aktivitesi ve DNA biyofilm ligaz aktivitesi olmak üzere farklı etki mekanizmaları gösterebilmektedir. Sfingomiyelin ve lizofosfatidilkolin için özgülüğe sahiptir. Eritrositler, lökositler, fibroblastlar ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler için toksik etki göstermektedir. Duyarlı hücrelerde membran fosfolipidlerinin hidrolizini, hücre yüzeyindeki sfingomiyelin konsantrasyonuyla orantılı olarak katalize etmektedir [33, 78].

Delta Toksin: Hemen hemen tüm *S. aureus* suşları ve diğer stafilokoklar (örn., *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*) tarafından üretilen 3 kDa ağırlığında bir polipeptittir. Delta toksin, birçok hücre tipini parçalama yeteneğine sahip multimerik yapılar oluşturan düşük moleküler ağırlıklı bir ekzotoksindir. Eritrositleri, diğer birçok memeli hücrelerini ve hücre içi membran yapılarını etkileyen, geniş spektrumlu, sitolitik etkiye sahip bir toksindir [33, 79].

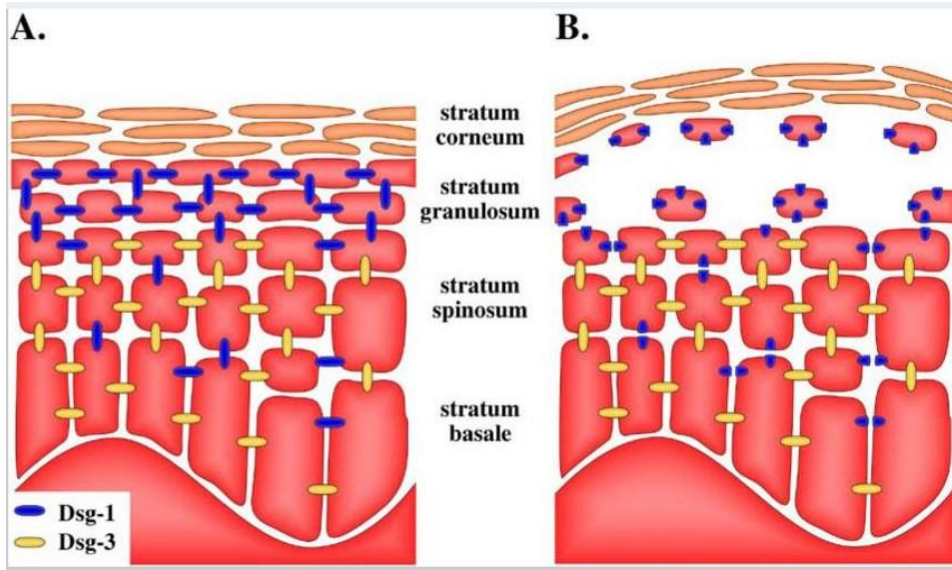
Gama Toksin ve Panton-Valentine Lökositidin (PVL): S (yavaş ayrışan proteinler) ve F (hızlı ayrışan proteinler) olmak üzere iki polipeptid zincirinden oluşan iki bileşenli toksinlerdir. Gama toksin proteinleri, *HlgA* (hemolizin gama A), *HlgB* (hemolizin gama B), *HlgC* (hemolizin gama C) proteinleridir [33, 80]. PVL proteinleri, PVL S (*LukS-PV*) ve PVL F (*LukF-PV*) proteinleridir. *HlgA*, *HlgC*, *LukS-PV* proteinleri, çözücü içinde yavaş şekilde ayrıştıkları için S proteinleri olarak adlandırılmaktadır. *HlgB* ve *LukF-PV* proteinleri, çözücü içinde hızlı şekilde ayrıştıkları için F proteinleri olarak adlandırılmaktadır. Üç adet S proteininin her biri, iki adet F proteininin biriyle birleşip biyolojik etki gösteren altı farklı ikili kompleks oluşturabilmektedir. Bu toksinler, nötrofilleri ve makrofajları parçalayabilmektedir. En büyük hemolitik aktiviteyi *HlgA/HlgB*, *HlgC/HlgB* ve *HlgA/LukF-PV* göstermektedir. PVL toksini (*LukS-PV/LukF-PV*) lökotoksiktir, ancak hemolitik aktiviteye sahip değildir. Gama ve PVL toksinleri, hücre membranında gözenekler açarak hücre lizisine neden olmaktadır. Bu

süreçte, katyonlara karşı artan geçirgenlik ve ozmotik dengesizlik meydana gelmektedir. PVL, lökositleri lizise uğratarak yok etmekte ve mitokondriyal membranda gözenekler oluşturarak bağışıklık sistemini değiştirmektedir. Bu durum, mitokondriyal membranın parçalanmasına ve hücre ölümüne neden olmaktadır [33, 80-82].

MRSA kaynaklı enfeksiyonlar olan ciddi nekrotizan pnömoni, fronkül, deri ve yumuşak dokulardaki nekrotik lezyonların klinik semptomlarının çoğundan PVL toksininin sorumlu olduğu belirtilmektedir [33, 80-82].

➤ Eksfoliyatif Toksinler

Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SHDS), genellikle yenidoğan ve çocuklarda görülen, eksfoliyatif dermatit ile karakterize edilen, eksfoliyatif toksinlerin neden olduğu bir hastalıktır. Eksfoliyatif toksin A (ETA) ve eksfoliyatif toksin B (ETB) olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır. ETA, ısıya dayanıklıdır ve kromozom kökenlidir. ETB ise ısıya duyarlıdır ve plazmid üzerinde bulunmaktadır. ETA ve ETB'nin her ikisi de hastalığa neden olabilmektedir. Epidermolitik toksinler olarak da bilinen bu toksinler, epidermolizden sorumludur. Bu toksinler, serin proteaz aktivitesiyle hücreler arası bağlantıyı sağlayan yapılar olan desmozomların üyesi olan desmoglein 1'in (Dsg-1) hidrolizini gerçekleştirmektedir. Epidermisteki *stratum granulosum* katmanı dışındaki tüm katmanlarda, Dsg-1'in hidrolizi desmoglein 3 (Dsg-3) tarafından sağlanmaktadır. Dsg-1'in hidrolizi ve *stratum granulosum* katmanında Dsg-3'ün bulunmaması, epidermisin *stratum granulosum* tabakasındaki hücreler arası bağlarının kopmasına ve bu tabakanın derinin alt katmanlarından ayrılarak epidermal katmanların bölünmesine neden olmaktadır. Bu toksinler, sitoliz ve enflamasyon gibi tepkilere neden olmamaktadır. Bu nedenle epidermisin ilgili katmanında stafilokoklar ve lökositler bulunmamaktadır. Epidermisin toksine maruz kalmasına tepki olarak nötralizan ve koruyucu antikorlar üretilmektedir [30, 33, 83]. Epidermiste desmoglein izoformlarının farklı dağılımı Şekil 2.2'de gösterilmiştir [83].



Şekil 2-2: Epidermiste desmoglein izoformlarının farklı dağılımı.

Sağlıklı ciltte (A) ve eksfoliyatif toksine maruz kalan ciltte (B) desmoglein dağılımının şematik gösterimi.

➤ Enterotoksinler

Çok sayıda serolojik olarak farklı tipte stafilokokal enterotoksin (A'dan E'ye, G'den X'e ve çoklu varyantlar) tanımlanmıştır. Bu proteinlerin molekül ağırlığı 35 kDa'dır. Enterotoksin A, *S. aureus* tarafından üretilen, kromozomal bir genle kodlanan bir peptid olan ve gıda zehirlenmesine en sık neden olan enterotoksindir. Enterotoksin B, stafilokokal psödomembranöz enterokolite neden olmaktadır. Kontamine süt ürünlerinde enterotoksin C ve D bulunmaktadır. Enterotoksinler, 100°C'de 30 dakika ısıtılmakla inaktive olmayan, ısıya dayanıklı, mide ve jejunal enzimler tarafından hidrolize dirençli toksinlerdir. Gıda ürününün enterotoksin üreten stafilokoklarla kontamine olması ve toksinlerin oluşması durumunda, gıdanın hafifçe ısıtılması ve mide asitlerine maruz kalmasının koruyucu etkisi bulunmamaktadır. Bu toksinler, tüm *S. aureus* suşlarının %30-50'si tarafından üretilmektedir. *S. aureus* enterotoksinleri, çok sayıda T hücrelerini uyararak sitokinlerin salınmasını indükleyebildikleri için süperantijendir. Mide ve jejunumda karakteristik histolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Mast hücrelerinde inflamatuvar mediatörlerin salınımının uyarılması, bağırsak peristaltizmini ve sıvı kaybını arttırmaktadır. Böylece bağırsaklarda genel bir inflamatuvar yanıt aktive edilerek, bağırsaktan yoğun sıvı kaybına yol açan, stafilokokal gıda zehirlenmesinin karakteristik özellikleri olan mide bulantısı, kusma ve diyare ile kendini gösteren gastroenterit oluşmaktadır [30, 33, 84].

➤ Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TŞST-1)

Toksik şok sendromu toksini-1 (TŞST-1), 22 kDa ağırlığında, ısıya ve proteolize dirençli, kromozomal aracılı bir ekzotoksindir. Menstruasyonla ilişkili toksik şok sendromundan (TŞS) sorumlu *S. aureus* suşlarının % 90'ının ve diğer TŞS formlarından sorumlu suşların yarısının TŞST-1 ürettiği tahmin edilmektedir. Enterotoksin B ve nadir olarak enterotoksin C, menstruasyonla ilişkili olmayan TŞS vakalarının yaklaşık yarısından sorumludur. TŞST-1'in *in vitro* ekspresyonu, yüksek oksijen konsantrasyonu ve nötr pH gerektirmektedir. TŞS, ateş, hipotansiyon, güneş yanığı benzeri döküntü ve son organ hasarı ile karakterize, akut başlangıçlı bir hastalıktır. Adet görme sürecinde yüksek emici tampon kullanan kadınlarda TŞS meydana gelebilmektedir. TŞST-1, çok sayıda T hücrelerini uyararak sitokinlerin salınmasını sağladığı için süperantijendir. Ayrıca TŞST-1, düşük konsantrasyonlarda endotel hücrelerinden sızıntıya ve yüksek konsantrasyonlarda hücrelere sitotoksik etkiye neden olmaktadır. Enfeksiyon vajinada veya yara bölgesinde lokalize kalsa bile TŞST-1'in mukozal bariyerlere nüfuz etme yeteneği, TŞS'nin sistemik etkilerinden sorumludur. TŞS olan hastalarda ölüm, çoklu organ yetmezliğine yol açan hipovolemik şoktan kaynaklanmaktadır [30, 33, 85].

Eksfoliyatif toksin A, enterotoksinler ve TŞST-1, süperantijenler olarak bilinen bir polipeptid sınıfına aittir. Bu toksinler makrofajlar üzerindeki sınıf II majör doku uyumluluk kompleksi (MHC-II) moleküllerine bağlanır ve bunlar da spesifik T hücresi reseptörlerinin (V β -TCR) β alt ünitesinin değişken bölgeleriyle etkileşime girer. Bu, hem makrofajlar tarafından IL-1 β ve tümör nekroz faktörü [TNF]- α , hem de T hücreleri tarafından IL-2, interferon [IFN]- γ ve TNF- β sitokinlerinin çok miktarda salınımıyla sonuçlanmaktadır. TNF- α ve TNF- β salınımı hipotansiyon ve şokla, ateş ise IL-1 β salınımıyla ilişkilidir [30, 33, 85].

2.1.4. *S. aureus*'un Neden Olduğu Enfeksiyonlar

2.1.4.1. Cilt Ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

➤ İmpetigo

Çoğunlukla küçük çocuklarda meydana gelen, yüz ve uzuvlarda görülen yüzeysel bir enfeksiyondur. Enfeksiyon sürecinin başında, küçük bir makül (düzleşmiş kırmızı nokta) görülmektedir. Ardından cerahat dolu eritemli bir taban üzerinde vezikül

veya püstül gelişmektedir. Püstül yırtılması sonucunda, kabuk yapısı oluşmaktadır. Derinin yüzeysel tabakalarında kabuklu püstüllerin meydana gelmesi enfeksiyonun karakteristik özelliğini yansıtmaktadır. Enfeksiyonun komşu cilt bölgelerine sekonder yayılımıyla, farklı gelişim aşamalarındaki çoklu veziküller yaygınlaşmaktadır. İmpetigo genellikle *S. aureus*'tan kaynaklanmaktadır, ancak A grubu streptokoklar da tek başına veya *S. aureus* ile birlikte vakaların % 20'sinden sorumludur [33, 86]. İmpetigonun bülöz olmayan impetigo ve bülöz impetigo olmak üzere iki yaygın çeşidi vardır. İmpetigo vakalarının % 70'ini bülöz olmayan impetigo, % 30'unu bülöz impetigo oluşturmaktadır. Bülöz olmayan impetigoya *S. aureus* ve *S. pyogenes* neden olurken, bülöz impetigoya sadece *S. aureus* neden olmaktadır [87, 88]. Bülöz impetigoya neden olan MSSA veya MRSA'nın eksfoliyatif toksin üreten suşları tarafından lokal olarak üretilen eksfoliyatif toksinler A, B ve D, desmoglein-1'i parçalayıp epidermin granüler tabakasında keratinosit yapışmasının kaybına neden olmaktadır. Bülöz impetigoda, lezyonel bakterilerin varlığı nedeniyle toksinler deri enfeksiyonu bölgelerinde lokalize olmaktadır [88].

➤ **Apse**

Kutanöz apse, dermiste ve daha derin cilt dokularında pürülan madde birikimi ile karakterizedir. Genellikle eritematöz bir papül meydana gelebilmekte ve ağrılı nodüllere dönüşebilmektedir. *S.aureus*, kutanöz apsenin oluşmasında önemli bir bakteriyel etkindir. Son yıllarda kutanöz apselerin insidansında bir artış olmuş ve MRSA, ABD'deki acil servislerde bu apselerin en yaygın nedeni olarak belirtilmiştir. Kutanöz apse, monomikrobiyal veya polimikrobiyal nitelikte olabilmekte, normal bölgesel cilt florasını oluşturan bakterileri ve sıklıkla bitişik mukozalardan gelen mikroorganizmaları içerebilmektedir [89, 90].

➤ **Folikülit**

Kıl foliküllerinde meydana gelen piyojenik bir enfeksiyondur. Kıl folikülü enflamasyonu olan folikülit, kıllı deride püstül veya eritematöz papülün meydana geldiği, yaygın olarak görülen ve genellikle iyi huylu bir cilt rahatsızlığıdır. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar için zorluklar ortaya çıkarabilmektedir. Bu enfeksiyonda folikülün tabanı yükselip kızarmakta ve epidermal yüzeyin altında küçük bir cerahat oluşmaktadır. Bu durum göz kapağının tabanında meydana gelirse “arpacık” olarak adlandırılmaktadır. Folikülit en yaygın olarak, yüzeysel veya derin kıl

folikülünün bakteriyel enfeksiyonundan kaynaklanmaktadır. Yüzeysel bakteriyel folikülite genellikle *S. aureus* neden olmaktadır. Az sayıda püstül içeren basit stafilokokal folikülit vakalarının çoğu birkaç gün içinde kendiliğinden iyileşebilmekte, ama yaygınlaşan hastalık için topikal antibiyotikler kullanılabilir [33, 91].

➤ **Fronkül**

Fronkül (çıban), kıl folikülü ve çevresindeki doku enfekte olduğunda gelişen büyük, ağrılı, cerahat dolu kutanöz nodüllerdir. Isı artışının olduğu fronkül, kırmızı renkte ve sarımsı cerahat dolu haliyle görünebilmektedir. Fronkül, çoğunlukla yüz ve boyunda meydana gelebilmekteyken bazen koltuk altlarında, kalçada, sırtta da gelişebilmektedir. Fronküle çoğunlukla *S. aureus* neden olmaktadır. Bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde fronkül veya diğer cilt enfeksiyonlarına yol açma olasılıkları daha yüksektir. Fronküller ilerleyerek apse, selülit veya lenfadenite neden olabilmektedir. [33, 92].

➤ **Karbonkül**

Birleşen fronküllerin oluşturduğu enfeksiyonun, daha derinde bulunan cilt altı dokuya yayılmasıyla meydana gelen enfeksiyondur. Çoğunlukla MRSA olmak üzere enfeksiyonun en yaygın nedeni *S. aureus*'tur. Genel olarak yüzeyinde çok sayıda drenajlı sinüs yolu veya püstül bulunan, kırmızı, eritematöz, hassas, iltihaplı, ağrılı bir nodül olarak ortaya çıkmaktadır. Genellikle sistemik semptomlar mevcuttur ve bölgesel lenfadenopati (LAP) ortaya çıkabilmektedir. Folikülit ve fronküle sahip hastalardan farklı olarak, karbonküle sahip hastalarda üşüme ve ateş görülebilmektedir. Bu durumda stafilokoklar diğer dokulara sistemik olarak (bakteriyemi) yayılabilmektedir. Karbonkül, ense, sırt, uyluk bölgeleri başta olmak üzere yüz, kalça, koltuk altı, kasık bölgelerinde de görülebilmektedir. Çoğunlukla genç ve orta yaşlı yetişkinlerde görülmektedir. Antibiyotik tedavisine başlamadan önce karbonkül içindeki cerahatli sıvıdan bakteri kültürü alınmaktadır. İnsizyon ve drenajın ardından genellikle antibiyotik tedavisine başlanabilmektedir [33, 93].

➤ **Hidradenitis Suppurativa (HS)**

Acne inversa olarak da adlandırılan *hidradenitis suppurativa* (HS), vücudun apokrin bezi taşıyan bölgelerindeki kıl foliküllerinin enflamasyonu ile oluşan, ağrılı nodüller, apseler, kronik olarak drene olan fistüller ve yara iziyle karakterize, kronik

inflamatuvar bir cilt hastalığıdır [94, 95]. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlekin (IL)-1 β ve IL-17 gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinler, hastalığın patogeneğinde çok önemli bir rol oynamaktadır [95, 96].

2.1.4.2. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar

➤ Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu (SHDS)

Ritter hastalığı olarak da bilinen Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SHDS), eksfoliyatif toksinler salgılayan belirli *S. aureus* suşlarının neden olduğu potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir enfeksiyondur [88]. Ağız çevresinde aniden oluşan kızarıklık, enflamasyon ve klinik olarak derinin soyulması ile karakterizedir ve yüzeysel kabarcıklar şeklinde ortaya çıkmakta, iki gün içinde tüm vücuda yayılabilmektedir. Kutanöz kabarcıkların oluşumunu, epiteliumun soyulması takip etmektedir [33, 88]. Enfeksiyonun bakteriyel toksinin sistemik yayılımından kaynaklanması ve toksinlerin sitoliz ve enflamasyon gibi tepkilere neden olmasından dolayı kabarcıklar mikroorganizma ve lökosit içermemektedir. Epidermolizden sorumlu olan epidermolitik toksinler olarak da bilinen eksfoliyatif toksinler, serin proteaz aktivitesiyle hücreler arası bağlantıyı sağlayan yapılar olan desmozomların üyesi olan desmoglein 1'in (Dsg-1) hidrolizini gerçekleştirmektedir. Toksine karşı antikor üretildiğinde epitel tabaka 7-10 gün içinde sağlam hale gelebilmekte ve epidermisin sadece üst tabakası döküldüğünden yara izi oluşmamaktadır. Soyulmuş cilt bölgelerinde sekonder bakteriyel enfeksiyon meydana gelmekte ve tedavi edilemezse ölümle sonuçlanabilmektedir. SHDS, özellikle yenidoğan ve küçük çocukları etkilemekte ve ölüm oranı %5'ten azdır. Yetişkinlerdeki enfeksiyonlar genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış veya böbrek hastalığı olan hastalarda görülmekte ve mortalite oranı %60'a kadar yükselebilmektedir [33, 83, 88].

➤ Büllöz impetigo

Eksfoliyatif toksin üreten *S. aureus* suşlarının neden olduğu enfeksiyondur. İmpetigo vakalarının %30'unu oluşturmaktadır. Eksfoliyatif ekzotoksin aracılı Dsg-1 parçalanması, intraepidermal deskuamasyona neden olmaktadır. Bu toksinler, lokal olarak salındıklarından sıklıkla lokalize cilt bulgularıyla ortaya çıkmaktadır [87, 88].

➤ Toksik Şok Sendromu (TSS)

Staphylococcus aureus veya *Streptococcus pyogenes*'in toksin üreten suşlarının neden olduğu TSS, yüksek ateş, hipotansiyon, döküntü, çoklu organ fonksiyon

bozukluğu ve iyileşme sırasında meydana gelen deskuamasyon ile karakterize, ciddi ve akut bir hastalıktır [97]. Hastalık, vajinada veya bir yarada toksin üreten *S. aureus* suşlarının lokal olarak çoğalması ve ardından toksinin kana salınması ile başlamaktadır. Adet gören kadınlarda yüksek emici tampon kullanımıyla TŞS meydana gelebilmektedir. TŞS, çoklu organ sistemlerini (merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, kas sistemi, böbrek) de etkilemekte ve avuç içi ve ayak tabanı da dahil olmak üzere tüm cilt pul pul dökülmektedir [33].

➤ **Stafilokokal Gıda Zehirlenmesi**

Staphylococcus aureus tarafından üretilen toksinlerle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesinden kaynaklanan gastrointestinal bir hastalıktır. Serolojik olarak farklı enterotoksinler nedeniyle gıda zehirlenmesi meydana gelebilmektedir. Bu hastalığa neden olan suşların çoğunluğu hem enterotoksin A hem de iki bileşenli lökotoksin Luke/LukD'yi üretmektedir. Şiddetli kusma, diyare, karın ağrısı, mide bulantısı, stafilokokal gıda zehirlenmesinin karakteristik özellikleridir [33, 84].

2.1.4.3. Bakteriyemi

Kan dolaşımında bakterilerin bulunması olarak tanımlanan bakteriyemi, bakteriler konak bağışıklık mekanizmalarından kaçmayı başardığında ya da enfeksiyona duyarlılıkla ilişkili doğal veya kazanılmış bağışıklık kusurları nedeniyle bakteriyel yayılma kontrol edilemediğinde gelişebilmektedir [98]. *S. aureus* bakteriyemisi, önemli morbidite ve mortaliteyle ilişkili ciddi kan dolaşımı enfeksiyonudur. Komplikasyonlar arasında infektif endokardit, cihazla ilişkili enfeksiyon, osteoartiküler metastazlar, plöropulmoner tutulum ve tekrarlayan enfeksiyonlar yer almaktadır [99]. Enfeksiyon, zararsız görünen bir cilt enfeksiyonundan kana yayılım ile gerçekleşebilmektedir. *S. aureus* bakteriyemisi vakalarının %50'den fazlası hastanede cerrahi bir işlem sonrasında edinilmekte veya kontamine intravasküler kateterin sürekli kullanımından kaynaklanmaktadır. *S. aureus* bakteriyemileri, özellikle uzun süreli ataklar, kalp de dahil olmak üzere vücudun diğer bölgelerine yayılımla ilişkilidir [33].

2.1.4.4. Endokardit

Endokardit, kalbin endotelial zarının hasar görmesi ile karakterizedir [33]. *S. aureus*, streptokoklar ve enterokoklar kalbin endotelinin enfeksiyonu olan infektif endokardite yol açabilmektedir [100]. *S. aureus*'un neden olduğu akut endokardit,

mortalite oranı %50'ye yaklaşan ciddi bir hastalıktır. *S. aureus* endokarditi olan hastalarda başlangıçta spesifik olmayan grip benzeri semptomlar görülse de, durumları hızla kötüleşerek kalp debisinin bozulması ve septik embolizasyonu da görülebilmektedir [33]. Kalp kapağı hasarı ve enflamasyonu, farklı mekanizmalar yoluyla *S. aureus* endokarditine zemin hazırlamaktadır [101].

2.1.4.5. Pnömoni ve Ampiyem

Pnömoni, alveolleri ve akciğerlerin distal bronşiollelerini etkileyen yaygın bir akut solunum yolu enfeksiyonudur [102]. *S. aureus* kaynaklı pnömoni, oral sekresyonların aspirasyonundan sonra veya organizmanın uzak bir yerden hematogen yayılımı sonucu gelişebilmektedir. Aspirasyon pnömonisi öncelikle küçük çocuklarda, yaşlılarda, kistik fibroz, influenza, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve bronşektazi hastalarında görülebilmektedir. Bakteriyemi veya endokarditli hastalarda hematogen pnömoni yaygındır. Toplum kökenli MRSA, masif hemoptizi, septik şok ve yüksek mortalite oranıyla birlikte ciddi bir nekrotizan pnömoni formundan sorumludur. *S. aureus*'un ciddi komplikasyonlarla ilişkili en önemli virülans faktörlerinden biri olan PVL, nekrotizan pnömonide akciğer hasarına, nekroza, lökopeniye de neden olabilmektedir. Pnömonili hastaların % 10'unda ampiyem ortaya çıkmaktadır ve vakaların üçte birinden *S. aureus* sorumludur [33, 80, 102, 103]. Ampiyem, plevral boşlukta enflamasyonun meydana gelmesidir. Nekrotizan pnömoni yeterince tedavi edilmezse bronkoplevral fistül, ampiyem, solunum yetmezliği ve septik şok gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir ve en sık bakteriyel etkenler *S. aureus* ve *S. pneumoniae*'dir [104, 105].

2.1.4.6. Osteomyelit

Osteomyelit, çoğunlukla bakteriyel patojenlerin iskelete invazyonundan kaynaklanan kemik iltihabıdır [106, 107]. *Staphylococcus aureus* osteomyeliti, kemiğe hematogen yayılımdan, travmadan kaynaklanan sekonder bir enfeksiyondan veya hastalığın komşu bir alandan yayılmasından kaynaklanabilmektedir. Çocuklarda hematogen yayılım genellikle kutanöz stafilokok enfeksiyonundan kaynaklanmakta ve genellikle kemik büyümesinin oldukça vaskülarize bir alanı olan uzun kemiklerin metafiz bölgesini etkilemektedir. Epifiz plaklarına yakın metafizdeki damar halkalarındaki kan akışının yavaşlaması patojenlerin birikmesine ve enfeksiyon oluşmasına yol açmaktadır. Bu enfeksiyon, ilgili kemik üzerinde ani başlayan lokalize

ağrı ve yüksek ateş ile karakterizedir. Yetişkinlerde görülen hematojen osteomyelit sıklıkla vertebral osteomyelit şeklinde ve nadiren uzun kemiklerin enfeksiyonu şeklinde ortaya çıkmaktadır. Ateşle birlikte şiddetli sırt ağrısı bu enfeksiyonun ilk belirtileri olarak meydana gelebilmektedir [33, 108].

2.1.4.7. Septik Artrit

Staphylococcus aureus, küçük çocuklarda ve eklem içi enjeksiyon uygulanan veya mekanik olarak anormal eklemleri olan yetişkinlerde görülen eklem enfeksiyonu olan septik artrit başlıca nedenidir. Enfeksiyon, hematojen yayılımdan, osteomyelitin yakınındaki yayılımdan kaynaklanabilmektedir. Stafilokokal artrit, aspirasyon sırasında pürülan materyalin elde edildiği, eklem boşluğunda pürülan materyalin toplanmasıyla birlikte ağrılı eritematöz eklem ile karakterizedir [33, 109].

2.1.5. *S. aureus* Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler

2.1.5.1. Beta Laktam Antibiyotikler

İnvaziv stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan beta laktamlar, kimyasal yapılarında beta laktam halkası bulunduran bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. Bakteriyel direncin ortaya çıkması, antibakteriyel etkinliklere engel teşkil etmektedir. Direnç mekanizmaları arasında β -laktamaz enzimlerinin ekspresyonu en çok çalışılan ve yaygın olanlar arasında yer almaktadır. β -laktamaz inhibitörlerinin, geniş spektrumlu aktiviteye sahip β -laktam antibiyotiklerle birlikte kullanımı, direnç sorununu aşmak için etkili bir strateji olmuştur. β -laktam antibiyotiklerin bakteriyel transpeptidazların katalitik aktivitesini etkili bir şekilde inhibe etmesi, PBP'ler olarak da adlandırılan transpeptidazlar tarafından katalizlenen peptidoglikan biyosentezi engellenmektedir. Ökaryotik hücrelerde, peptidoglikanların ve transpeptidazların bulunmaması, β -laktam antibiyotiklerin seçici toksisitesini garanti etmenin yanı sıra, bunların hem hayvanlarda hem de insanlarda güvenli kullanımını sağlamaktadır. β -laktam antibiyotikler, penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar olarak sınıflandırılmaktadır [110, 111].

➤ Penisilinler

Alexander Fleming, 1928 yılında stafilokokları içeren kültür plağında bulunan *Penicillium notatum*'un çevresindeki inhibisyon bölgesini gözlemleyerek penisilini keşfetmiştir [3, 4, 26, 27]. Penisilinlerin yapısındaki β -laktam halkası, beş üyeli bir tiyazolidin halkasına veya peneme bağlanmakta ve yan zincir (R) penisilinleri farklılaştırmaktadır [112, 113]. Penisilinin bakteriyel hücre duvarındaki peptidoglikanın çapraz bağlanmasını ve peptidoglikan biyosentezini doğrudan inhibe etmesi, hücre duvarını yüksek iç ozmotik basınca dayanıksız hale getirerek hücre lizisine neden olmaktadır [2, 8]. Penisilinin 1940'lı yıllarda piyasaya sunulması ve yaygın olarak kullanılmasının ardından penisilinaz üreten penisiline dirençli *S. aureus* suşları ortaya çıkmıştır [3, 4, 26, 27]. Beta-laktamaz enzimi, beta-laktam halkasını hidrolize ederek penisilini etkisiz hale getirmektedir. Beta-laktamaz enzimini kodlayan *blaZ* geni, kromozoma entegre olabilen ya da büyük konjugatif plazmidler üzerinde konumlanabilen, yer değiştirebilen elemanın bir parçasıdır. *S. aureus* izolatlarında *blaZ* geninin edinilmesi yoluyla penisiline direnç gelişmektedir [8].

Metisiline Dirençli *S. aureus* (MRSA) : Beta laktamaz enzimine dayanıklı ilk yarı sentetik antibiyotik olan metisilin, 1959 yılında bulunmuş ve klinik kullanıma sunulmuştur. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde metisilin kullanımı başarılı olmasına rağmen 1961 yılında ilk defa İngiltere'de bir MRSA izolatı bildirilmiştir. Metisiline direnç, *mecA* geninin belirli bir bölgede kromozoma dahil edilmesi yoluyla meydana gelmektedir [2, 5]. *S. aureus*'un metisiline direnç geliştirmesinde en yaygın mekanizma, PBP2a (veya PBP2')'nin sentezlenmesidir. PBP2a, SCC*mec* adlı genetik eleman üzerinde bulunan *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. *mecA*'nın hareketli bir genetik eleman üzerinde taşınması ve stafilokok türleri arasında aktarılacak geniş ölçüde dağılması, metisiline direncin yanı sıra çoğu β -laktam antibiyotiğe direnci de kazandırmaktadır. PBP2a, diğer PBP'lere göre çoğu beta laktam antibiyotiğe karşı daha düşük afiniteye sahiptir. Doğal PBP'lerin aktif bölgeleriyle karşılaştırıldığında PBP2a'nın aktif bölgesi, β -laktamlar için daha az erişilebilir bir yarıktadır. PBP2a'nın β -laktamlar tarafından etkili bir şekilde inhibe edilememesinden dolayı bakteriyel hücre duvarının sentezi sırasında peptidoglikanın çapraz bağlanması ve peptidoglikan sentezi antibiyotik varlığında sürdürülebilmektedir [2, 8, 114, 115].

➤ Sefalosporinler

Sefalosporinler, altı üyeli bir dihidrothiazin halkasına veya sefeme bağlı dört üyeli bir beta-laktam halkası içermektedir. Sefalosporinler, kimyasal yapıları ve antimikrobiyal etki mekanizmaları bakımından penisilinlere benzemektedir. Ancak penisilinlerdeki β -laktam halkası, beş üyeli bir tiazolidin halkasına veya peneme bağlanmakta ve yan zincir (R) penisilinleri farklılaştırmaktadır [112, 113]. Yarı sentetik sefalosporinlerin çoğunun temel substratını 7- aminosefalosporonik asit (7-ACA) oluşturmaktadır. Birinci kuşak sefalosporinlerden sefadroksil ve sefalekssin gibi bazı sefalosporinler, 7-amino- deasetoksisefalosporonik asitten (7-ADCA) türetilmektedir. Bu etkili sefalosporinler, 7-ACA'nın C-3 ve C-7 pozisyonlarındaki çeşitli yan zincir modifikasyonları ile kimyasal olarak türetilmektedir. Sefalosporinlerin yapısındaki C3 ve C7 karbonları, antibakteriyel aktiviteleri önemli ölçüde artıran ve beta-laktamazlara karşı yapısal stabiliteyi artıran değişken yan zincirlerin dahil edilmesine olanak tanımaktadır [113]. β -laktamlardaki çekirdek yapı aynı olsa da, β -laktam halkasının 7. pozisyonundaki değişiklikler sefalosporin kuşaklarının her biri için aktivite spektrumunu farklılaştırmaktadır [112]. Sefalosporin, hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki peptidoglikan tabaka sentezini engelleyerek bakteriyel hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan β -laktam grubu antibiyotik sınıfıdır [116]. Beş kuşak sefalosporin sınıfındaki antibiyotikler Tablo 2.2'de belirtilmiştir [113].

Tablo 2-2: Beş kuşak sefalosporin sınıfındaki antibiyotikler.

SEFALOSPORİNLER				
Birinci kuşak	İkinci kuşak	Üçüncü kuşak	Dördüncü kuşak	Beşinci kuşak
Sefalekssin	Sefaklor	Sefiksim	Sefepim	Seftarolin
Sefadroksil	Sefprozil	Sefpodoksim	Sefiderokol	Seftolozan
Sefazolin	Sefuroksim	Sefotaksim	Sefpirom	Seftobiprol
Sefapirin	Sefoksitin	Seftriakson		
Sefradin	Sefotetan	Seftazidim		

Sefalotin	Sefonisit	Sefoperazon
	Sefmetazol	Seftizoksım

➤ Karbapenemler

Karbapenemler, beta-laktam antibiyotik sınıfları arasında en geniş aktivite spektrumuna sahiptir. Çeşitli Gram negatif ve Gram pozitif patojenlere karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Kompleks enfeksiyonların klinik tedavisinde kullanılabilen ilk karbapenem olan imipenem, *Streptomyces cattleya* kültürlerinde keşfedilen bir tiyenamisin türevidir. Beş üyeli pirolin halkası, çekirdek yapıdaki bir beta-laktam halkasına kaynaşmıştır. Yapısındaki kararlı bağlar ve doymuş atomlar, çoğu beta-laktamaza karşı dayanıklılığı artırmaktadır. Ayrıca beta-laktamaz inhibitörü olarak karbapenemler de kullanılmaktadır [110, 112, 113].

➤ Monobaktamlar

Monobaktamlar, bir beta-laktam halkası ve yan zincirlerden oluşan monosiklik moleküllerdir. Piyasaya sürülen ilk monobaktam, *Chromobacterium violaceum* bakterisinden izole edilen sentetik antibiyotik aztreonamdır. Monobaktamlar, Gram negatif bakterilere karşı oldukça aktiftir. Monobaktamların üstün özelliği, Gram-negatif bakterilerin ürettiği beta-laktamazlara karşı oldukça dayanıklı olmalarıdır [110, 112, 113].

2.1.5.2. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B

Makrolid, linkozamid ve streptogramin B (MLS_b) antibiyotik grupları, bakteriyel ribozumun 50S alt birimine etki etmektedir. MLS_b antibiyotik grubunda yaygın olarak kullanılan klindamisin, farmakokinetik özellikleri nedeniyle ideal bir antibiyotiktir. Bu antibiyotik grubunun zamanla ve aşırı kullanımla birlikte *S. aureus*, MLS_b'ye karşı da direnç kazanmaktadır. MRSA suşları, çoğunlukla *ermA* veya *ermC* genlerinin varlığıyla MLS_b antibiyotiklere karşı direnç göstermektedir. MLS_b antibiyotiklerine direnç, konstitütif MLS_b (cMLS_b), indüktif MLS_b (iMLS_b), makrolid streptogramin B (MS_b) olarak farklı fenotiplerde ortaya çıkmaktadır [117, 118].

Eritromisine dirençli ancak klindamisine duyarlı izolatlar, klindamisinin çevresinde eritromisin diskine doğru düzleşme ile birlikte D şeklinde inhibisyon bölgesi

oluşturduğunda iMLS_b (indüklenabilir MLS_b) olarak değerlendirilmiştir. Hem eritromisin hem de klindamisine dirençli izolatlar, cMLS_b (konstitütif MLS_b) olarak değerlendirilmiştir. Eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı ve D şekilli bölge oluşturmayan izolatlar ise MS_b fenotipleri olarak değerlendirilmiştir [120, 121, 144].

2.1.6. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler

2.1.6.1. Glikopeptidler

Glikopeptid antibiyotikler, dirençli bakterilere karşı mücadelede önem taşımaktadır. Glikopeptid grubu bir antibiyotik olan vankomisin, ilk piyasaya sürülmesinden bu yana hala Gram pozitif bakterilerin etken olduğu ciddi enfeksiyonlar için temel tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Dalbavansin ve oritavansin gibi klinik kullanıma yeni giren daha güçlü yarı sentetik türevler, vankomisine dirençli enfeksiyonların tedavisinin başarılı olmasını mümkün kılan üstün farmakokinetik ve hedef etkileşim profillerine sahiptir [119]. Vankomisin ve diğer glikopeptid antibiyotikler, peptidoglikanın membrana bağlı Lipid II öncüsü D-ala D-ala'ya bağlanarak bu kısmın hücre duvarı bileşen yapısına dahil olmasını engellemektedir. Vankomisin ve diğer glikopeptidlerin lipid II'ye bağlanması, lipid II bağlanma afinitesini artıran işbirliğine dayalı arka arkaya dimerizasyonla güçlendirilmektedir. Vankomisin ve diğer glikopeptid antibiyotiklerin etki mekanizması, çapraz bağlanmamış Lipid II'nin terminal D-ala-D-ala kısmına bağlanmasıdır. Bu bağlanma, PBP'lerin Lipid II'nin peptidoglikana çapraz bağlama aktivitesini engellemektedir. PBP'lerin bölgeye bağlanması engellenerek peptidoglikan sentezinin inhibe edilmesi, hücre bütünlüğünün bozulmasına, ozmotik strese ve hücrenin patlamasına yol açmaktadır [6, 119, 120].

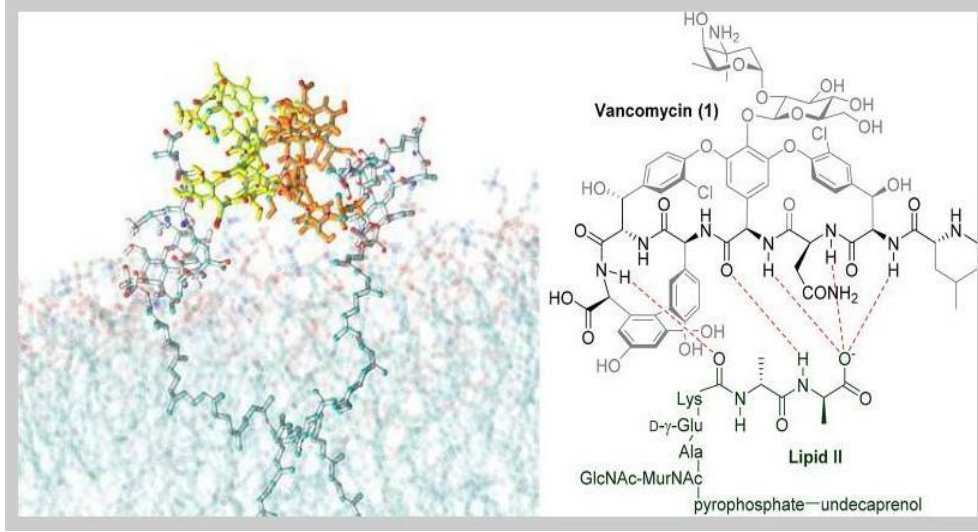
Vankomisin, glikopeptid grubu bir antibiyotik olup 1957 yılında Dr. Kornield tarafından *Streptomyces orientalis*'ten izole edilmiştir. Vankomisinin klinikte kullanımı 1958'de onaylanmış, ancak yapısı 1982'de kesin olarak belirlenmiştir [6, 119]. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin (IDSA) güncel rehberinde MRSA kökenli enfeksiyonlar için önerilen tedavi vankomisin olarak belirtilmiş olup ilk basamak antibiyotiklerden biri olmaya devam etmektedir. Ancak ilk kez Japonya'da Hiramatsu ve arkadaşları tarafından 1996 yılında vankomisine orta duyarlı *S.aureus* (VISA) Mu50 olarak ve 1997 yılında heterorezistan vankomisine orta duyarlı *S. aureus* (hVISA) Mu3

olarak bildirilmiştir [121-124]. Daha sonra ilk vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) suşu 2002 yılında ABD Michigan'da bildirilmiş olup aynı yıl içinde ABD'nin Pensilvanya eyaletinde ikinci VRSA suşu izole edilmiştir. VRSA suşunun ortaya çıktığı tarihten itibaren *van* genleri taşıyan 14'ü ABD'de, 16'sı Hindistan'da, 11'i İran'da, 9'u Pakistan'da, biri Portekiz'de ve biri Brezilya'da VRSA suşları rapor edilmiştir. Son yıllarda dünya çapında VRSA izolatları bildirilmeye devam etmektedir [6, 7]. Yayınlanmış orijinal makale (OM) ve vaka raporlarına (VR) dayalı olarak farklı kıtalardaki VRSA sayısı Asya'da 70 (OM: 65, VR:5), Afrika'da 16 (OM: 15, VR:1), ABD'de 14 (OM: 5, VR: 9), Avrupa'da 2 (OM: 2) olarak bildirilmiştir [125]. Tüm dünyada CDC 2021 verilerine göre % 0,1 oranında VRSA saptanmıştır [28].

Hastanelerde MRSA'nın artması ve standart β -laktam tedavilerine karşı önemli bir direncin geliştiği 1980'lerde yeni nesil antibiyotiklerin de kullanıma girmesiyle vankomisin kullanımı azalmıştır. Bu şekilde vankomisin seyrek kullanımı, yaygın glikopeptid direncinin gelişmesini engellemiş ve yüksek düzeyde vankomisin direnci rapor edilene kadar klinikte tercih edilen ilaç olarak yeniden vankomisin kullanılmaya devam edilmiştir [119].

Vankomisin stafilokok, enterokok, streptokok, pnömokok, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Clostridium* gibi Gram-pozitif bakterilere karşı aktif etki göstermektedir. Günümüzde vankomisin genellikle MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonlarda ve yarı sentetik penisilin veya sefalosporinlere alerjisi olan hastaların tedavisinde kullanılmaktadır [6].

Vankomisin, hücre duvarı sentezini engelleyerek bakterisidal etki göstermektedir. Çoğu bakteride, hücre içi yüksek ozmotik basınçtan koruyan hücre duvarının genişletilmesi için öncü lipid II, PBP'ler tarafından transglikozilasyon ve transpeptidasyon yoluyla yeni oluşan peptidoglikana eklenmektedir [6]. Vankomisinin hidrofilik molekülü, öncü lipid II'nin terminal D-ala-D-ala kısımları ile hidrojen bağı etkileşimleri oluşturabilmektedir. Vankomisinin bağlanması, oluşan peptidoglikan zincirine öncülün dahil edilmesini ve transpeptidasyonu önleyen konformasyonel değişikliğe yol açmaktadır. PBP'lerin bu bölgeye bağlanamaması, PBP'lerin görevini yerine getirememesine ve hücre duvarı sentezinin engellenmesine neden olmaktadır. Böylece hücre duvarının ayrışması ve ozmotik basınç ile bakteriyel lizis meydana gelmektedir [6, 119, 120].



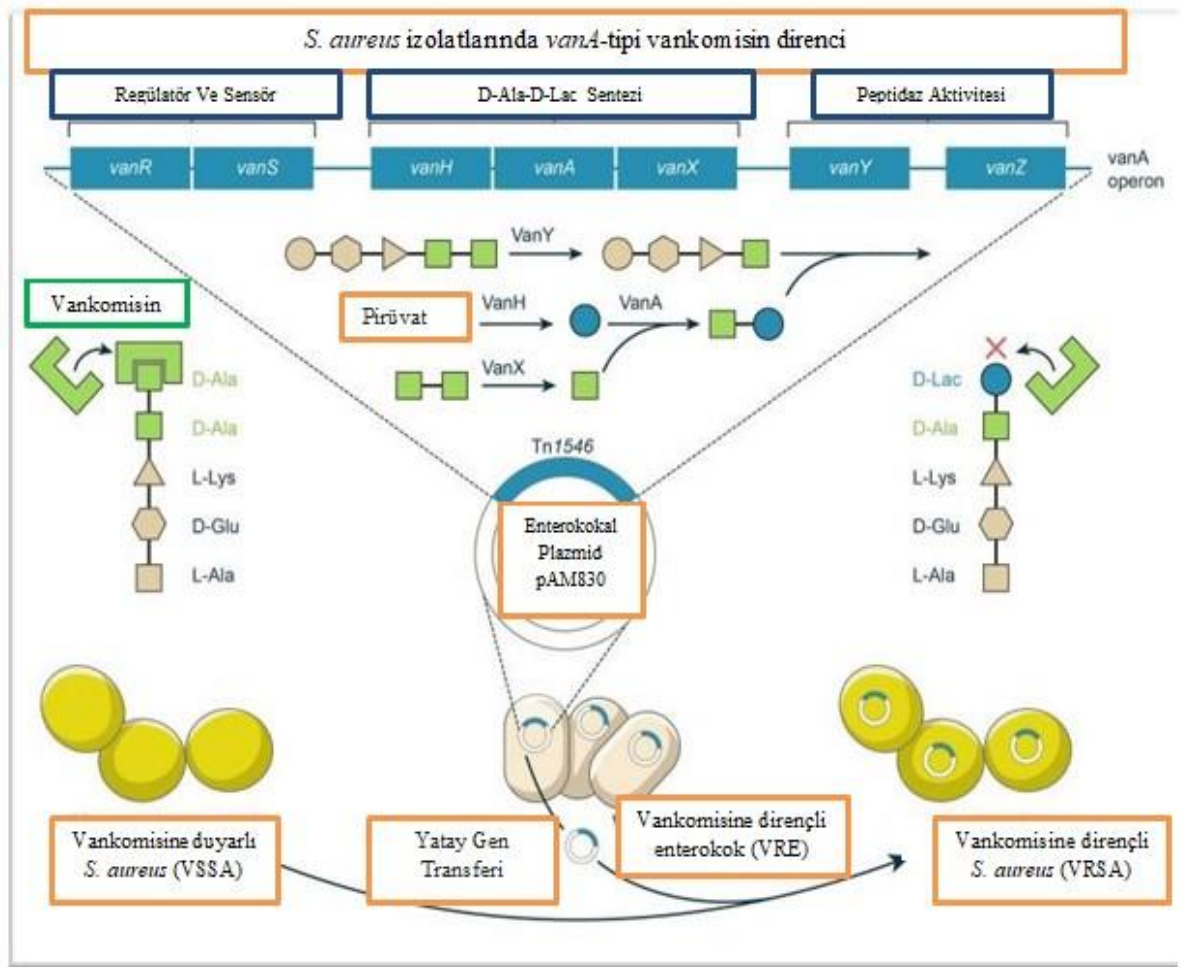
Şekil 2-3: Vankomisinin Lipid II ile etkileşimi.

(A) Vankomisin dimerizasyonunu gösteren, membrana bağlı Lipid II ile etkileşime giren vankomisinin moleküler dinamik simülasyonu. (B) Vankomisin omurgası ile lipid II'nin D-ala D-ala bileşeni arasındaki hidrojen bağı etkileşimleri [119].

Vankomisine dirençli *S. aureus* izolatlarında vankomisine direnç, vankomisine dirençli enterokokların (VRE) konjugatif plazmidinin bir parçası olan *Tn1546* transpozonunda kodlanan *vanA* operonu tarafından sağlanmaktadır. Konjugasyon olayları sırasında enterokokal plazmidlerin elde edilmesiyle veya VRE plazmitinden *Tn1546*'nın stafilokokal yerleşik bir plazmite transpozisyonuyla VRSA izolatları meydana gelmektedir [126]. *VanA* operonu aracılı vankomisin direnci, vankomisine bağlanan dipeptid D-ala-D-ala peptidoglikan öncüllerinin hidrolizi ve vankomisine bağlanamayan D-ala-D-laktat peptidoglikan öncüllerinin sentezi ile meydana gelmektedir. *VanA* operonu *vanA*, *vanH*, *vanX*, *vanS*, *vanR*, *vanY* ve *vanZ* genlerinden oluşmakta ve vankomisini algılayan ve operonun transkripsiyonunu aktive eden *vanS* ve *vanR* tarafından kodlanan iki bileşenli bir sensör-düzenleyici sistem aracılığıyla kontrol edilmektedir. Vankomisine direnç fenotipi için *vanA*, *vanH* ve *vanX* birlikte gereklidir. *VanA* ve *vanH*, D-ala-D-lac'ın sentezinden sorumludur. *VanA*, D-ala-D-lac dipeptidinin ester bağı oluşumunu katalize eden ligazı ve *vanH*, piruvatı indirgeyerek D-lac oluşturan dehidrogenazı kodlamaktadır. *VanX*, D-ala-D-ala ester bağına hidrolize eden bir D,D-dipeptidazı kodlamakla birlikte yeni oluşan D-ala-D-lac dipeptidinin, UDP'ye bağlı tripeptid peptidoglikan öncüsüne bağlanmak için çok az rekabete sahip olmasını sağlamaktadır. Böylece, D-ala-D-ala yerine D-ala-D-lac dipeptidinin peptidoglikana dahil edilmesi sağlanmaktadır [120, 126].

Lipit II'deki terminal amino asitler olarak D -ala- D -ala'nın D-ala- D -lac ile değiştirilmesi, tek bir hidrojen bağının kaybına bağlı olarak vankomisin ile peptidoglikan arasındaki bağlanma sabitinde ve vankomisine afinitesinde yaklaşık 1000 kat azalmaya yol açmakta ve vankomisin bakterisidal etkisini kaybetmektedir [6, 120].

VRSA izolatlarında *vanA* tipi vankomisin direncinin kazanılma mekanizması Şekil 2.4'te verilmiştir [126].



Şekil 2-4: VRSA izolatlarında *vanA* tipi vankomisine direnç mekanizması.

Vankomisine dirençli *S. aureus* izolatlarındaki direnç, VRE izolatlarından *S. aureus* izolatlarına aktarılan *vanA* genine bağlı iken VISA ve hVISA izolatlarında *vanA* geni bulunmamaktadır [127, 128]. VISA fenotipinin özellikleri arasında diferansiyel olarak düzenlenmiş hücre duvarı biyosentezi ve uyarıcı yolların neden olduğu hücre duvarı kalınlığının artması, peptidoglikanın çapraz bağlanmasının azalması, hücre duvarı döngüsünden sorumlu enzimlerin otolitik aktivitesinin azalması,

yüzey protein profilinin değişmesi, *agr* sisteminin fonksiyon bozukluğu ve büyüme özelliklerinde değişiklikler bulunmaktadır [126]. VISA ve hVISA izolatları daha kalın bir hücre duvarına, azaltılmış peptidoglikan çapraz bağlanmasına ve hücre duvarı içinde vankomisin için tuzak hedef görevi gören aşırı serbest D-Ala-D-Ala kalıntılarına sahiptir. D-Ala-D-Ala'ya bağlı vankomisin hücre duvarında birikerek vankomisinin daha fazla difüzyonunu engellemektedir [126].

Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) rehberinde *S. aureus* izolatlarında direnç için MİK sınır değeri >2 mg/L'dir. Fakat *vanA* kökenli yüksek düzeyde vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) ile *vanA* içermeyen vankomisine düşük düzeyde direnç gösteren VISA ve hVISA izolatları arasında değişiklikler bulunmaktadır. Vankomisin için MİK değeri >8 mg/L olan *S. aureus* izolatları VRSA, MİK değeri 4-8 mg/L olan *S. aureus* izolatları VISA, MİK değeri ≤ 2 mg/L olan vankomisine duyarlı *S. aureus* topluluğunda az sayıda (10^{-6}) MİK değeri >2 mg/L olan izolat bulunması hVISA olarak değerlendirilmektedir [127].

2.1.6.2. Daptomisin

Streptomyces roseosporus'dan izole edilen bir fermentasyon ürünü olan daptomisin (DAP), Gram pozitif bakterilere bakterisidal etkili, 13 üyeli amino asit içeren siklik lipopeptid yapıda bir antibiyotiktir. 2003 yılında cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, 2006 yılında *S. aureus* bakteriyemisi ve sağ taraflı infektif endokardit tedavisi için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onayı, 2004 yılında ise ilk olarak ABD'de klinik kullanım onayı almıştır [13, 14, 129]. Daptomisin, pulmoner sürfaktan tarafından etkisiz hale getirildiğinden pnömoni tedavisinde kullanılmamaktadır [13, 130]. Daptomisin, Gram-pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarla mücadelede, özellikle MRSA ve VRE izolatlarında çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasıyla giderek daha önemli hale gelmiştir [129].

Daptomisinin antibakteriyel aktivitesi için gerekli olan kalsiyuma (Ca^{+2}) bağlanmasıyla konformasyonunda meydana gelen değişiklikler, daptomisinin membrana kolaylıkla bağlanmasını sağlamaktadır. Ca^{+2} -Dap kompleksi, hücre duvarına nüfuz eden ve negatif yüklü fosfatidilgliserol (PG) gruplarına bağlanarak sitoplazmik membranın içine giren miseller oluşturmak üzere oligomerize olmaktadır. Bu durum, lipid yapılı çift katmanda

gerilime neden olmaktadır. Böylece depolarizasyon, geçirgenlik ve başta K^+ olmak üzere iyonların sızması ve sonuçta hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır [13, 14, 131].

Gram pozitif bakterilerde daptomisine direnç yaygın olmamakla birlikte *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* izolatlarında daptomisine duyarlı olmayan suşları giderek artan sayıda bildirilmektedir [13, 14]. *E. faecalis* izolatlarında daptomisine direnç, membran fosfolipitlerinin hareketi sonucu daptomisin membranından uzaklaşmasıyla gerçekleşmektedir. *E. faecium* ve *S. aureus* izolatlarındaki direnç de benzer şekilde meydana gelmektedir [132]. Daptomisin direnci, konağın katyonik antimikrobiyal peptidleri de dahil olmak üzere hücre zarının hasar görmesine karşı bakterinin savunmasını aktive eden genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Duyarlı hücrelerin *in vitro* geçişi sırasında artan konsantrasyonlarda antibiyotiğe uzun süre maruz kalması durumunda, en olağan ilk mutasyon değişiklikleri çoklu peptid direnç faktörü (*mrpF*) geninde meydana gelmektedir. İntegral bir membran proteini olan *mrpF* proteini, PG'ye pozitif yüklü bir lizin ekleyerek lisil-fosfatidilgliserol (L-PG) oluşturmaktadır. Bu protein, sitozolde sentezlenip daha sonra zarın dış yüzüne taşınmaktadır. Oluşan *mrpF* mutasyonları, proteinde fonksiyon kazanımı değişiklikleriyle sonuçlanmakta ve membrandaki L-PG düzeyini artırmaktadır. Bu durum, Ca^{+2} -Dap kompleksini iten membranın dış yüzünün yükünü artırmakta ve aynı zamanda membran hasarını başlatmak üzere antibiyotiğin bağlanması için gereken negatif yüklü PG miktarını azaltmaktadır [131].

Daptomisine duyarlı olmayan MRSA izolatlarının ortaya çıkışıyla birlikte MRSA enfeksiyonlarının tedavisi için, daptomisin bir β -laktam antibiyotik ile kombinasyonu önerilmektedir [10-14]. Bazı çalışmalarda, seftobiprol-daptomisin kombinasyonlarının MRSA izolatlarında sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir [16, 21, 22].

2.1.6.3. Seftobiprol

Seftobiprol, anti-MRSA etkili, geniş spektrumlu, yeni nesil, 5. kuşak sefalosporinler içinde sınıflandırılan, β -laktam grubu antibiyotiktir [15, 16]. Seftobiprol, toplum kökenli pnömoni (TKP) ve ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) hariç hastane kökenli pnömoni (HKP) tedavisi için Kanada'da ve bazı Avrupa ülkelerinde kullanımı onaylanmıştır [15, 20, 133, 134]. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), Nisan 2024 tarihinde sağ taraflı infektif endokardit de dahil olmak üzere

Staphylococcus aureus bakteriyemilerinin (SAB), bakteriyel cilt ve ilişkili doku enfeksiyonlarının, toplum kökenli bakteriyel pnömoninin tedavisi için Zevtera'yı (enjeksiyon için seftobiprol medokaril sodyum) onaylamıştır [135].

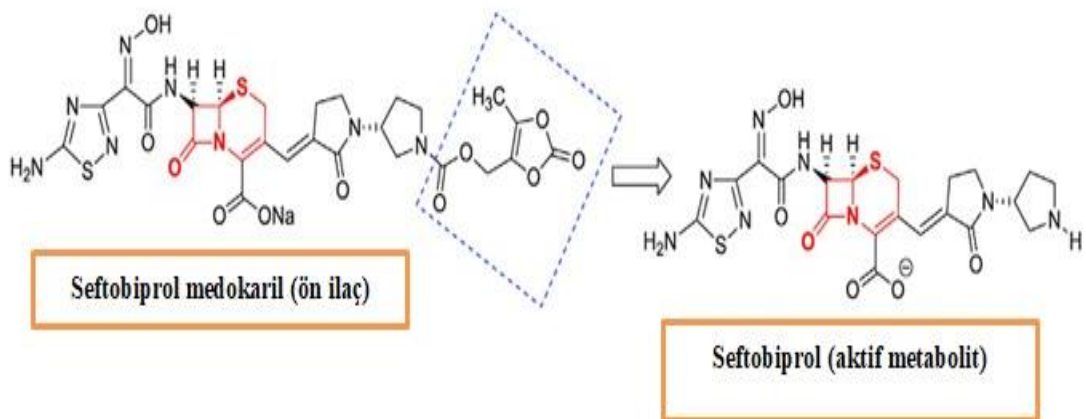
Seftobiprol, MRSA, VRSA, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) gibi birçok Gram pozitif bakteriye karşı geniş spektrumlu aktiviteye sahip olduğu gibi genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) negatif Enterobacterales izolatları gibi Gram negatif bakterilere de güçlü aktivite göstermektedir [20, 133, 134, 136, 137].

Kimyasal Yapısı

Seftobiprolün suda çözünebilir bir ön formu olan seftobiprol medokaril, intravenöz uygulama sonrasında plazmada hızla seftobiprole dönüşmektedir [15, 134].

Seftobiprol yapısal olarak, sefam yapısının 7 numaralı karbonlarının stereokimyası ve karbon 3'e bağlı yan zincirinin doğası bakımından farklılık gösteren aminotiyazol-oksiminio sefalosporinlerdir [110].

Seftobiprol, sefalosporin çekirdeğinin 7-amino grubuna bağlı olan, birçok yaygın beta-laktamaz tipine karşı stabilize sağlayan bir oksiminio-aminotiyadiazol süstitüent grubuna (R1) sahiptir. Ayrıca sefalosporinlerin pirolidinon-3 ylidene-metil sefam serisinin bir üyesi olan seftobiprol, PBP2a aktif bölgesinin dar oluğu içindeki etkileşimini ve PBP2a'nın açılmasını kolaylaştıran 3. pozisyonda bir vinilpirolidinon kısmının (R2) eklenmesi nedeniyle MRSA'ya karşı aktiviteye sahiptir [15, 134, 136]. Seftobiprolün kimyasal yapısı Şekil 2.5'te gösterilmiştir [110].



Şekil 2-5: Seftobiprolün kimyasal yapısı.

Etki Mekanizması

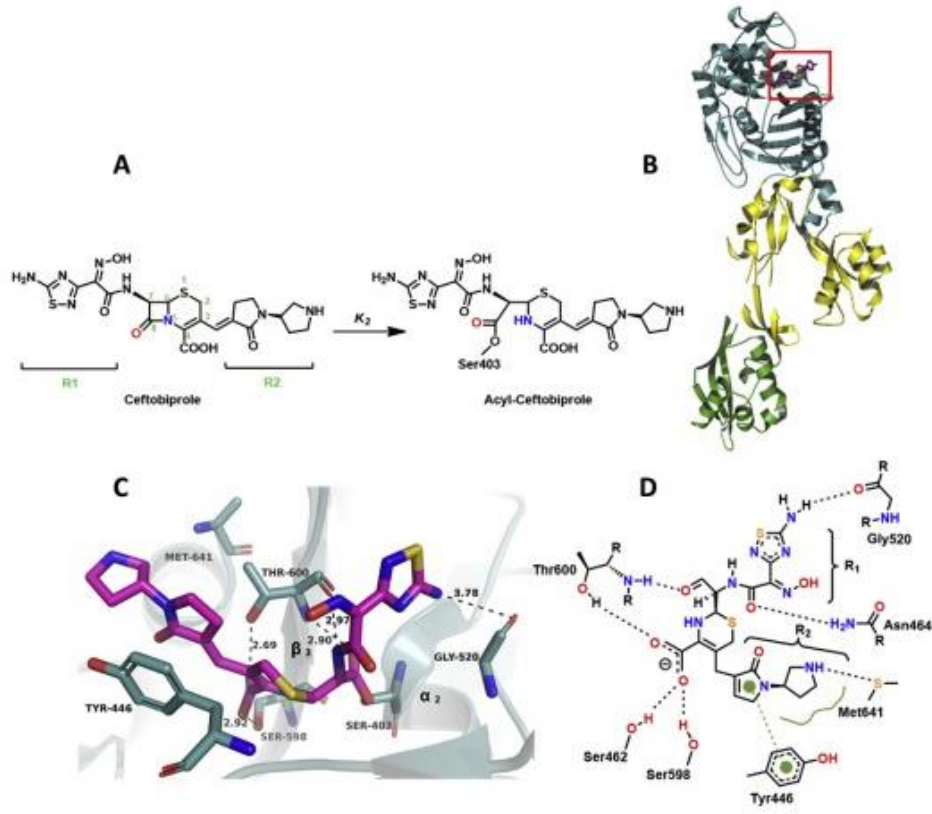
Seftobiprol, antibakteriyel aktivitesini β -laktam antibiyotiklerde olduğu gibi bakteri hücre duvarı sentezinde görevli PBP'lere bağlanıp bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan sentezi için gerekli olan transpeptidaz etkinliğini inhibe ederek ve bakteriyel hücre ölümüne yol açarak göstermektedir. Ancak diğer beta laktamlardan farklı olarak seftobiprol, PBP2a dahil birçok transpeptidazı inhibe etmektedir. Seftobiprolün geniş aktiviteli spektrumu, patojenlerdeki çoklu PBP'lere bağlanmasına dayanmaktadır [15, 16, 136]. Seftobiprol, MRSA izolatlarındaki PBP2a'ya yüksek afinitelidir. Ayrıca PRSP suşlarında bulunan PBP2x'e, *Escherichia coli* suşlarında bulunan PBP3'e de etki gösterdiği belirtilmiştir [17, 136].

Seftobiprolün R2 grubu, PBP2a'nın aktif bölgesine doğru uzanmaktadır ve seftobiprolün anti-MRSA etkinliği, PBP2a'nın aktif bölgesinin uzatılmış dar oluğu ile güçlü bir inhibitör etkileşimine bağlıdır. Bu durum açılasyonu kolaylaştırmakta, hücre çoğalmasını inhibe etmekte ve sonuçta bakteriyel hücre ölümüne yol açmaktadır. Seftobiproldeki C3'te büyük bir hidrofobik yan zincirin bulunması, PBP2a'da konformasyonel değişikliği kolaylaştırmakta ve PBP2a'nın aktif bölgesindeki oluğuyla daha güçlü bir etkileşime yol açmaktadır [134, 136].

Metisiline dirençli *S. aureus* suşları, *mecA* geni tarafından kodlanan PBP2a'yı eksprese etmektedir. PBP2a proteini, reaktif serini dar, erişilmez bir yarıktan koruyarak beta laktamlara direnç gelişimini sağlamakta ve antibiyotik varlığında hücre duvarı sentezinin devam etmesine izin vermektedir [138].

Seftobiprol, anti-MRSA aktivitesini *mecA* geni tarafından kodlanan ve metisiline direnç geliştirmesini sağlayan PBP2a formuna hızlı, sıkı, yüksek afinite ile bağlanmasıyla göstermektedir [15, 16]. Seftobiprolün anti-MRSA etkili olması ve MRSA izolatlarındaki PBP2a'ya yüksek afinite göstermesi, MRSA kökenli enfeksiyonların tedavisi için tercih sebebi olmuştur [15, 17].

MRSA izolatlarında PBP2a'nın seftobiprol ile inhibisyonu Şekil 2.6'da gösterilmiştir [139].



Şekil 2-6: MRSA izolatlarında PBP2a'nın seftobiprol ile inhibisyonu.

(A) PBP2a aktif bölgesinde Ser403 ile seftobiprol asilasyonu. (B) Aktif bölgedeki bir BPR molekülüne bağlanan PBP2a'nın X-ışını kristal yapısı. (C), (D) PBP2a'nın aktif bölgesi içindeki BPR'nin sırasıyla 3 boyutlu ve 2 boyutlu görüntüleri, etkileşimde yer alan anahtar amino asitleri gösterimi.

Direnç Mekanizması

Metisiline dirençli *S. aureus* izolatlarının seftobiprole dirençli olma potansiyelinin düşük olduğu *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile gösterilmiştir. Yapılan farklı çalışmalar *in vitro* dirence yol açan en sık değişikliklerin *mecA* geninde ve PBP'lerde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığını göstermiştir. *mecA* geninde meydana gelen mutasyonlar, penisilin bağlanmayan alandaki değişiklikler ile birlikte PBP2a'nın transpeptidaz alanındaki amino asit değişikliklerine neden olmaktadır. Farklı PBP'lerdeki mutasyonlardan kaynaklanan *mecA* aracılı olmayan direnç mekanizmaları arasında PBP4 (*S. aureus*'un gerekli olmayan, düşük molekül ağırlıklı PBP'si) mutasyonları en siktir. PBP4'teki mutasyonlar, yapısal kodlayıcı gende ve/veya onun promotor bölgesinde meydana gelmektedir [136].

Seftobiprolün MRSA izolatlarındaki PBP2a'ya yüksek afinite göstermesi MRSA kökenli enfeksiyonların tedavisi için tercih sebebi olmasını sağlamıştır [15, 17]. Ancak son zamanlarda Kanada, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde yapılan çalışmalarda seftobiprole duyarlı olmayan MRSA izolatları bildirilmiştir. MRSA izolatlarının seftobiprole duyarlılığının azalması nedeniyle seftobiprolün daptomisin veya vankomisin ile kombinasyon halinde kullanılması önerilmiştir [18-20]. Bazı çalışmalarda, seftobiprol-daptomisin ve seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının MRSA izolatlarında sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir [16, 21-23].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Bakteri izolatları

Bu çalışmada Şubat 2023-Temmuz 2023 tarihleri arasında İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarına rutin inceleme için gönderilen cilt/yumuşak doku enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları ve solunum yolu enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlara ait klinik örneklerden izole edilen 49 MRSA izolatı toplanmıştır. Belirlenen tarih aralığında hedeflenen sayıya ulaşamadığı için süreyans izolatlarından 51 adet MRSA izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışma için İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (24.01.2023-1594196) onay alınmıştır.

3.1.1.1. Çalışmaya dahil etme kriterleri

- Çalışmaya klinik örneklerden (cilt ve yumuşak doku örnekleri, kan, balgam vb.) izole edilen MRSA izolatları dahil edilmiştir.
- Aynı hastaya ait sadece bir izolat çalışmaya dahil edilmiştir.
- Tüm yaş grupları çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1.1.2. Çalışmadan hariç tutma kriterleri

- Çalışmada MSSA izolatları hariç tutulmuştur.

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

3.1.2.1. Triptik Soy Agar (TSA)

Triptik soy agar (Condalab, İspanya) toz halindeki besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH $7,3 \pm 0,2$ olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 45°C - 50°C ' ye soğutulan besiyeri, 90 mm' lik steril petri kutularına kalınlığı 4 mm olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin katılaşması ve kuruması gerçekleştikten sonra kontaminasyonu önlemek için $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.2. Mueller-Hinton II Agar (MHA)

Mueller-Hinton II Agar (Biolab, Macaristan) toz halindeki besiyerinden 38 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,3 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 45°C-50°C' ye soğutulan besiyeri, 90 mm' lik steril petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin katılaşması ve kuruması gerçekleştikten sonra kontaminasyonu önlemek için + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.3. Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth (KAMHB)

Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth (BD BBL™, ABD) toz halindeki besiyerinden 22 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,3 ± 0,1 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra uygun sıcaklığa kadar soğutulan besiyeri + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.4. Kalsiyum ilaveli Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth

Katyon Ayarlı Mueller Hinton II Broth (BD BBL™, ABD) toz halindeki besiyerinden 22 g ve kalsiyumdan 0,03 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,3 ± 0,1 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra uygun sıcaklığa kadar soğutulan besiyeri + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.5. DNAz Agar

DNAz Agar (Biolab, Macaristan) toz halindeki besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,3 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 45°C-50°C' ye soğutulan besiyeri, 90 mm'lik steril petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin katılaşması ve kuruması gerçekleştikten sonra kontaminasyonu önlemek için + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.6. Beyin Kalp İnfüzyon Agar (BKİA)

Beyin Kalp İnfüzyon Agar (Biolab, Macaristan) toz halindeki besiyerinden 50 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,4 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 45°C-50°C' ye soğutulan besiyeri, 90 mm'lik steril petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin katılaşması ve kuruması gerçekleştikten sonra kontaminasyonu önlemek için + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.7. Vankomisin İlaveli Beyin Kalp İnfüzyon Agar (VİBKİA)

Beyin Kalp İnfüzyon Agar (Biolab, Macaristan) toz halindeki besiyerinden 50 g tartılıp 1000 ml distile suda süspanse edilmiştir. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırılıp pH 7,4 olarak ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 45°C-50°C' ye soğutulan besiyerine steril enjektör ile 8 ml steril distile suda 6 mg toz halindeki vankomisinin çözündürülmesiyle hazırlanan çözelti ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyeri, 90 mm'lik steril petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin katılaşması ve kuruması gerçekleştikten sonra + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.8. Serum Fizyolojik

Serum fizyolojik (% 0,85 NaCl) için, 8,5 g NaCl (Tekkim, Türkiye) tartılıp 1000 ml distile suda çözündürülmüştür. Balon joje içerisindeki bu karışım, manyetik karıştırıcıda çözünene kadar karıştırıldıktan sonra pH 4,5-7 aralığında ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra uygun sıcaklığa kadar soğutulan besiyeri + 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3. Antibiyotikler

3.1.3.1. Antibiyotik Toz Maddeleri

- Seftobiprol toz maddesi (Biosynth, Potens: 960)
- Daptomisin toz maddesi (Biosynth Carbosynth, Potens: 970)
- Vankomisin toz maddesi (Biosynth Carbosynth, Potens: 925)

3.1.3.2. Antibiyotik Diskleri

EUCAST rehberine göre kullanılan antibiyotik disklerinin içerikleri [140] :

- Penisilin (1U) (Biyoanalayse ®)
- Sefoksitin (30 µg) (Biyoanalayse ®)
- Eritromisin (15 µg) (Biyoanalayse ®)
- Klindamisin (2 µg) (Biyoanalayse ®)
- Trimetoprim-Sulfametoksazol (1.25-23.75 µg) (Biyoanalayse ®)
- Tetrasiklin (30 µg) (Biyoanalayse ®)
- Gentamisin (10 µg) (Biyoanalayse ®)
- Levofloksasin (5 µg) (Biyoanalayse ®)
- Linezolid (10 µg) (Biyoanalayse ®)
- Norfloksasin (10 µg) (Biyoanalayse ®)
- Rifampisin (5 µg) (Biyoanalayse ®)
- Seftobiprol (5 µg) (Liofilchem ®)

3.1.4. Test Kitleri

- Koagülaz Testi İçin EDTA'lı Tavşan Plazması, Liyofilize (BD BBL™, ABD)
- MRSA Saptamak İçin PBP2' Lateks Aglütinasyon Test Kiti (Oxoid™, UK)

Kit içeriği:

- Ekstraksiyon reaktifi 1,
- Ekstraksiyon reaktifi 2,
- Test kartları,
- Test lateks,
- Kontrol lateks,
- Karıştırma çubukları

➤ Makro Gradyent Test Stripleri:

- Teikoplanin Makro Gradyent Test Strip (0.016-256 µg/mL) (Biyoanalayse®, Türkiye),
- Vankomisin Makro Gradyent Test Strip (0.016-256 µg/mL) (Biyoanalayse®, Türkiye)

3.1.5. Diğer Kimyasal Maddeler

- Resazurin (5g) (Biosynth, UK)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (Riedel-de Haën ®, Almanya)
- Glasiyel asetik asit (Riedel-de Haën ®, Almanya)
- Hidrojen peroksit (H₂O₂)(%3) (A.D.R Group Mediko Kimya, Türkiye)
- Kalsiyum karbonat (CaCO₃) (Emboy)
- Sodyum klorür (NaCl) (Tekkim, Türkiye)

3.1.6. Sarf Malzemeler

- Mikroplak (96 kuyucuklu, steril, kapaklı) (Microcult, Türkiye)
- Filtreli, steril mikropipet uçları (10'luk, 100'lük) (Microcult, Türkiye)
- Filtreli, steril mikropipet uçları (1000'lik) (Labprime, Türkiye)
- Steril Petri Kutuları 90 mm (Microcult,Türkiye)
- Steril, tekli, pamuklu eküvyonlar (Microcult,Türkiye)
- Steril özeler (5µl'lik)
- Eppendorf tüpleri (mikrosantrifüj tüpleri) (2 ml) (Molgen Biyoteknoloji, Türkiye)
- Steril enjektör (10 ml) (Set Inject, Türkiye)
- Tek kullanımlık, steril filtre (por çapı: 0,22 µm) (GVS Filter Technology, ABD)
- Cam balon joje
- Cam tüpler

3.1.7. Kullanılan Cihazlar Ve Diğer Gereçler

- Santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen, Almanya)
- Kuru blok ısıtıcı (Techne, UK)
- Etüv (Heraeus, Almanya)
- Otoklav (Hirayama, Japonya)
- Kan kültürü cihazı (BACTEC FX, Becton Dickinson, USA)
- Otomatize identifikasyon sistem (VITEK 2, bioMérieux, Fransa)
- Hassas terazi (Radwag, Polonya)
- Hassas terazi (Shimadzu-Libror-Aeg-120, Japonya)
- pH metre cihazı (WTW- pH 523, Almanya)
- Manyetik karıştırıcı (IKA-RCT Basic, Almanya)
- Vorteks karıştırıcı (IKA-MS2 mini çalkalayıcı, Almanya)
- Buzdolabı (+4° C) ve derin dondurucu (-20° C) (Arçelik, Türkiye)
- McFarland standartları (bioMérieux, Fransa)
- Tekli mikropipetler (10 µl, 100 µl, 1000 µl) (Eppendorf, Almanya)
- Çoklu mikropipet (10 µl-100 µl) (Eppendorf, Almanya)
- Antimikrobiyal Duyarlılık Disk Dispenser (Oxoid™, UK)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Bakteri İzolasyonu Ve Tanımlanması

Bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA izolatları gliserol içeren saklama besiyerlerine alınarak çalışma zamanına kadar -80°C’de saklanmıştır. İzolatlar, çalışma döneminde iki kez TSA besiyerine pasaj alınıp 37°C’de 18-24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Inkübasyon sonrasında identifikasyonun teyit edilmesi için konvansiyonel yöntemler kullanılmıştır [141].

Cilt ve yumuşak doku örnekleri (apse, doku vb.) rutin olarak % 5 koyun kanlı agara, çikolatamsı agara, anaerop katı/sıvı besiyerine, MacConkey agara ekim yapılmakta ve etüvde 24-48 saat inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden Gram boyama yöntemi ile bakteri morfolojisi tespit edilmiştir [141].

Solunum yolu örnekleri (balgam) rutin olarak % 5 koyun kanlı agara, basitrasimli çikolatamsı agara ve MacConkey agara ekim yapılmakta ve etüvde inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden Gram boyama yöntemi ile bakteri morfolojisi tespit edilmiştir [141].

Steril vücut sıvısı örneklerinden eklem sıvısı rutin olarak % 5 koyun kanlı agara, çikolatamsı agara ekim yapılmakta, anaerop sıvı besiyerine de örnek alınmakta ve etüvde inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden Gram boyama yöntemi ile bakteri morfolojisi tespit edilmiştir [141].

Steril vücut sıvısı örneklerinden periton sıvısı rutin olarak % 5 koyun kanlı agara, anaerop katı besiyerine ekim yapılmakta, anaerop sıvı besiyerine de örnek alınmakta ve etüvde inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden Gram boyama yöntemi ile bakteri morfolojisi tespit edilmiştir [141].

Göz örneklerinden konjonktiva sürüntüsü rutin olarak % 5 koyun kanlı agara, çikolatamsı agara ekim yapılmakta ve etüvde inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden Gram boyama yöntemi ile bakteri morfolojisi tespit edilmiştir [141].

Kan kültürü örnekleri için ise kan kültürü şişeleri otomatize kan kültürü sisteminde (BACTEC FX, Becton Dickinson, USA) beş gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden Gram boyama yapılarak bakteri morfolojisi tespit edilmiştir. Ardından kan kültürü örnekleri, % 5 koyun kanlı agar besiyerine ekilip 37°C'de 18-24 saat etüvde inkübe edilmiştir [141].

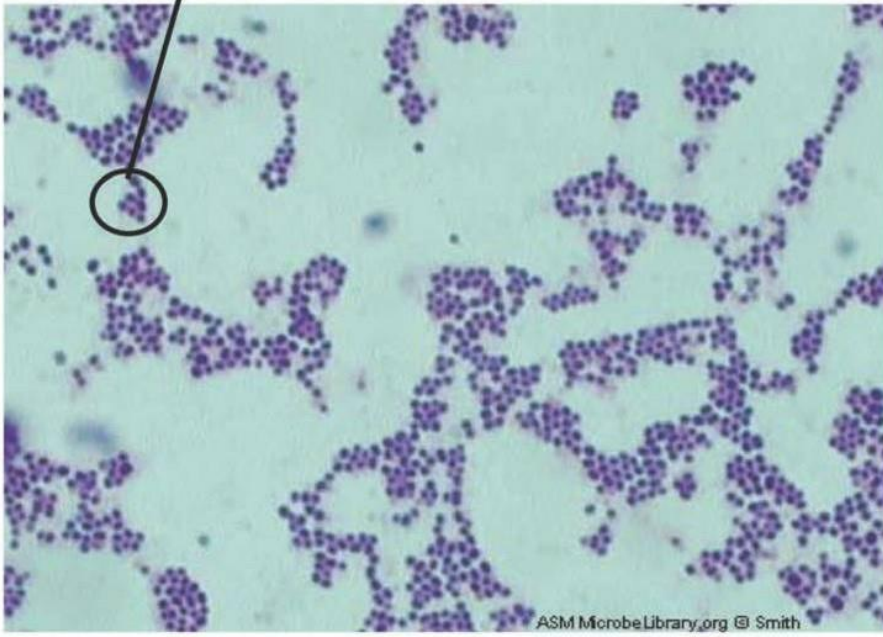
Bakteri identifikasyonu için, katalaz testi, tüpte plazma koagülaz ve DNaz varlığı saptama gibi klasik yöntemlere ilave olarak gerektiğinde otomatik identifikasyon sistemi (VITEK 2, bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır. Çalışılan bakteri izolatları daha sonra kullanılabilmek üzere gliserol içeren triptik soy broth saklama besiyerine steril eküvyon ile alınarak -80°C'de saklanmıştır [141].



Şekil 3-1: TSA besiyerinde *S. aureus* 'un altın sarısı pigmentli kolonilerinin görüntüsü.

3.2.1.1. Gram Boyama

Çalışmadaki tüm suşlar Gram boyama yöntemi ile boyanarak bakteri morfolojileri açısından incelenmiştir. Bu amaçla lam üzerine bir damla %0,85 NaCl serum fizyolojik (SF) damlatıldıktan sonra besiyerindeki bakteri kolonisinden iğne ile tek bir koloni alınıp lamdaki SF damlası içinde ince bir tabaka halinde yayılması sağlanmıştır. Havada kuruması için bir süre bekletilen preparat, alevden üç kez geçirilerek tespit edilmiştir. Havada kurutulup alevde tespit edilmiş preparat boya sehпасı üzerine alınarak üzerine kristal viyoleto damlatılıp, 1-2 dakika beklenmiştir. Ardından üzerine lugol damlatılıp, 1-2 dakika beklenmiştir. Preparat su ile yıkanmıştır. Alkol ile mor renk akmayana kadar renk giderilmiş, ardından preparat su ile yıkanmıştır. Sulu fuksin damlatılıp 30-60 saniye beklendikten sonra preparat su ile yıkanmıştır. Preparat kurutma kağıdı ile hafifçe bastırılarak kurutulmuştur. Preparat üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta 100 X büyütmele objektif ile incelenmiştir [141]. Gram pozitif küme yapmış kok morfolojisi, üzüm salkımı benzeri topluluklar şeklinde tanımlanmıştır [29, 30]. *S. aureus* 'un Gram boyama mikroskopik görüntüsü Şekil 3.2' de verilmiştir [142].



Şekil 3-2: *S. aureus* 'un Gram boyama mikroskopik görüntüsü.

3.2.1.2. Katalaz Testi

Katalaz, ortamdaki toksik H_2O_2 'i su ve oksijene dönüştüren enzimdir. İzolatlarda katalaz varlığını tespit etmek için bir lama %3'lük H_2O_2 solüsyonu damlatılmış, saf kültürden öze yardımıyla alınan koloni ile lam üzerinde süspanse edilmiştir. Gaz kabarcıklarının meydana gelmesi, katalaz testinin pozitif olduğunu göstermiştir. Katalaz varlığının tespit edilmesi, stafilokokların streptokoklardan ayrılmasını sağlamaktadır. Stafilokok türlerinde katalaz pozitif, streptokok türlerinde ise katalaz negatiftir [30, 33, 39, 141]. Pozitif kontrol suşu olarak, *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır. Katalaz pozitif ve katalaz negatif test sonuçlarını gösteren çalışma Şekil 3.3'te verilmiştir [143].



Şekil 3-3: Katalaz pozitif ve katalaz negatif test sonuçlarını gösteren çalışma.

3.2.1.3. Tüpte Plazma Koagülaz Testi

Stafilokoklar, koagülaz enzimi sentezleyebilme özelliğine göre *S. aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Koagülaz testi için ticari olarak temin edilen, % 0,15 EDTA (etilendiamintetraasetik asit) ve % 0,85 sodyum klorür içeren liyofilize tavşan plazması (EDTA'lı Tavşan Plazması, liyofilize, BD BBL™, ABD) kullanılmıştır. 3 ml'lik şişe içindeki tavşan plazması, üretici firma önerisine göre steril enjektör yardımıyla 3 ml steril saf su ile sulandırılmış ve homojen hale gelmesi için çalkalanmıştır. Her çalışılan suş için sulandırılmış plazma koagülazdan steril enjektör yardımıyla 0,5 ml alınıp cam tüplere aktarılmıştır. Tüpün içine 2-4 koloni (1 öze dolusu) alınıp tamamen emülsifiye edilmiştir. Tüp hafifçe karıştırılmıştır. Çoğu suşun plazmayı koagüle edecek enzimi üretebilmesi için ihtiyaç duyulan inkübasyon süresi olan 4-24 saat 35-37 °C'de inkübatörde belli aralıklarla kontrol edilerek takip edilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda tüpü çalkalamadan yavaşça eğerek pıhtılaşma gözlemlenmiştir. Tüpte koagülasyon (pıhtılaşma) oluşturan suşların (*S. aureus*) test sonucu koagülaz pozitif olarak, koagülasyon oluşturmeyan suşların (KNS) test sonucu koagülaz negatif olarak değerlendirilmiştir [141]. Kalite kontrol suşu olarak, *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır.

3.2.1.4. DNAz Testi

DNAz besiyerine iğne ile alınan bakteri kolonisi nokta ekim şeklinde ekilmiştir. Etüvde 18-24 saat 35-37 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından petri kabının içindeki besiyeri yüzeyinin üzerini kaplayacak şekilde 1 N hidroklorik asit (HCl) dökülüp birkaç dakika beklenmiştir. Bakteride DNAz enzimi varsa, nokta ekim etrafında DNA’yı parçalamasından dolayı şeffaf, saydam, berrak bölge oluşumu DNAz testi pozitif olarak değerlendirilmiştir [141]. Kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır.

3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.2.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon testi, rutin klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan ve patojen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını saptamak için uygulanan antibiyotik duyarlılık testi yöntemidir [144]. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi (EUCAST) önerilerine göre inokulumun hazırlanması aşamasında öncelikle TSA besiyerinde bir gece inkübasyon sonucunda oluşan taze ve saf kolonilerden birkaçı steril bir özeyle alınarak 5 ml steril serum fizyolojik (su içinde % 0,85 NaCl çözeltisi= 8,5 g/L NaCl çözeltisi) içinde istenilen homojen bulanıklığa ulaşınca kadar süspanse edilmiş ve 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonu, steril pamuk uçlu eküvyon aracılığıyla katkı içermeyen 4 mm kalınlığındaki MHA besiyerine üç yönde ekimi 15 dakika içerisinde yapılmıştır. Besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra 15 dakika içerisinde antibiyotik duyarlılık testi için kullanılacak antibiyotik diskleri dispenser yardımı ile steril şartlarda yerleştirilmiştir. İlk petriye eşit mesafelerde sırasıyla penisilin G (P), sefoksitin (FOX), eritromisin (E), klindamisin (DA), trimetoprim-sulfametoksazol/kotrimoksazol (SXT), tetrasiklin (TE), gentamisin (CN), levofloksasin (LEV) yerleştirilmiş ikinci petriye eşit mesafelerde sırasıyla linezolid (LNZ), norfloksasin (NOR), rifampisin (RA), seftobiprol (BPR) yerleştirilmiştir. Zon çaplarının güvenilir bir şekilde okunması amacıyla uygun mesafelerde ve uygun sayıda diskler petrilere yerleştirilmiş ve $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ’de 18 ± 2 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Ölçülen zon çapları EUCAST 2023 sınır değerleri tablosuna göre duyarlı (S) ve dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir. Duyarlı

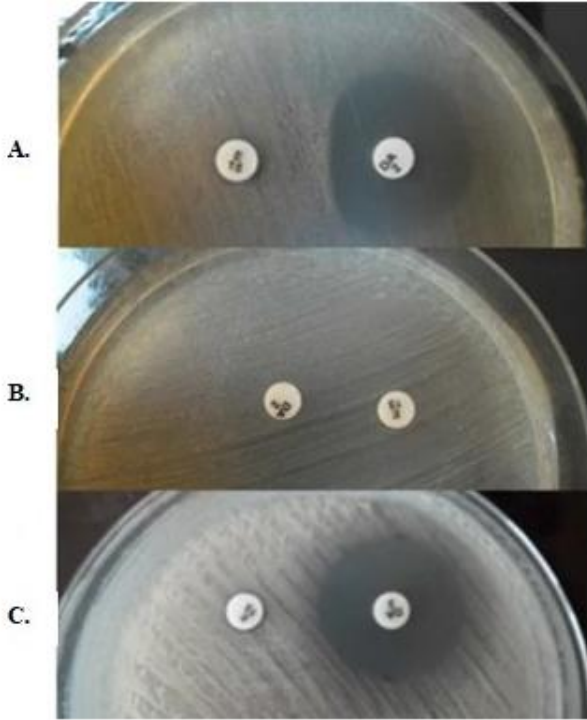
ve dirençli sınır değerleri arasındaki değerler, yüksek dozda duyarlı (YDD) (I) olarak kategorize edilmektedir. Kalite kontrol suşu olarak, *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır [140, 144]. *S. aureus* izolatlarında disk difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotik disklerinin EUCAST rehberine göre zon çapı sınır değerleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3-1: *S. aureus* izolatlarında disk difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotiklerin inhibisyon zon çapı sınır değerleri.

Antibiyotikler (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
	Duyarlı S ≥	Yüksek dozda duyarlı (YDD)	Dirençli R <
Penisilin (1 U)	≥ 26		< 26
Sefoksitin (30 µg)	≥ 22		< 22
Eritromisin (15 µg)	≥ 21		< 21
Klindamisin (2 µg)	≥ 22		< 22
Trimetoprim-sulfametoksazol (1,25-23,75 µg)	≥ 17	[14-16]	< 14
Tetrasiklin (30 µg)	≥ 22		< 22
Gentamisin (10 µg)	≥ 18		< 18
Levofloksasin (5 µg)	≥ 50	[22-49]	< 22
Linezolid (10 µg)	≥ 21		< 21
Norfloksasin (10 µg)	≥ 17		< 17
Rifampisin (5 µg)	≥ 26		< 26
Seftobiprol (5 µg)	≥ 17		< 17

3.2.2.2. D-Zon Testi

Antibiyotiklere duyarlılığı saptamak için uygulanan disk difüzyon yöntemi sonucunda izolatlar, D-zon testiyle üç farklı fenotip olarak yorumlanmıştır. Eritromisine dirençli ancak klindamisine duyarlı izolatlar, klindamisininin çevresinde eritromisin diskine doğru düzleşme ile birlikte D şeklinde inhibisyon bölgesi oluşturduğunda iMLS_b (indüklenabilir MLS_b) olarak değerlendirilmiştir. Hem eritromisin hem de klindamisine dirençli izolatlar cMLS_b (konstitütif MLS_b) olarak değerlendirilmiştir. Eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı ve D şekilli bölge oluşturmayan izolatlar ise MS_b fenotipleri olarak değerlendirilmiştir [117, 118, 145]. Her üç fenotipe ait görüntüler Şekil 3.4'te verilmiştir [117].



Şekil 3-4: MRSA izolatlarında iMLS_b, cMLS_b ve MS_b fenotipleri.

A. iMLS_b fenotipi B. cMLS_b fenotipi C. MS_b fenotipi

3.2.2.3. Metisiline Direncin Sefoksitin Tarama Testi ve MRSA Lateks Aglütinasyon Kitiyle Saptanması

Metisiline direnç, sefoksitin tarama testi ve PBP2a lateks aglütinasyon kitiyle saptanmıştır.

➤ Sefoksitin Tarama Testi

Disk difüzyon yöntemi ile EUCAST önerileri doğrultusunda hazırlanan 0,5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu steril pamuk uçlu eküvyon aracılığıyla MHA besiyerine yayılmış ve sefoksitin (30 µg) diski yerleştirilip $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18 ± 2 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda sefoksitin disk etrafındaki inhibisyon zon çapı ölçülmüştür. İnhibisyon zon çapı ≤ 21 mm olarak ölçülen izolatlar metisiline dirençli olarak değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır [140, 144].

➤ Metisiline Direncin Lateks Aglütinasyon ile Saptanması

Metisiline direnci saptamak için PBP2' lateks aglütinasyon test kiti (Oxoid™, UK) kullanılmıştır. Üretici firma önerileri doğrultusunda, bir mikrosantrifüj tüpüne ekstraksiyon reaktifi-1 solüsyonundan dört damla eklenmiştir. Test edilecek izolatlar MHA besiyerinde bir gece inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonunda elde edilen taze ve saf kolonilerden steril 5 µl'lık bir öze ile alınıp mikrosantrifüj tüpünde süspanse edilmiştir. Ardından mikrosantrifüj tüpü vortekslenmiştir. Mikrosantrifüj tüpü, kuru ısıtma bloğuna (Techne, UK) yerleştirilmiş ve 95°C 'de 3 dakika bekletilmiştir. Isıtılan mikrosantrifüj tüplerinin oda sıcaklığına gelene kadar soğuması beklenmiştir. Daha sonra mikrosantrifüj tüpüne ekstraksiyon reaktifi-2 solüsyonundan bir damla damlatılıp vortekslenmiştir. Santrifüj cihazında (Hettich Zentrifugen, Almanya) $1500 \times g$ 'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Test kartındaki test edilecek suş için işaretlenmiş daireye bir damla test lateks, kontrol için işaretlenmiş daireye bir damla kontrol lateks eklenmiştir. Her daireye mikropipet yardımı ile 50 µl süpernatant eklenmiş ve karıştırma çubuğu ile dairelerin içi tamamen karıştırılıp test kartı sallanarak 3 dakika bekletilmiştir. Aglütinasyonun (çökelme) meydana gelip gelmediği incelenmiştir. Test dairesinde aglütinasyonun gerçekleşmesi durumunda bakteri MRSA olarak değerlendirilmiştir. Kontrol dairesi için kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılmıştır [146].

3.2.2.4. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

American Society for Microbiology (Amerika Mikrobiyoloji Derneği-ASM) rehberliğinde sıvı mikrodilüsyon (BMD) yöntemi ile seftobiprol, daptomisin, vankomisin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir. MİK, mikroorganizma üremesini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonudur. Antibiyotik stok solüsyonunun hazırlanmasında kullanılan antibiyotik miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [141].

$$\text{Antibiyotik miktarı:} \quad \text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon } (\mu\text{g /ml})}{\text{Potens } (\mu\text{g/ mg})}$$

Seftobiprol Stok Solüsyonunun Hazırlanması

Her 1,5 mg seftobiprol toz antibiyotik için, seftobiprolün çözücülerini olan dimetil sülfoksit (DMSO) (100 µl) ve glasiyel asetik asitin (10 µl) sırasıyla 10:1 oranı karışımından 110 µl eklenmelidir. Ancak hazırlanan 10 ml hacim ve 320 µg/ml konsantrasyondan dolayı hassas terazide tartılan 3,33 mg seftobiprol toz antibiyotik için, 222 µl DMSO ve 22 µl glasiyel asetik asitin 10:1 oranı karışımından 244 µl ekleyip önce 1 dakika sürekli sonra 15 dakika aralıklarla yüksek devirde vorteksleyerek seftobiprolün çözünmesi sağlanmıştır. Seftobiprolün sulandırıcısı olan steril distile su ile sulandırılarak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından vorteksle karıştırılıp 10 ml antibiyotik stok solüsyonu hazırlanmıştır. Antibiyotik stok solüsyonu, ependorflara dağıtılıp -20°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman antibiyotik stok solüsyonu sulandırıcısıyla 1:10 oranında sulandırılıp kullanılmıştır. Seftobiprol stok solüsyonunun hazırlanmasında gerekli olan seftobiprol toz madde miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [141, 147].

$$\text{Seftobiprol toz madde miktarı} = \frac{10 \text{ ml} \times 320 \mu\text{g/ml}}{960 \mu\text{g/mg}} = 3,33 \text{ mg}$$

Daptomisin Stok Solüsyonunun Hazırlanması

Daptomisin stok solüsyonunun hazırlanmasında gerekli olan daptomisin toz madde miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve hassas terazide tartılıp daptomisinin çözücüsü olan steril distile suda çözdürüldükten sonra 10 ml'ye tamamlanana kadar steril distile su ilave edilerek sulandırılmıştır. Ardından vorteksleyip 10 ml antibiyotik stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Antibiyotik stok solüsyonu ependorflara dağıtılıp -20°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman antibiyotik stok solüsyonu sulandırıcısıyla 1:10 oranında sulandırılıp kullanılmıştır [141, 147].

$$\text{Daptomisin toz madde miktarı} = \frac{10 \text{ ml} \times 320 \text{ } \mu\text{g/ml}}{970 \text{ } \mu\text{g/mg}} = 3,29 \text{ mg}$$

Vankomisin Stok Solüsyonunun Hazırlanması

Vankomisin stok solüsyonunun hazırlanmasında gerekli olan vankomisin toz madde miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve hassas terazide tartılıp vankomisinin çözücüsü olan steril distile suda çözdürüldükten sonra 10 ml'ye tamamlanana kadar steril distile su ilave edilerek sulandırılmıştır. Ardından vorteksleyip 10 ml antibiyotik stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Antibiyotik stok solüsyonu ependorflara dağıtılıp -20°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman antibiyotik stok solüsyonu sulandırıcısıyla 1:10 oranında sulandırılıp kullanılmıştır [141, 147].

$$\text{Vankomisin toz madde miktarı} = \frac{10 \text{ ml} \times 320 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1070 \text{ } \mu\text{g/mg}} = 2,99 \text{ mg}$$

Sıvı mikrodilüsyon yönteminde kullanılan antibiyotikler için MİK değerleri saptanacak MRSA suşlarının TSA besiyerine ekimi yapılmış ve suşlar 18-24 saat 37°C’de etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda taze ve saf MRSA kolonilerinden birkaç koloni öze yardımıyla steril tüp içindeki 5 ml KAMHB sıvı besiyerine (veya 5 ml SF) alınarak 0.5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) bulanıklığında, bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Ardından hazırlanan bakteri süspansiyonundan mikropipet yardımıyla 1 ml alınıp başka bir steril tüpteki 9 ml KAMHB sıvı besiyerine (veya 9 ml SF) ilave edilerek 1:10 oranında sulandırılmıştır.

Önce steril 96 kuyucuklu 8 yatay 12 düşey sıradan oluşan mikroplağın tüm kuyucuklarına çoklu mikropipet ile 100 µl KAMHB besiyeri eklenmiştir. Seftobiprol ve vankomisin için KAMHB kullanılırken daptomisin için ise 50 µg Ca^{+2} ilaveli KAMHB kullanılmıştır. Mikroplaktaki son iki düşey sıradaki kuyucuklar, negatif kontrol (antibiyotik içeren ve sterilite kontrolü) ve pozitif kontrol (bakteri içeren ve üreme kontrolü) kuyucukları olarak ayrılmıştır. Mikroplakta bulunan 11. sıradaki kuyucuklar negatif kontrol kuyucukları olarak, 12. sıradaki kuyucuklar ise pozitif kontrol kuyucukları olarak belirlenmiştir. Tüm kuyucuklara KAMHB eklenmesinden sonra antibiyotik stok solüsyonunun sulandırılmasıyla hazırlanan antibiyotik solüsyonundan, mikroplağın birinci düşey sırasındaki sekiz kuyucuğa [A1-H1] mikropipet ile 100 µl eklenmiştir. Daha sonra çoklu mikropipet yardımı ile pozitif kontrol kuyucukları hariç olmak üzere [A1-A10], [B1-B10], [C1-C10], [D1-D10], [E1-E10], [F1-F10], [G1-G10], [H1-H10] kuyucuklarına ve negatif kontrol kuyucuklarına yatay olarak yüksekten düşük konsantrasyona doğru 10 farklı konsantrasyon (16-0,031 µg/ml) olacak şekilde seri dilüsyon yapılmıştır. Son seri dilüsyonu yapılan kuyucuklardan (11. düşey sıradaki kuyucuklar) mikropipetle alınan 100 µl besiyeri-antibiyotik karışımı dışarı atılmıştır. Ardından hazırlanan 1:10 oranında sulandırılmış bakteri süspansiyonundan 10 µl negatif kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklara eklenmiştir. Kalite kontrol suşu olan *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu için mikroplağın sekizinci yatay sırası [H1-H12] kullanılmıştır. Daha sonra steril şeffaf kapakları kapatılan mikroplaklar, etüvde $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ’de 18 ± 2 saat inkübe edilmiştir [140, 141]. BMD deneyinde kullanılan şablon Şekil 3.5’te gösterilmiştir.

	16 µg/ml	8 µg/ml	4 µg/ml	2 µg/ml	1 µg/ml	0,5 µg/ml	0,25 µg/ml	0,125 µg/ml	0,062 µg/ml	0,031 µg/ml	NK µg/ml	PK µg/ml
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
KK												

Şekil 3-5: BMD deneyinde kullanılan şablon örneği.

KK: Kalite kontrol suşu, NK: negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol, 1,2,3,4,5,6,7 : Suşların numaraları.

İnkübasyon süresi sonunda en sağdan itibaren üremenin olmadığı ilk kuyucuk MİK olarak değerlendirilmiştir. Renk değişimi ile de MİK sonuçlarını değerlendirebilmek için resazurin kullanılmıştır. Resazurin hassas terazide % 0,02 g (100 ml steril distile su için 20 mg resazurin) tartıldıktan sonra az miktar steril distile suda çözülerek filtreyle süzölmüş ve karışım 100 ml olacak şekilde geri kalanına steril distile su ilave edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda hazırlanan resazurinden mikrolaktaki her kuyucuğa 30 µl ilave edilmiş, etüvde 1-2 saat inkübe edilmiş ve renk değişimi gözlemlenmiştir. Hazırlanan steril resazurin karışımı daha sonra kullanılabilmek üzere kapaklı cam şişe ya da falkon içinde + 4°C’de saklanmıştır [141]. *S. aureus* izolatlarında BMD testinde kullanılan seftobiprol, daptomisin ve vankomisin antibiyotikleri için 2023 EUCAST rehberine göre MİK sınır değerleri Tablo 3.2’de verilmiştir [140].

Tablo 3-2: *S. aureus* izolatlarında BMD testiyle MİK sınır değerleri.

Antibiyotikler (µg)	EUCAST MİK Sınır Değerleri (µg/ml)		
	Duyarlı S ≤	Yüksek Dozda Duyarlı (YDD)	Dirençli R >
Seftobiprol	≤ 2	-	>2
Daptomisin	≤ 1	-	>1
Vankomisin	≤ 2	-	>2

3.2.2.5. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi

Antibiyotiklerin birbiriyle etkileşimi, dama tahtası yöntemi kullanılarak belirlenmektedir [141].

Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan seftobiprole dirençli MRSA izolatlarında, seftobiprolün hem daptomisin ile hem de vankomisin ile kombine halde etkinliği araştırılmıştır. Antibiyotik konsantrasyonları, test izolatının antibiyotik için gösterdiği MİK değerinin iki katı ya da dört katı olacak şekilde belirlenmiştir. Seftobiprole dirençli dört MRSA izolatının ikisinin MİK değeri: 4 µg/ml, diğer ikisinin MİK değeri: 8 µg/ml olduğu için seftobiprol 0,015-16 µg/ml konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Daptomisin ve vankomisin için konsantrasyon aralığı 0,125-8 µg/ml olarak çalışılmıştır. Çalışma yapılacağı zaman seftobiprol, daptomisin, vankomisin antibiyotik stok solüsyonları sulandırılıp seri dilüsyon yapılarak antibiyotiklerin çalışmada kullanılacak konsantrasyonları ayrı tüplerde elde edilmiştir [141]. Mikroplağın A1 kuyucuğu pozitif kontrol (üreme kontrolü), H12 kuyucuğu negatif kontrol (sterilite kontrolü) olarak belirlenmiştir. Mikroplaklarda ilk yatay sırada seftobiprol ilk düşey sırada daptomisin veya vankomisin olacak şekilde çalışılmıştır. Mikroplaktaki tüm kuyucuklara çoklu pipet yardımıyla 100 µl KAMHB, pozitif ve negatif kontrol kuyucuklarına 200 µl KAMHB ilave edilmiştir. Seftobiprol-daptomisin kombinasyonu için Ca⁺² ilaveli KAMHB kullanılmıştır. Mikroplaktaki A1 pozitif kontrol kuyucuğu

hariç ilk yatay sıradaki 11 kuyucuğa [A2-A12] farklı konsantrasyonlarda 100 µl ve bu kuyucukların her birinin düşey sırasındaki kuyucuklara [B2-H2], [B3-H3], [B4-H4], [B5-H5], [B6-H6], [B7-H7], [B8-H8], [B9-H9], [B10-H10], [B11-H11], [B12-H11] 50 µl seftobiprol solüsyonu, ilk düşey sıradaki 7 kuyucuğa [B1-H1] farklı konsantrasyonlarda 100 µl ve [B2-B12], [C2-C12], [D2-D12], [E2-E12], [F2-F12], [G2-G12], [H2-H11] kuyucuklara 50 µl daptomisin veya vankomisin solüsyonu mikropipet yardımıyla aktarılmıştır. Antibiyotik etkileşimlerinin test edildiği kuyucuklarda her iki antibiyotiği içeren toplam son antibiyotik hacimi 100 µl olarak hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonu hazırlamak için, taze kültürden steril öze ile alınan birkaç koloni 5 ml KAMHB içerisine ilave edilerek 0,5 McFarland bulanıklığında ayarlanmıştır. Ardından bakteri süspansiyonundan 0,8 ml alınıp 25 ml distile su içerisinde 1:40 oranında sulandırılmıştır. Bakteri inokulumları, negatif kuyucuk hariç mikrolaktaki bütün kuyucuklara 10'ar µl aktarılmıştır. Daha sonra steril şeffaf kapakları kapatılan mikrolaklar, etüvde $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18 ± 2 saat inkübe edilmiştir [141]. Dama tahtası yöntemi ile BPR-VAN ve BPR-DAP kombinasyonlarına örnekler sırasıyla Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3-3: Dama tahtası yöntemi ile seftobiprol-vankomisin kombinasyonuna örnek.

Pozitif 1 Kontrol A	2 BPR: 0,015	3 BPR: 0,031	4 BPR: 0,062	5 BPR: 0,125	6 BPR: 0,25	7 BPR: 0,5	8 BPR: 1	9 BPR: 2	10 BPR: 4	11 BPR: 8	12 BPR: 16
B VAN:0,125	BPR: 0,015 VAN:0,125	BPR: 0,031 VAN:0,125	BPR: 0,062 VAN:0,125	BPR: 0,125 VAN:0,125	BPR: 0,25 VAN:0,125	BPR: 0,5 VAN:0,125	BPR: 1 VAN:0,125	BPR: 2 VAN:0,125	BPR: 4 VAN:0,125	BPR: 8 VAN:0,125	BPR: 16 VAN:0,125
C VAN:0,25	BPR: 0,015 VAN:0,25	BPR: 0,031 VAN:0,25	BPR: 0,062 VAN:0,25	BPR: 0,125 VAN:0,25	BPR: 0,25 VAN:0,25	BPR: 0,5 VAN:0,25	BPR: 1 VAN:0,25	BPR: 2 VAN:0,25	BPR: 4 VAN:0,25	BPR: 8 VAN:0,25	BPR: 16 VAN:0,25
D VAN:0,5	BPR: 0,015 VAN:0,5	BPR: 0,031 VAN:0,5	BPR: 0,062 VAN:0,5	BPR: 0,125 VAN:0,5	BPR: 0,25 VAN:0,5	BPR: 0,5 VAN:0,5	BPR: 1 VAN:0,5	BPR: 2 VAN:0,5	BPR: 4 VAN:0,5	BPR: 8 VAN:0,5	BPR: 16 VAN:0,5
E VAN:1	BPR: 0,015 VAN:1	BPR: 0,031 VAN:1	BPR: 0,062 VAN:1	BPR: 0,125 VAN:1	BPR: 0,25 VAN:1	BPR: 0,5 VAN:1	BPR: 1 VAN:1	BPR: 2 VAN:1	BPR: 4 VAN:1	BPR: 8 VAN:1	BPR: 16 VAN:1
F VAN:2	BPR: 0,015 VAN:2	BPR: 0,031 VAN:2	BPR: 0,062 VAN:2	BPR: 0,125 VAN:2	BPR: 0,25 VAN:2	BPR: 0,5 VAN:2	BPR: 1 VAN:2	BPR: 2 VAN:2	BPR: 4 VAN:2	BPR: 8 VAN:2	BPR: 16 VAN:2
G VAN:4	BPR: 0,015 VAN:4	BPR: 0,031 VAN:4	BPR: 0,062 VAN:4	BPR: 0,125 VAN:4	BPR: 0,25 VAN:4	BPR: 0,5 VAN:4	BPR: 1 VAN:4	BPR: 2 VAN:4	BPR: 4 VAN:4	BPR: 8 VAN:4	BPR: 16 VAN:4
H VAN:8	BPR: 0,015 VAN:8	BPR: 0,031 VAN:8	BPR: 0,062 VAN:8	BPR: 0,125 VAN:8	BPR: 0,25 VAN:8	BPR: 0,5 VAN:8	BPR: 1 VAN:8	BPR: 2 VAN:8	BPR: 4 VAN:8	BPR: 8 VAN:8	Negatif Kontrol

Tablo 3-4: Dama tahtası yöntemi ile seftobiprol-daptomisin kombinasyonuna örnek.

Pozitif 1 Kontrol A	2 BPR: 0,015	3 BPR: 0,031	4 BPR: 0,062	5 BPR: 0,125	6 BPR: 0,25	7 BPR: 0,5	8 BPR: 1	9 BPR: 2	10 BPR: 4	11 BPR: 8	12 BPR: 16
B DAP:0,125	BPR: 0,015 DAP:0,125	BPR: 0,031 DAP:0,125	BPR: 0,062 DAP:0,125	BPR: 0,125 DAP:0,125	BPR: 0,25 DAP:0,125	BPR: 0,5 DAP:0,125	BPR: 1 DAP:0,125	BPR: 2 DAP:0,125	BPR: 4 DAP:0,125	BPR: 8 DAP:0,125	BPR: 16 DAP:0,125
C DAP:0,25	BPR: 0,015 DAP:0,25	BPR: 0,031 DAP:0,25	BPR: 0,062 DAP:0,25	BPR: 0,125 DAP:0,25	BPR: 0,25 DAP:0,25	BPR: 0,5 DAP:0,25	BPR: 1 DAP:0,25	BPR: 2 DAP:0,25	BPR: 4 DAP:0,25	BPR: 8 DAP:0,25	BPR: 16 DAP:0,25
D DAP:0,5	BPR: 0,015 DAP:0,5	BPR: 0,031 DAP:0,5	BPR: 0,062 DAP:0,5	BPR: 0,125 DAP:0,5	BPR: 0,25 DAP:0,5	BPR: 0,5 DAP:0,5	BPR: 1 DAP:0,5	BPR: 2 DAP:0,5	BPR: 4 DAP:0,5	BPR: 8 DAP:0,5	BPR: 16 DAP:0,5
E DAP:1	BPR: 0,015 DAP:1	BPR: 0,031 DAP:1	BPR: 0,062 DAP:1	BPR: 0,125 DAP:1	BPR: 0,25 DAP:1	BPR: 0,5 DAP:1	BPR: 1 DAP:1	BPR: 2 DAP:1	BPR: 4 DAP:1	BPR: 8 DAP:1	BPR: 16 DAP:1
F DAP:2	BPR: 0,015 DAP:2	BPR: 0,031 DAP:2	BPR: 0,062 DAP:2	BPR: 0,125 DAP:2	BPR: 0,25 DAP:2	BPR: 0,5 DAP:2	BPR: 1 DAP:2	BPR: 2 DAP:2	BPR: 4 DAP:2	BPR: 8 DAP:2	BPR: 16 DAP:2
G DAP:4	BPR: 0,015 DAP:4	BPR: 0,031 DAP:4	BPR: 0,062 DAP:4	BPR: 0,125 DAP:4	BPR: 0,25 DAP:4	BPR: 0,5 DAP:4	BPR: 1 DAP:4	BPR: 2 DAP:4	BPR: 4 DAP:4	BPR: 8 DAP:4	BPR: 16 DAP:4
H DAP:8	BPR: 0,015 DAP:8	BPR: 0,031 DAP:8	BPR: 0,062 DAP:8	BPR: 0,125 DAP:8	BPR: 0,25 DAP:8	BPR: 0,5 DAP:8	BPR: 1 DAP:8	BPR: 2 DAP:8	BPR: 4 DAP:8	BPR: 8 DAP:8	Negatif Kontrol

İnkübasyon sonunda saptanan MİK değerlerine göre kombinasyondaki her bir antibiyotik için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) değeri aşağıda gösterilen formül ile hesaplanmıştır. Ardından kombinasyondaki her iki antibiyotiğin FİK değerleri toplanarak Σ FİK değeri hesaplanmıştır. Elde edilen Σ FİK değeri, sinerjik, additif, indifferens, antagonist etki olarak değerlendirilmiştir. Σ FİK değeri yorumlanması Tablo 3.5'te gösterilmiştir [141].

FİK: Kombinasyonda Elde Edilen MİK Değeri

Tek Başına Elde Edilen MİK Değeri

Seftobiprol FİK: Kombinasyonda Elde Edilen MİK Değeri

Tek Başına Elde Edilen MİK Değeri

Daptomisin FİK: Kombinasyonda Elde Edilen MİK Değeri

Tek Başına Elde Edilen MİK Değeri

Vankomisin FİK: Kombinasyonda Elde Edilen MİK Değeri

Tek Başına Elde Edilen MİK Değeri

$\Sigma FİK$: Seftobiprol FİK + Daptomisin FİK

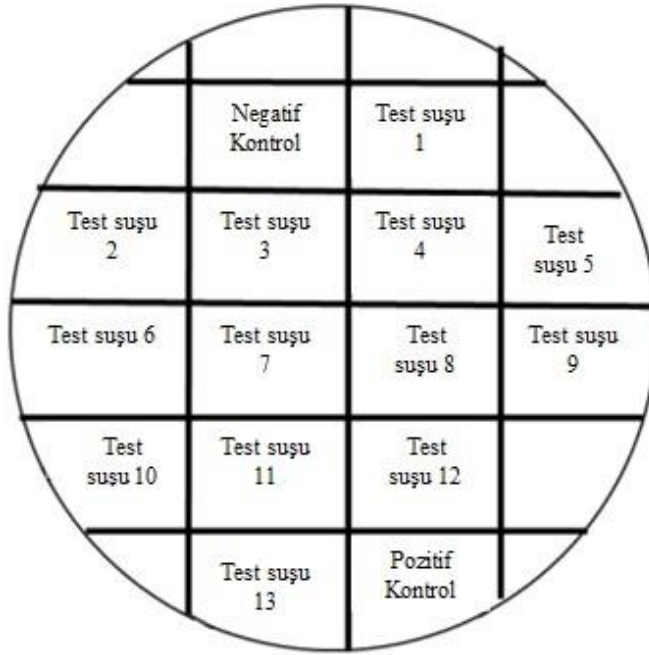
$\Sigma FİK$: Seftobiprol FİK + Vankomisin FİK

Tablo 3-5: $\Sigma FİK$ değeri yorumlanması.

$\Sigma FİK$	Yorum
$\Sigma FİK \leq 0,5$	Sinerjik etki
$0,5 < \Sigma FİK < 1$	Aditif etki
$1 < \Sigma FİK \leq 4$	İndiferens etki
$\Sigma FİK > 4$	Antagonist etki

3.2.2.6. Vankomisin Agar Tarama

Vankomisine dirençli suşları tespit edebilmek için vankomisin agar tarama yöntemi kullanılmaktadır. Vankomisine duyarlılığı azalan *S. aureus* suşlarında vankomisin agar tarama yöntemiyle direnç varlığı araştırılmıştır. Test edilecek suşların TSA besiyerinde bir gece inkübasyonundan sonra elde edilen taze ve saf kolonilerinden alınarak 5 ml serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland yoğunluğunda olacak şekilde bakteri inokulumu hazırlanmıştır. VİBKİA besiyerindeki test edilecek suşlar için ayrılan her bir bölgeye daha önce koloni süspansiyon yöntemi ile hazırlanan bakteri inokulumundan mikropipetle 10 µl aktarılmış ve etüvde 37°C’de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda sonuçlar besiyerindeki suşlar için tek bir koloni üreyip üremediğine göre değerlendirilmiştir. *S. aureus* ATCC 29213 negatif kalite kontrol suşu olarak kullanılmıştır [127, 141, 148]. Vankomisin agar tarama şablonu Şekil 3.6’da gösterilmiştir [148].



Şekil 3-6: Vankomisin agar tarama testinde kullanılan şablon örneği.

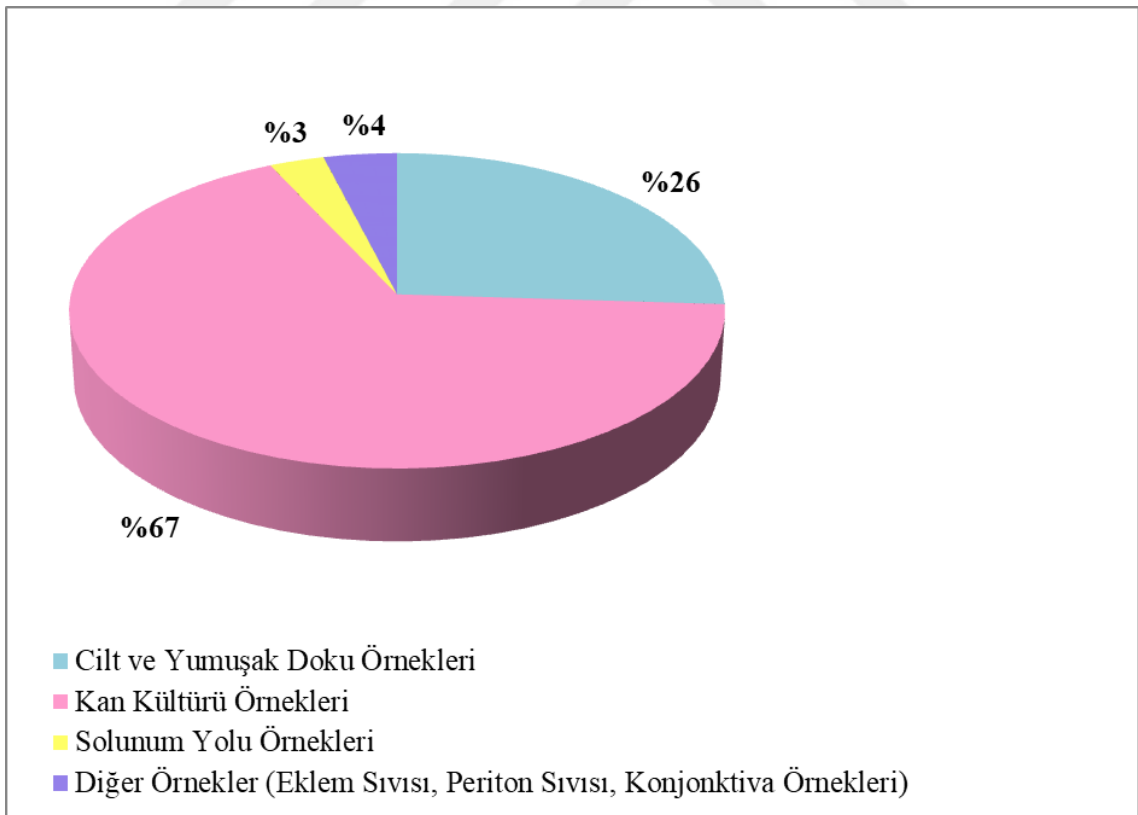
3.2.2.7. Makro Gradyent Test

Vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* suşlarını saptamak için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle, VRSA, VISA ve hVISA varlığı fenotipik olarak tespit edilmektedir. Test edilecek izolatların TSA besiyerinde bir gece inkübasyonu sonucunda oluşan taze ve saf kolonilerinden özeye alınarak 5 ml serum fizyolojik içinde 2.0 McFarland bulanıklığında olacak şekilde bakteri inokulumu hazırlanmıştır. Bakteri inokulumundan steril pamuk uçlu eküvyon ile alınıp BKİA besiyerine ekimi yapılmıştır. Besiyerine teikoplanin ve vankomisin gradiyent testleri birbirine ters ve paralel olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu şekilde yerleşimin sebebi, inhibisyon zonlarının birbirine temas etmemesi içindir. Etüvde 37°C’de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Makro gradiyent test yöntemine göre teikoplanin için MİK değerinin ≥ 12 µg/ml olması ya da hem teikoplanin için hem de vankomisin için MİK değerlerinin ≥ 8 µg/ml olması VRSA, VISA ve hVISA varlığı olarak değerlendirilmektedir. Teikoplanin MİK değerinin 8’den küçük olması durumunda ise VRSA, VISA ve hVISA şüphesi bulunmamaktadır ve test sonucu negatiftir [127, 141].

4. BULGULAR

4.1. İzolatların İzole Edildiği Klinik Örneklerle Göre Dağılımı

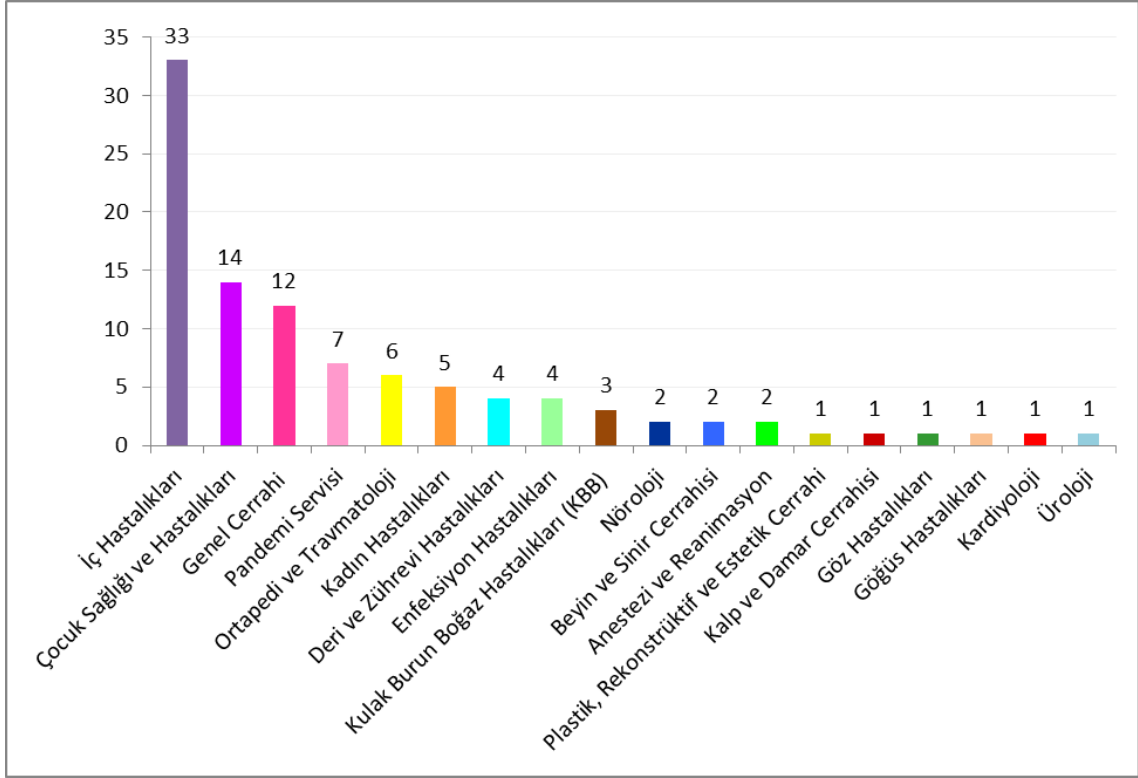
Bu çalışmada Şubat 2023-Temmuz 2023 tarihleri arasında İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarına rutin inceleme için gönderilen cilt/yumuşak doku enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlara ait klinik örneklerden izole edilen 49 MRSA izolatı toplanmıştır. Belirlenen tarih aralığında hedeflenen sayıya ulaşamadığı için sürveyans izolatlarından 51 adet MRSA izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Toplam 100 MRSA izolatının 26'sı cilt ve yumuşak doku örneklerinden, 67'si kan kültüründen, üçü solunum yolları örneklerinden (balgam), ikisi konjonktiva örneklerinden, biri eklem sıvısından, biri de periton sıvısından izole edilmiştir. İzolatların klinik örneklerle göre oranları Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4-1: İzolatların izole edildiği klinik örneklerle göre oranları.

4.2. İzolatların Kliniklere Göre Dağılımı

Çalışmaya dahil edilen tüm MRSA izolatlarının kliniklere göre dağılımı Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

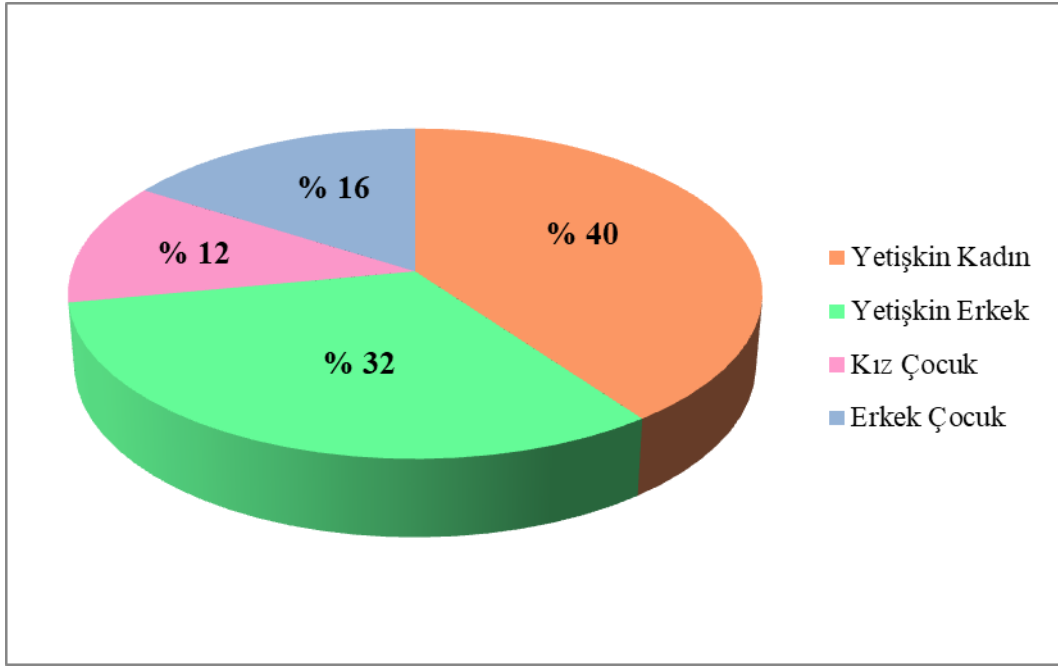


Şekil 4-2: Tüm MRSA izolatlarının kliniklere göre dağılımı.

4.3. Hastaların Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

MRSA izolatlarının izole edildiği hastaların %72’sini yetişkin hastaların, %28’ini çocuk hastaların, %52’sini kadın hastaların, %48’ini erkek hastaların oluşturduğu tespit edilmiştir. Tüm hastalar 0-91 yaş aralığında olup, yetişkin hastaların yaş ortalaması 58 ± 16 , çocuk hastaların yaş ortalaması ise 5 ± 5 ’dir.

Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılım oranları Şekil 4.3’te gösterilmiştir.



Şekil 4-3: Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılım oranları.

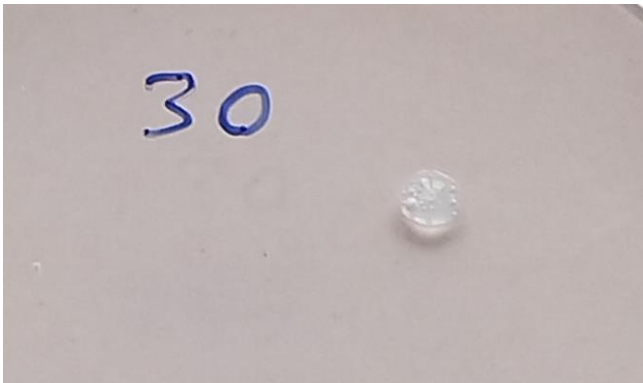
4.4. İzole Edilen Suşların İdentifikasyon Sonuçları

4.4.1. Gram Boyama Sonuçları

Gram boyama yöntemiyle 100 MRSA izolatının preparatları mikroskopik olarak incelendiğinde izolatların tamamının Gram pozitif küme yapmış kok görünümünde olduğu doğrulanmıştır.

4.4.2. Katalaz Testi Sonuçları

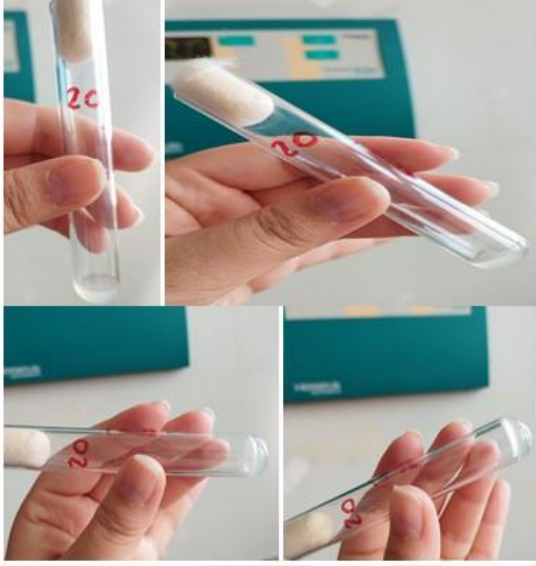
Çalışmaya dahil edilen 100 MRSA izolatının tamamının katalaz testi pozitif olduğu doğrulanmıştır.



Şekil 4-4: Katalaz testi pozitif 30 numaralı izolat.

4.4.3. Plazma Koagülaz Testi Sonuçları

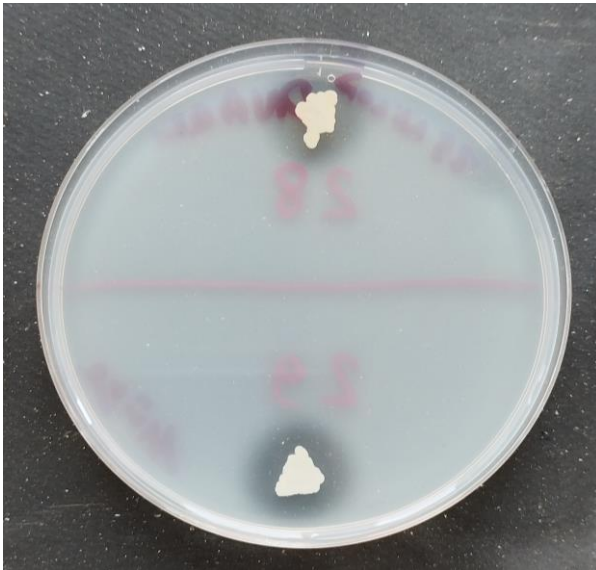
Çalışmaya dahil edilen 100 MRSA izolatının tamamının plazma koagülaz testinin pozitif olduğu doğrulanmıştır.



Şekil 4-5: İnkübasyon süresi sonunda plazma koagülaz testi pozitif 20 numaralı suş.

4.4.4. DNaz Testi Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 100 MRSA izolatının tamamının DNaz testi pozitif olduğu doğrulanmıştır.



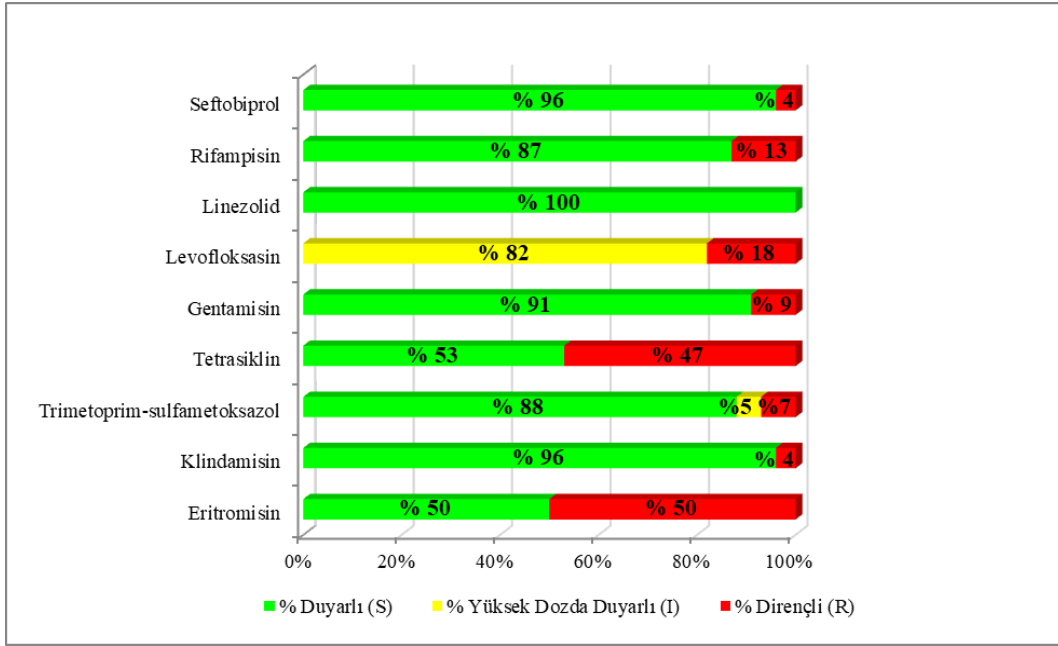
Şekil 4-6: DNaz testi pozitif olan 28 ve 29 numaralı izolatlar.

4.5. Disk Difüzyon Sonuçları

İzole edilen MRSA suşlarının rutin olarak kullanılan antibiyotikler için antibiyotik duyarlılık deneyi sonuçları Tablo 4.1’de ve Şekil 4.7’de belirtilmiştir.

Tablo 4-1: Tüm MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçları.

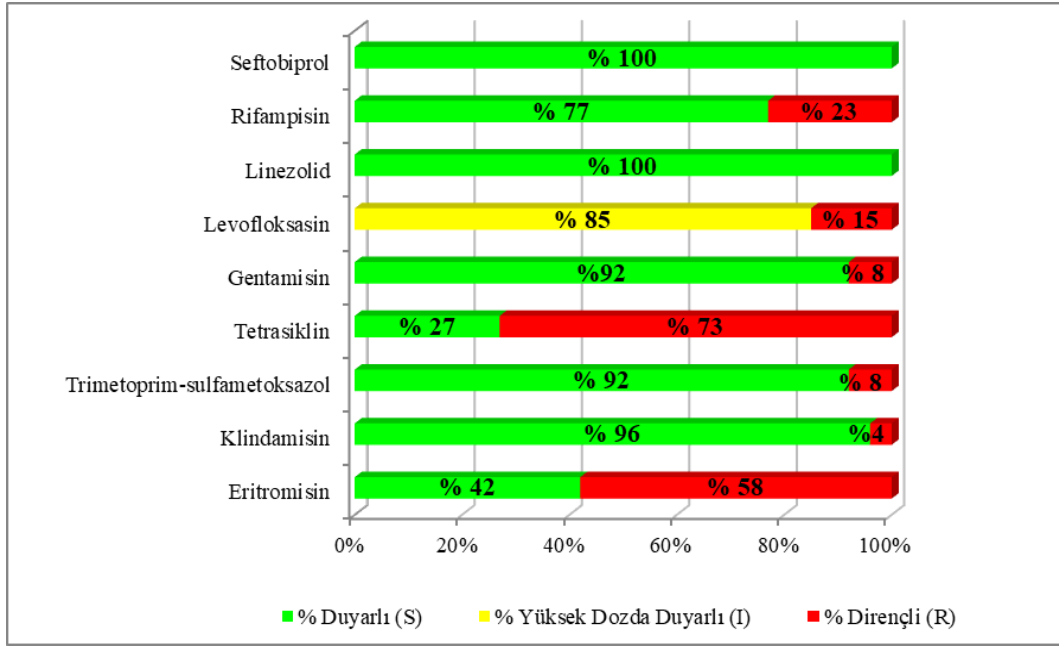
Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Yüksek Dozda Duyarlı (YDD)		Dirençli (R)	
	n	%	n	%	n	%
Penisilin	0	0	0	0	100	100
Eritromisin	50	50	0	0	50	50
Klindamisin	96	96	0	0	4	4
Trimetoprim-sulfametoksazol	88	88	5	5	7	7
Tetrasiklin	53	53	0	0	47	47
Gentamisin	91	91	0	0	9	9
Levofloksasin	0	0	82	82	18	18
Linezolid	100	100	0	0	0	0
Rifampisin	87	87	0	0	13	13
Seftobiprol	96	96	0	0	4	4



Şekil 4-7: Çalışılan tüm MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.

Tablo 4-2: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.

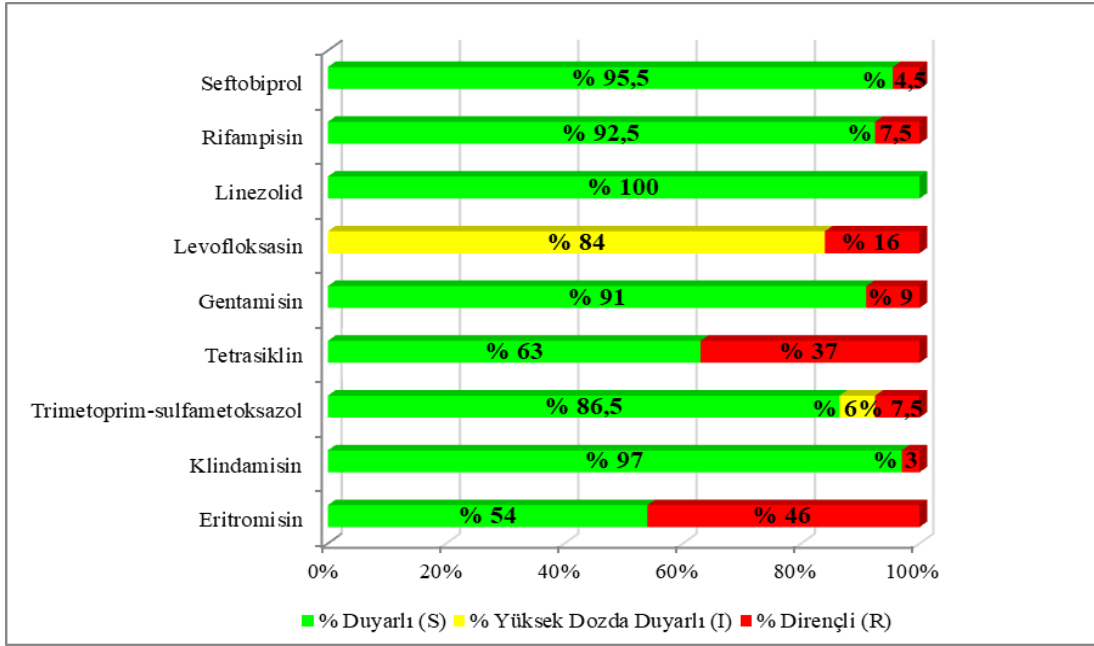
Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Yüksek Dozda Duyarlı (YDD)		Dirençli (R)	
	n	%	n	%	n	%
Penisilin	0	0	0	0	26	100
Eritromisin	11	42	0	0	15	58
Klindamisin	25	96	0	0	1	4
Trimetoprim-sulfametoksazol	24	92	0	0	2	8
Tetrasiklin	7	27	0	0	19	73
Gentamisin	24	92	0	0	2	8
Levofloksasin	0	0	22	85	4	15
Linezolid	100	100	0	0	0	0
Rifampisin	20	77	0	0	6	23
Seftobiprol	26	100	0	0	0	0



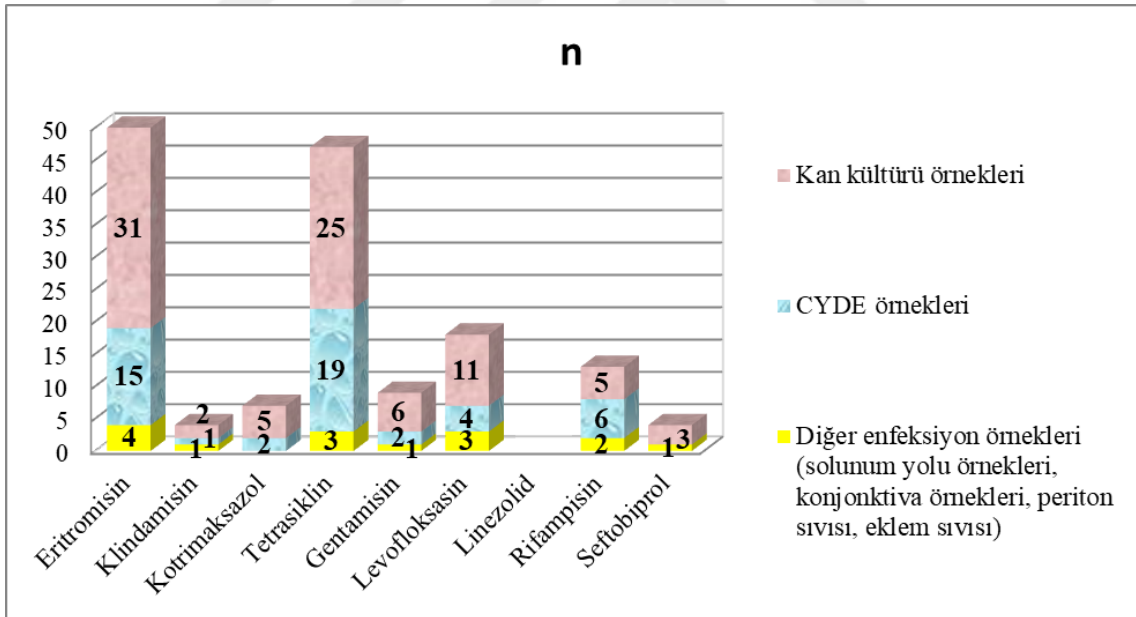
Şekil 4-8: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.

Tablo 4-3: Kan kültüründen izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.

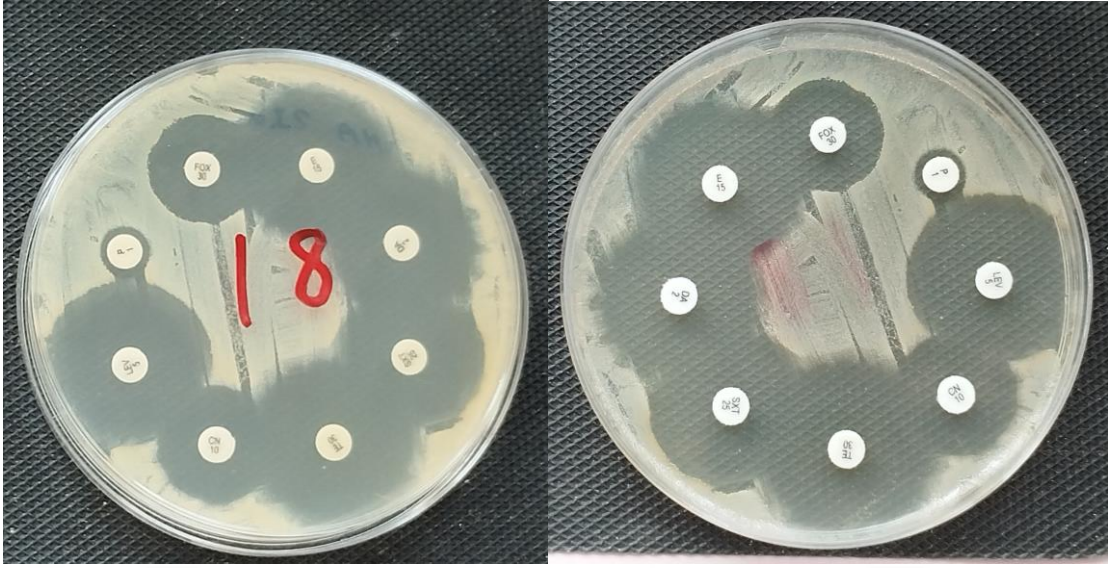
Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Yüksek Dozda Duyarlı (YDD)		Dirençli (R)	
	n	%	n	%	n	%
Penisilin	0	0	0	0	67	100
Eritromisin	36	54	0	0	31	46
Klindamisin	65	97	0	0	2	3
Trimetoprim-sulfametoksazol	58	86,5	4	6	5	7,5
Tetrasiklin	42	63	0	0	25	37
Gentamisin	61	91	0	0	6	9
Levofloksasin	0	0	56	84	11	16
Linezolid	67	100	0	0	0	0
Rifampisin	62	92,5	0	0	5	7,5
Seftobiprol	64	95,5	0	0	3	4,5



Şekil 4-9: Kan kültüründen izole edilen MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotiklere duyarlılık sonuçları.



Şekil 4-10: Klinik örneklere göre disk difüzyon sonuçlarında antibiyotiklere dirençli MRSA izolat sayıları.



Şekil 4-11: Disk difüzyon deneyine ait örnek plak (18 numaralı izolat).

4.6. D-Zon Testi Sonuçları

Çalışmada klinik örneklerden izole edilen tüm MRSA izolatlarının % 42'sinde D-zon testi pozitif bulunmuştur. D-zon testi pozitif bulunan izolatlar, eritromisine (E) dirençli ve klindamisine (DA) duyarlı olup diskler arasında D-zonu meydana getirerek iMLS_b fenotipi oluşmuştur. Tüm MRSA izolatlarının % 42'si iMLS_b, % 4'ü cMLS_b, % 4'ü MS_b fenotipi olarak izolatların %50'si ise hem eritromisine hem klindamisine duyarlı olarak bulunmuştur.

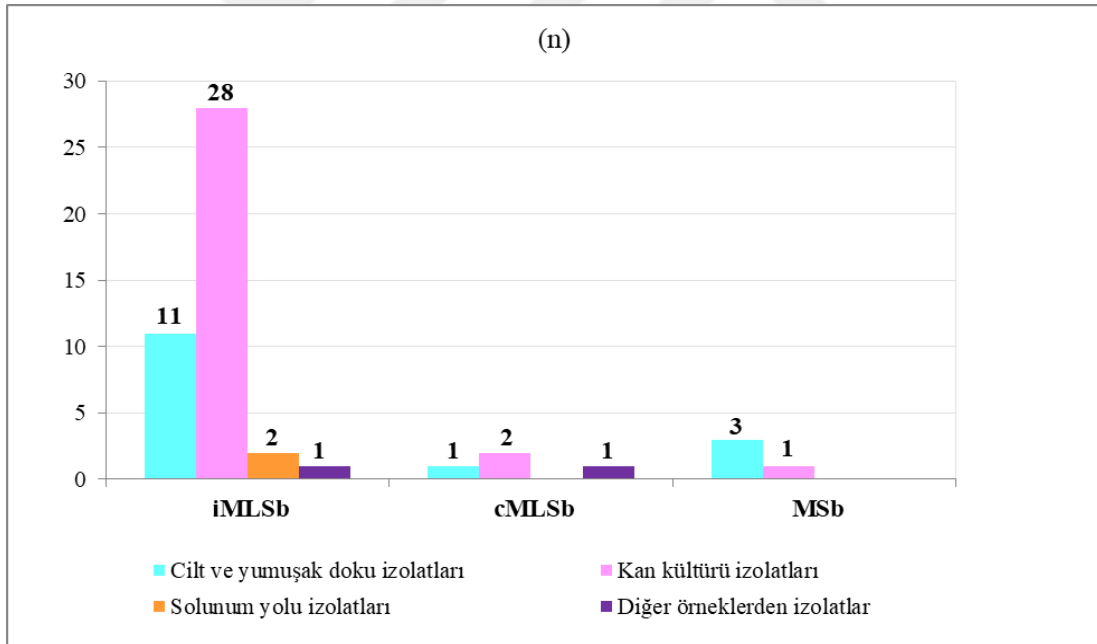


Şekil 4-12: D-zon testi pozitif olan örnek çalışma.

Tablo 4-4: MRSA izolatlarında klinik örneklere göre iMLS_b, cMLS_b, MS_b fenotipleri.

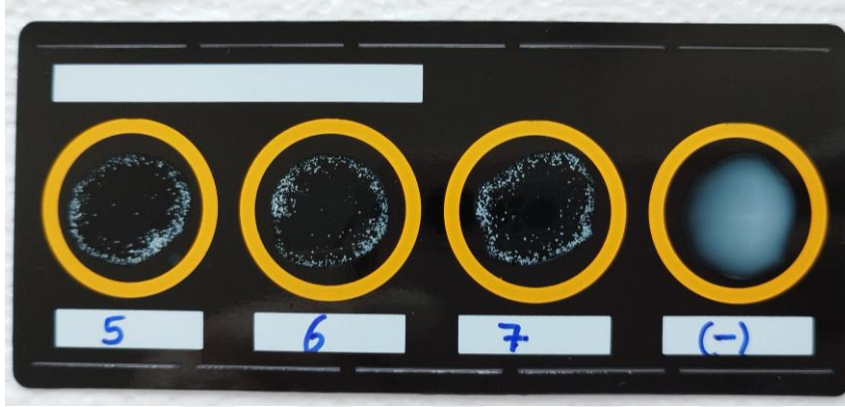
Örnek türleri	iMLS _b	cMLS _b	MS _b
Cilt ve yumuşak doku izolatları (n=26)	11	1	3
Kan kültürü izolatları (n=67)	28	2	1
Solunum yolu izolatları (n=3)	2	0	0
Diğer örneklerden izolatlar (n=4)	1	1	0
Toplam MRSA izolatı (n=100)	%42	%4	%4

* Diğer örneklerdeki izolatlar içerisinde yer alan iMLS_b fenotipine sahip olan izolat konjonktiva örneklerinden, cMLS_b fenotipine sahip olan izolat ise periton sıvısından izole edilmiştir.

Şekil 4-13: MRSA izolatlarında klinik örneklere göre iMLS_b, cMLS_b, MS_b fenotipleri.

4.7. Penisilin Bağlayan Protein (PBP2'/PBP2a) Lateks Aglütinasyon Test Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen tüm MRSA izolatlarında test kartındaki test dairelerinde aglütinasyonun gerçekleşmesiyle PBP2' (PBP2a) lateks aglütinasyon test sonuçları pozitif bulunmuştur. PBP2' lateks aglütinasyon testine örnek Şekil 4.14'te gösterilmiştir.



Şekil 4-14: PBP2' lateks aglütinasyon test kitine örnek.

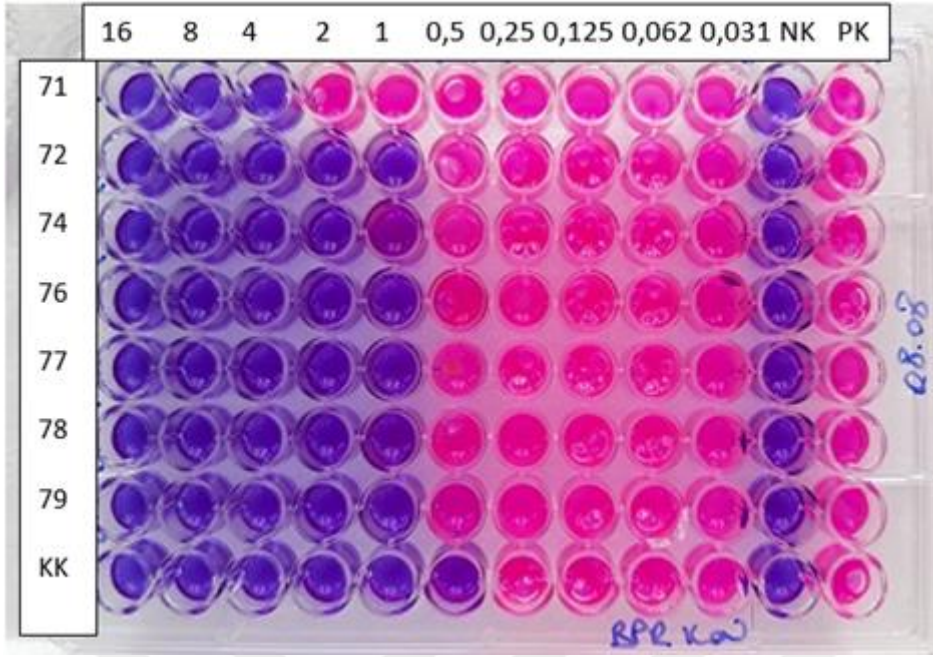
5 , 6 , 7 numaralı MRSA suşlarında daire içinde aglütinasyon (çökelme) gözlenmiş “ (-)” ile gösterilen kontrol dairesi içindeki kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 (MSSA) standart suşunda aglütinasyon (çökelme) gözlenmemiştir.

4.8. Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları

Test edilecek her izolat için BMD deneyi sonucunda mikroplağın yatay sırasında en sağdan başlayarak üremenin olmadığı ilk kuyucukta bulunan antibiyotik konsantrasyonu test edilen suşun MİK değeri olarak değerlendirilmiştir.

4.8.1. Seftobiprol Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları

Çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle MRSA izolatlarının % 4'ü seftobiprole dirençli (MİK: $> 2 \mu\text{g/ml}$), %96 'sı duyarlı (MİK: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$) olarak bulunmuştur. Kan kültürü örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında seftobiprole direnç oranı %4,5 (3/67) bulunmuştur. Periton sıvısı örneğinden izole edilen bir MRSA izolatında seftobiprole direnç bulunmuştur. CYDE, solunum yolu enfeksiyonu, konjonktiva, eklem sıvısı örneklerinden izole edilen tüm MRSA izolatları seftobiprole duyarlı bulunmuştur. MRSA izolatlarında seftobiprol için BMD deneyinin sonucuna ait mikropalak örneği Şekil 4.15'te gösterilmiştir.

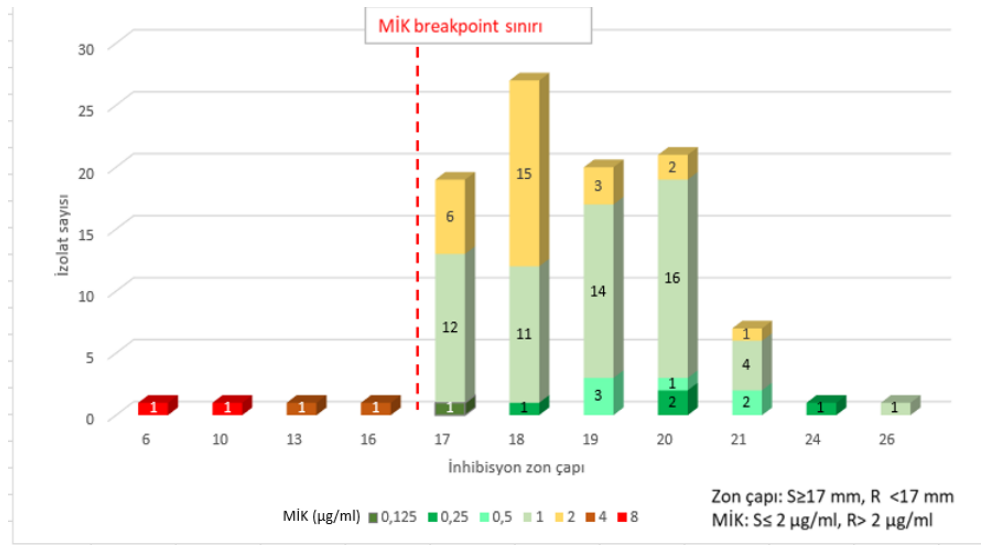


Şekil 4-15: MRSA izolatlarında BPR için mikropak örneği.

BPR: Seftobiprol. (71k nolu izolatin MİK değeri: 4 µg/ml, 72k, 74k, 76k, 77k, 78k, 78k, 79k nolu izolatların MİK değeri: 1 µg/ml, *S. aureus* ATCC MİK değeri: 0, 5 µg/ml)

4.8.1.1. Seftobiprol için zon çapı - MİK değerleri karşılaştırması

Seftobiprol için disk difüzyon testindeki inhibisyon zon çapı değerleri ile mikrodilüsyon testindeki MİK değerleri arasında %100 kategorik uyum saptanmış olup, küçük hata, büyük hata veya çok büyük hata saptanmamıştır [149]. MRSA izolatlarının BPR için disk difüzyon ve MİK değerleri arasındaki ilişkiyi yansıtan grafik Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



Şekil 4-16: BPR için zon çapı ve MİK değerleri karşılaştırması.

Tablo 4-5: BPR-dirençli MRSA izolatlarının DAP ve VAN için MİK değerleri.

İzolat Numaraları	Klinik Örnek Türü	BPR MİK (µg/ml)	DAP MİK (µg/ml)	VAN MİK (µg/ml)
24	Periton Sıvısı	8	1	2
59	Kan Kültürü	8	0,5	2
74	Kan Kültürü	4	0,5	2
90	Kan Kültürü	4	1	2

*BPR: Seftobiprol, DAP: Daptomisin, VAN: Vankomisin.

4.8.2. Daptomisin Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları

Çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle MRSA izolatlarının %4,12 (4/97)'si daptomisine dirençli (MİK: >1 µg/ml) bulunmuştur. EUCAST rehberinde önerilmediğinden, solunum yolu enfeksiyonuna ait örneklerden izole edilen üç MRSA izolatında daptomisin için BMD testi çalışılmamıştır. CYDE örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında daptomisine direnç oranı %7,7 (2/26), kan kültürü örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında daptomisine direnç oranı %1,5 (1/67) bulunmuştur. Eklem sıvısı örneğinden izole edilen bir MRSA izolatında daptomisine direnç bulunmuştur.

Tablo 4-6: DAP-dirençli MRSA izolatlarının BPR ve VAN için MİK değerleri.

İzolat Numaraları	Klinik Örnek Türü	DAP MİK (µg/ml)	BPR MİK (µg/ml)	VAN MİK (µg/ml)
17	Eklem Sıvısı	2	1	1
19	Apse	2	1	0,125
23	Yara Sürüntüsü	2	2	1
49	Kan Kültürü	2	2	2

*BPR: Seftobiprol, DAP: Daptomisin, VAN: Vankomisin.

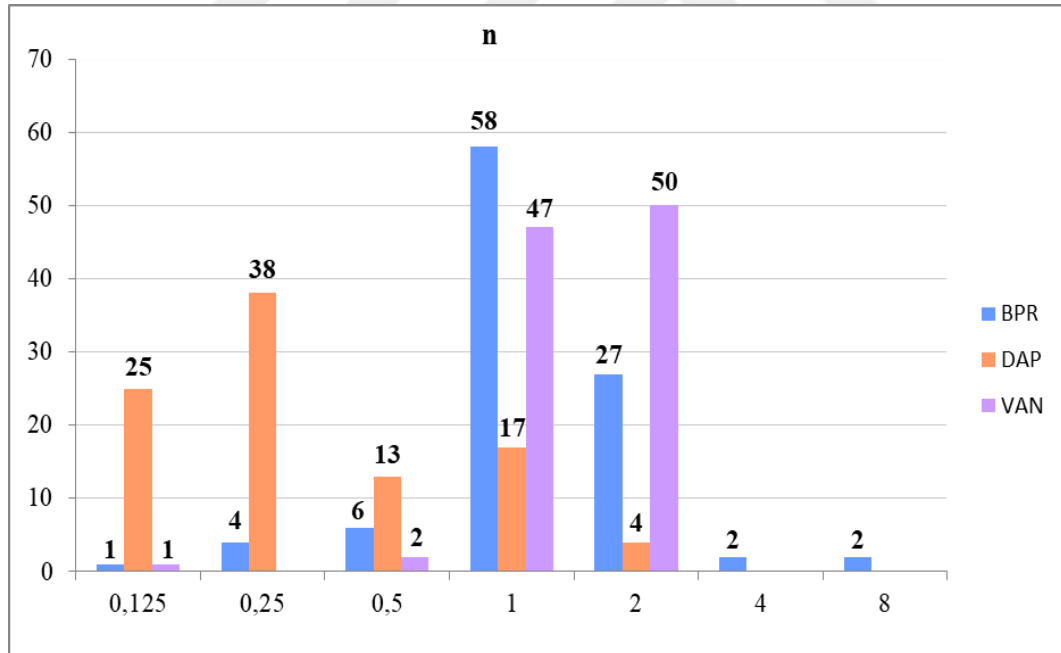
4.8.3. Vankomisin Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları

Çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle MRSA izolatlarının tümü vankomisine duyarlı (MİK: ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur.

Tüm MRSA izolatlarında seftobiprol (BPR), daptomisin (DAP) ve vankomisin (VAN) için MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 4.7’de , MİK dağılımları ise Şekil 4.17’de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: BPR, DAP, VAN için MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri.

MİK değerleri	Seftobiprol	Daptomisin	Vankomisin
MİK aralığı ($\mu\text{g/ml}$)	0,125-8	0,125-2	0,125-2
MİK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	1	0,25	2
MİK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	2	1	2



Şekil 4-17: Tüm MRSA izolatlarında BPR, DAP ve VAN için MİK dağılımları.

BPR: Seftobiprol, DAP: Daptomisin, VAN: Vankomisin.

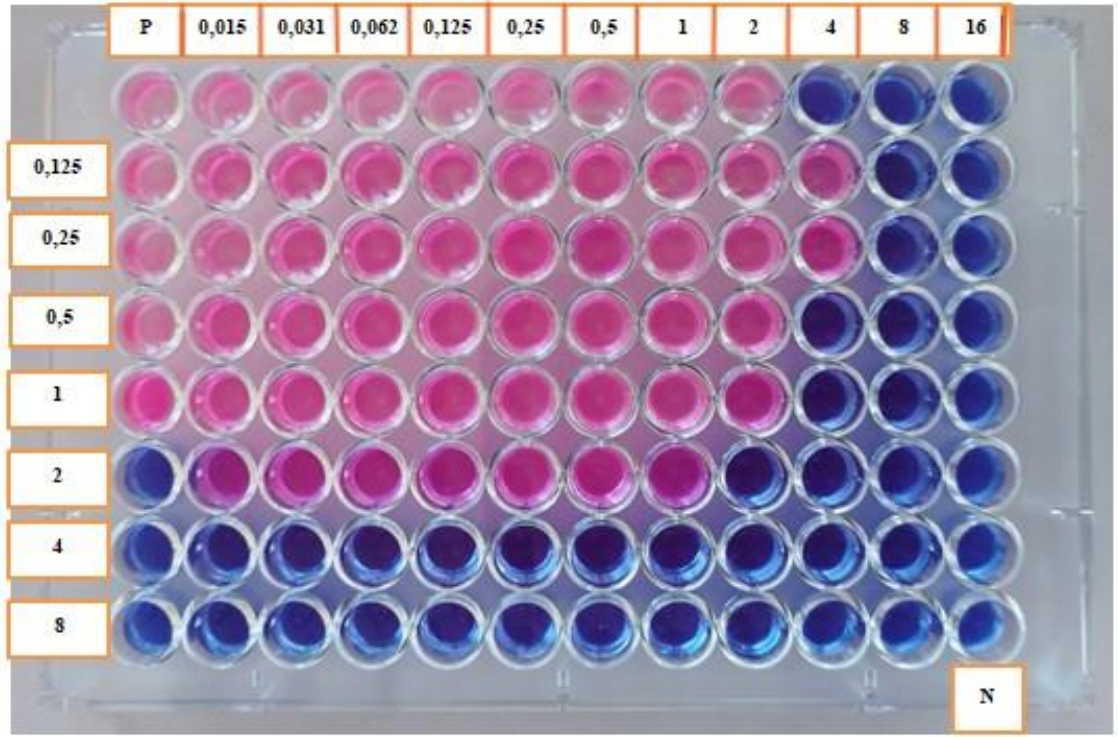
4.9. Dama Tahtası (Checkerboard) Test Sonuçları

Seftobiprole dirençli dört izolatın tümünde, seftobiprol-daptomisin ve seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının her ikisinin de indifferens etki gösterdiği dama tahtası yöntemiyle saptanmıştır.

Tablo 4-8: BPR-VAN kombinasyonun örnek grafik sonuçları.

	BPR MİK (µg/ml)	BPR FİK	VAN MİK (µg/ml)	VAN FİK	ΣFİK (FİK BPR + FİK VAN)	Yorum
A10	4	BPR MİK	0	BPR MİK	BPR MİK	BPR MİK
B11	8	2	0,125	0,06	2,06	İND
C11	8	2	0,25	0,125	2,125	İND
D10	4	1	0,5	0,25	1,25	İND
E10	4	1	1	0,5	1,5	İND
F9	2	0,5	2	1	1,5	İND
F1	0	VAN MİK	2	VAN MİK	VAN MİK	VAN MİK

*BPR: Seftobiprol, VAN: Vankomisin, İND: İndifferens.



Şekil 4-18: BPR-VAN kombinasyonuna ait dama tahtası örnek çalışması.

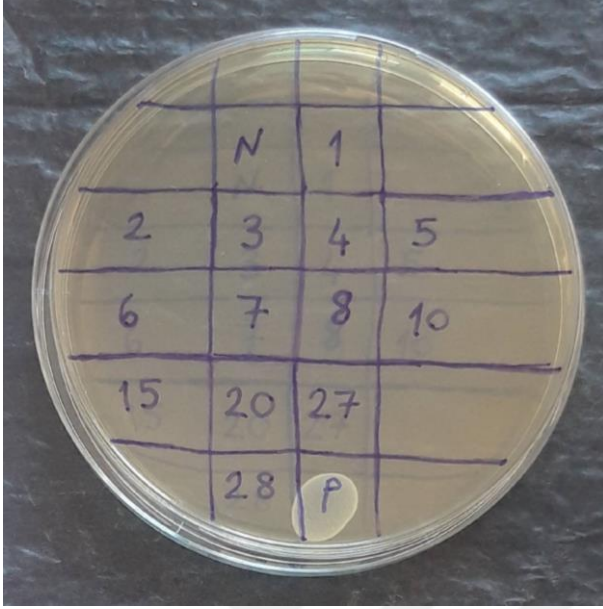
N: Negatif kontrol, P:Pozitif kontrol.

Tablo 4-9: Dama tahtası sonuçları.

Suş No:	Klinik Örnekler	BPR MİK (µg/ml)	DAP MİK (µg/ml)	VAN MİK (µg/ml)	BPR-DAP	BPR-VAN
24	Periton Sıvısı	8	1	2	İND	İND
59	Kan Kültürü	8	0,5	2	İND	İND
74	Kan Kültürü	4	0,5	2	İND	İND
90	Kan Kültürü	4	1	2	İND	İND

4.10. Vankomisin Agar Tarama Sonuçları

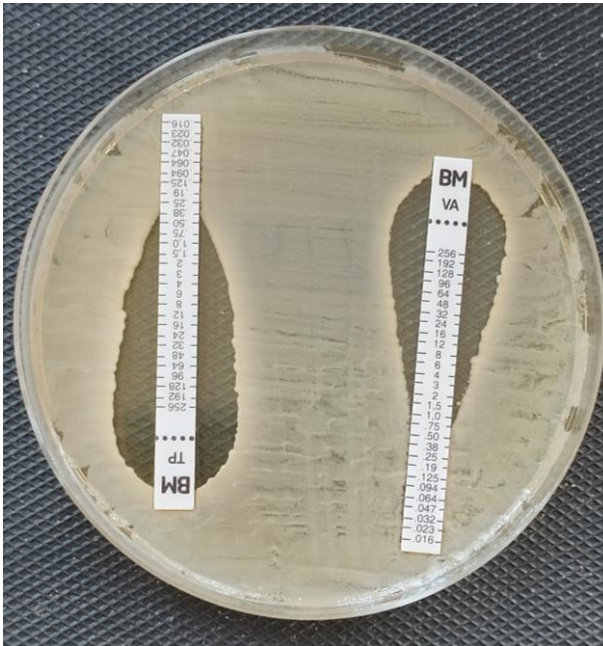
Tüm izolatların inkübasyonu sonunda besiyerinde üreme gözlenmediği için VRSA varlığı saptanmamıştır.



Şekil 4-19: Vankomisin agar tarama yöntemine ait örnek çalışma.

4.11. Makro Gradyent Test Sonuçları

Tüm izolatların vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri $< 8 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuş ve VRSA, VISA, hVISA varlığı saptanmamıştır.



Şekil 4-20: Makro gradiyent test yöntemine ait örnek çalışma.

5. TARTIŞMA

Metisiline dirençli *S. aureus* enfeksiyonları, sıklıkla tedaviyi karmaşık hale getirmekte, önemli tedavi zorluklarına neden olmakta ve yetersiz tedavi, hastanın eşlik eden hastalıkları, altta yatan hastalıkları gibi önemli prognostik kofaktörler nedeniyle MSSA enfeksiyonlarından daha yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olma eğilimindedir. MRSA enfeksiyonları, küresel antibiyotik direnci yükünü artırmakta ve çeşitli çalışmalar, hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonu insidensinin artmasının toplam hastalık yükünü artırdığını göstermektedir [111].

Metisiline dirençli *S. aureus* salgınları, 1980'li ve 1990'lı yıllarda Birleşik Krallık, İrlanda, Avustralya, Uzak Doğu ve ABD de dahil olmak üzere tüm dünyada bildirilmiştir. İngiltere ve Galler'de MRSA'ya bağlı morbidite ve mortalite 1993-2002 yılları arasındaki 10 yıllık bir süre boyunca analiz edilmiş ve MRSA'ya bağlı ölüm oranı 15 kat, bakteriyemi oranı ise 24 kat artış gösterdiği bildirilmiştir [2]. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) 2021 verilerine göre dünyada MRSA oranı % 40 olarak bildirilmiştir [150]. Ülkemizde UAMDSS 2016 verilerine göre MRSA yüzdesi %23,6 olarak saptanmıştır [151]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2021 verilerine göre ülkemizde kan dolaşımı enfeksiyonlarının % 31'inden MRSA izolatları sorumludur [152].

Mevcut çalışmada MRSA izolatları için disk difüzyon testine göre kan kültürü izolatlarında en yüksek direnç oranları sırasıyla eritromisin (% 46) ve tetrasikline (%37); CYDE örneklerindeki izolatlarda ise en yüksek direnç oranları tetrasikline (%73) ve eritromisine (% 58) karşı saptanmıştır. Tüm izolatlar dikkate alındığında en yüksek direnç oranları yine eritromisin (% 50) ve tetrasiklin (% 47) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde Dündar ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada, 2005-2008 yılları arasında ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan çeşitli klinik örneklerden (kan ve santral venöz kateter örnekleri, deri ve yumuşak doku örnekleri, solunum yolu örnekleri, idrar yolu örnekleri, steril vücut sıvıları ve diğer vücut bölgeleri örnekleri) izole edilen 725 MRSA izolatlarında disk difüzyon sonucuna göre en yüksek direnç oranları sırasıyla RA (RIF) % 93,9 (681/725), siprofloksasin

(CIP) % 93,4 (677/725), TE % 93,1 (675/725), CN (GEN) % 81,2 (589/725), E % 57,8 (419/725), DA % 38,5 (279/725) olarak bulunmuş ve direnç oranları, mevcut çalışmadaki antibiyotiklere karşı direnç oranlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [153]. Mevcut çalışmada, tüm izolatlar için en yüksek direnç oranları eritromisin (%50) ve tetrasiklin (%47) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiştir. Eritromisine direnç oranları iMLS_b ve cMLS_b oranlarıyla uyumluk göstermektedir.

Gurung ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 2016 yılında 232 hastadan toplanan 672 klinik örnekten sadece 300 klinik örnekte bakteri üremesi tespit edilmiş olup 39 (%13) MRSA izolatı saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılık deneyinde en yüksek direnç oranları sırasıyla AZM (%29), AMP (%25), CIP (%21), TE (%20), E (%18) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiştir [154]. Gurung'un çalışmasını mevcut çalışmayla kıyasladığımızda mevcut çalışmada disk difüzyon testi için kullanılan antibiyotiklere karşı daha yüksek direnç oranları tespit edilmiş olup en yüksek direnç oranları eritromisin (%50) ve tetrasiklin (%47) antibiyotiklerine karşı olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen tüm MRSA izolatlarının %42'si iMLS_b, %4'ü cMLS_b, %4'ü MS_b fenotipi olarak bulunmuştur. İzolatların yarısı hem eritromisine hem klindamisine duyarlı olarak bulunmuştur. iMLS_b fenotipine sahip olan 42 izolatın 11'i CYDE örneklerinden, 28'i kan kültüründen, ikisi solunum yolu örneklerinden, biri konjonktiva örneklerinden izole edilmiştir. cMLS_b fenotipine sahip olan dört izolatın biri CYDE örneklerinden, ikisi kan kültüründen, biri periton sıvısından izole edilmiştir. MS_b fenotipine sahip olan dört izolatın üçü CYDE örneklerinden, biri kan kültüründen izole edilmiştir.

Hastanemizde Öksüz ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 49 MRSA izolatında iMLS_b direnci araştırılmış ve iMLS_b direnci % 18,4 olarak saptanmıştır [155]. Mevcut çalışmada ise daha yüksek oranda iMLS_b (% 42) fenotipi bulunmuştur. On yıllık süreçte meydana gelen bu iki kattan fazla artışın yavaş olmakla beraber endişe verici olduğu düşünülmektedir.

Nepal'de yapılan bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen 39 MRSA izolatının %15,4'ünde iMLS_b, % 12,8'inde cMLS_b, % 38,5'inde MS_b fenotip bildirilmiş olup izolatların % 33,3'ü ise hem eritromisine hem klindamisine duyarlı olarak bildirilmiştir [154]. Yapılan çalışma mevcut çalışmayla kıyaslandığında mevcut

çalışmada daha yüksek oranda iMLS_b (% 42) direnci bulunmuş olup cMLS_b (% 4) ve MS_b (% 4) fenotipleri ise daha düşük oranda bulunmuştur. Bunun nedeni, ülkemizde özellikle CYDE’unda makrolidlerinin yaygın olarak kullanılması olabilir.

Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin (IDSA) 2011 kılavuzu, MRSA tedavisi için vankomisini veya daptomisini önermektedir [156]. Vankomisin, hücre duvarı sentezini engelleyerek bakterisidal etki göstermektedir [6]. Ancak çoğu antimikrobiyal ajanın sınırlamalarında olduğu gibi bakterisidal aktivitenin yavaş olması, düşük doku penetrasyonu ve artan direnç raporları dahil olmak üzere çeşitli sorunlar vankomisinin kullanımını kısıtlamaktadır [156]. Tüm dünyada CDC 2021 verilerine göre % 0,1 oranında VRSA saptanmıştır [28].

VRSA, VISA ve hVISA prevalansının tüm dünyada değişim eğilimlerini analiz etmek için iki dönemi (2010 öncesi ve 2010-2019 arası) içeren bir alt grup analizinin gerçekleştirildiği çalışmada, 2010 yılı öncesinde prevalans sırasıyla % 1,2 VRSA, % 1,2 VISA, % 4 hVISA olarak tespit edilmiştir. VRSA, VISA ve hVISA prevalansı giderek yükselerek 2010-2019 yılları arasında sırasıyla % 2,4’e, % 4,3’e ve % 5,3’e ulaştığı saptanmıştır [125].

Mevcut çalışmada BMD yöntemiyle tüm MRSA izolatları vankomisine duyarlı (MİK: ≤ 2 µg/ml) bulunmuştur. MRSA izolatlarında VAN için MİK aralığı 0,125-2 µg/ml olup hem MİK₅₀ hem MİK₉₀ değerleri 2 µg/ml bulunmuştur. Bu çalışmada VRSA, VISA ve hVISA suşlarının saptanmaması hastanemizdeki hastane enfeksiyonu kontrol önlemlerinin düzenli olarak uygulanmasına ve enfeksiyon yönetiminin uygun şekilde düzenlenmesine bağlanabilir, ancak MİK₉₀ değerlerinin sınırda olması direnç gelişimi açısından endişe yaratmaktadır.

Hastanemizde Öksüz ve arkadaşı tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada, 2007-2009 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden (kan, apse, cerahat, steril vücut sıvıları, idrar vb.) izole edilen 49 MRSA izolatında VAN aktivitesi mevcut çalışmadan farklı olarak gradient test yöntemi ile çalışılmış ve mevcut çalışmayla uyumlu olarak izolatların tamamı duyarlı bulunmuştur. MRSA izolatlarının VAN için hem MİK₅₀ hem MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmaya yakın olarak 1,5 µg/ml olarak bulunmuş ve on yıllık süreçteki bu artış, yavaş ilerleyen ama dikkat edilmesi gereken bir sonuç olarak değerlendirilmiştir [155].

Hastanemizde Aktaş tarafından yapılan bir çalışmada, kan, cerahat, balgam ve idrar gibi örneklerden (n=25) izole edilen MRSA suşlarındaki vankomisin *in vitro* etkinliği mevcut çalışmadan farklı olarak E-test yöntemi ile araştırılmış olup mevcut çalışmayla uyumlu olarak tüm izolatların vankomisine duyarlı olduğu saptanmış ve VAN için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,75 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur [157]. Bu çalışmada suş sayısının çok az olması gerçek bir değerlendirme yapılmasına engel teşkil etmektedir.

Fransa’da 2010-2014 arasında bronkopulmoner enfeksiyonlardan izole edilen toplam 440 *S. aureus* suşun 115’i MRSA olarak saptanmış ve tüm MRSA izolatları vankomisine duyarlı bulunmuştur [133]. Mevcut çalışmada da solunum yolu örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarının tümü vankomisine duyarlı bulunmuştur. MRSA izolatlarının VAN için hem MİK₅₀ hem MİK₉₀ değerleri ise mevcut çalışmadan farklı olarak 1 µg/ml bulunmuştur [133].

Amerika Birleşik Devletleri’nde 2016-2018 yılları arasında yapılan çalışmada cilt ve yumuşak doku örneklerinden izole edilen 1.643 MRSA izolatlarında VAN aktivitesi araştırılmış, vankomisine direnç saptanmamıştır [18].

Çin’de yapılan bir çalışmada kan dolaşımı enfeksiyonlarına ait örneklerden izole edilen MRSA izolatlarında (n=289) VAN aktivitesi araştırılmış ve izolatların tamamı mevcut çalışmada olduğu gibi vankomisine duyarlı bulunmuş ve VAN için hem MİK₅₀ hem MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak 1 µg/ml bulunmuştur [158].

Avrupa’da 17 ülkedeki tıp merkezlerinde kanıtlanmış enfeksiyonu olan hastalardan 2016-2019 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada toplam 20.000 bakteri izolatı toplanmış, bunların arasındaki MRSA izolatlarının (n=3502) % 99,9’u vankomisine duyarlı bulunmuş, VAN için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,5 µg/ml ve 1 µg/ml olduğu tespit edilmiştir [19].

Daptomisin, MRSA bakteriyemisine karşı etkili olsa da, tedaviyle ortaya çıkan duyarlılığın azalması endişe verici olup önceden vankomisin tedavisi uygulanmasının *S. aureus*’ta daptomisine direnci teşvik edebileceği bildirilmiştir [156]. Tüm dünyada CDC 2021 verilerine göre % 0,4 oranında daptomisine dirençli MRSA saptanmıştır [159].

Bu çalışmada, tüm MRSA izolatlarında BMD yöntemiyle DAP için MİK aralığı 0,125-2 µg/ml olup MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 0,25 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuş ve MRSA izolatlarının % 4,12 (4/97)'si daptomisine dirençli (MİK: >1 µg/ml) bulunmuştur. Solunum yolu enfeksiyonuna ait örneklerden izole edilen üç MRSA izolatında EUCAST rehberinde önerilmediğinden daptomisin çalışılmamıştır. CYDE örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında daptomisine direnç oranı % 7,7 (2/26), kan kültüründen izole edilen MRSA izolatlarında daptomisine direnç oranı % 1,5 (1/67) bulunmuştur. Kan kültüründen izolatların daha düşük oranda daptomisine dirençli olması sevindirici bir bulgudur. Mevcut çalışmada, ikisi cilt ve yumuşak dokudan (19 ve 23 numaralı suşlar), biri eklem sıvısından (17 numaralı suş), biri kan kültüründen (49 numaralı suş) izole edilen toplam dört daptomisine dirençli MRSA izolatı saptanmıştır. Eklem sıvısı örneğinin izole edildiği yetişkin erkek hastanın önceden sefazolin kullanımı olduğu saptanmıştır. Apse örneği olan 19 numaralı suşun izole edildiği epilepsi nedeniyle temporal lobektomi yapılan yetişkin kadın hastanın önceden vankomisin kullanımı olduğu tespit edilmiştir. Yara örneği olan 23 numaralı suşun izole edildiği yetişkin erkek hastanın uzun süredir alerjik kontakt dermatiti olduğu bilinmesine rağmen antibiyotik kullanımı hakkında bilgi edinilememiştir. Daptomisine dirençli suşların izole edildiği hastaların önceden beta laktam kullanımının mevcut olması antibiyotik seçiminde selektif antibiyotik kullanımı kurallarına dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Hastanemizde 2013 yılında yapılan çalışmada, çeşitli klinik örneklerden (kan, apse, cerahat, steril vücut sıvıları, idrar vb.) izole edilen 49 MRSA izolatında DAP aktivitesi mevcut çalışmadan farklı olarak gradiyent test yöntemiyle çalışılmış ve izolatların tamamı duyarlı bulunmuştur. Mevcut çalışmada ise MRSA izolatlarında daptomisine direnç oranı % 4,12 bulunmuştur. MRSA izolatlarının DAP için MİK₅₀ değeri (0,25 µg/ml) mevcut çalışmayla uyumlu bulunmuş ancak MİK₉₀ değeri mevcut çalışmadan farklı olarak 0,50 µg/ml bulunmuştur [155]. DAP'ın kullanıma girmesini takiben yapılan çalışmada direncin saptanmaması nispeten beklenen bir sonuçtur, ama zaman geçtikçe ve tedavi seçenekleri azaldıkça kullanımı zorunlu kılan yeni antibiyotiklere direnç gelişmesi olasılığının mevcut olduğu bilinen bir gerçektir.

Hastanemizde Aktaş tarafından yapılan çalışmada, kan, cerahat, balgam ve idrar gibi örneklerden izole edilen MRSA suşlarındaki (n=25) daptomisinin *in vitro* etkinliği mevcut çalışmadan farklı olarak gradiyent test yöntemi ile araştırılmış olup tüm isolatlar daptomisine duyarlı bulunmuştur [157]. Mevcut çalışmada ise klinik örneklerden izole edilen isolatlarda daptomisine direnç oranı % 4,12 bulunmuştur. MRSA suşlarının DAP için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,38 µg/ml ve 0,75 µg/ml olarak tespit edilmiştir [157]. 2016 yılına ait suşları kapsayan Aktaş'ın çalışmasında az sayıda da olsa tüm suşların DAP'e duyarlı olması, direncin yakın zamanda geliştiğini göstermektedir.

Flamm ve arkadaşları tarafından 2016-2018 yılları arasında yapılan çalışmada cilt ve yumuşak doku örneklerinden izole edilen 1.643 MRSA izolatında DAP aktivitesi araştırılmış ve daptomisine direnç saptanmamıştır [18]. Oysa mevcut çalışmada CYDE isolatlarında DAP'a direnç oranı Flamm'ın çalışmasından farklı olarak oldukça yüksek (%7,7) bulunmuştur. Bunun nedeni suşların izole edildiği hastaların altta yatan hastalıklarının ve önceden antibiyotik kullanımının mevcut olması olabilir.

Canton ve arkadaşları tarafından 2016-2019 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada toplam 20.000 bakteri izolatu toplanmış, MRSA isolatlarının (n=3502) % 0,5'i daptomisine dirençli bulunmuştur [19]. Bu oranın mevcut çalışmadaki direnç oranına (% 4,12) göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, kan dolaşımı enfeksiyonlarına ait örneklerden izole edilen MRSA isolatlarının (n=289) DAP aktivitesi araştırılmış ve daptomisine direnç oranı % 0,4 bulunmuştur. MRSA isolatlarının DAP için $MİK_{50}$ değeri mevcut çalışmadan farklı olarak 0,5 µg/ml bulunmuş, $MİK_{90}$ değeri (1 µg/ml) ise mevcut çalışmayla uyumlu bulunmuştur [158]. Mevcut çalışmada, kan kültüründen izole edilen MRSA isolatlarında daptomisine direnç oranı %1,5 (1/67) bulunmuş olup Li'nin çalışmasındaki daptomisine direnç oranından daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Morbidite ve mortalite göz önüne alındığında ve halihazırda onaylanmış tedavilerin sınırlamaları göz önüne alındığında, MRSA tedavisi için alternatif ajanların belirlenmesine ihtiyaç vardır [156]. Bu nedenle bu çalışmada 5. kuşak sefalosporin olan seftobiprolün MRSA isolatları üzerine etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışma yakın zamanda bazı ülkelerde seftobiprole direnç bildirilmesi üzerine planlanmıştır.

Mevcut çalışmada BMD yöntemiyle tüm MRSA izolatlarının BPR için MİK aralığı 0,125-8 µg/ml olup MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 2 µg/ml bulunmuş ve MRSA izolatlarının %4 (4/100)'ü seftobiprole dirençli (MİK: > 2 µg/ml) bulunmuştur. Kan kültürü örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında seftobiprole direnç oranı %4,5 (3/67) bulunmuştur. Periton sıvısı örneğinden izole edilen bir MRSA izolatında seftobiprole direnç bulunmuştur. CYDE, solunum yolu enfeksiyonu, konjonktiva, eklem sıvısı örneklerinden izole edilen tüm MRSA izolatları seftobiprole duyarlı bulunmuştur. Bu çalışmada, üçü kan kültüründen (59, 74, 90 numaralı suşlar), biri periton sıvısından (24 numaralı suş) izole edilen toplam dört seftobiprole dirençli MRSA izolatı saptanmıştır. Periton sıvısı örneği olan 24 numaralı suşun izole edildiği yetişkin erkek hastanın tıbbi geçmişinde akut kolesistit ve karaciğer kisthidatiği nedeniyle hastanede yattığı ve seftriakson (CRO), ampisilin/sulbaktam (SAM), vankomisin, meropenem (MEM) gibi beta laktam antibiyotikleri kullandığı saptanmıştır. Birçok çalışmada da beta laktam kullanımının ardından direnç gelişiminin gerçekleştiği belirtilmiştir. Kan kültüründen izole edilen 59 numaralı suşun izole edildiği 16 aylık erkek hastanın iki aylıkken sepsis nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesinde kaldığı, altı aylıkken yarık damak sebebi ile opere olduğu, sekiz aylıkken pnömoni geçirdiği saptanmasına rağmen hasta kayıtlarında kullandığı antibiyotik bilgilerine ulaşılmamıştır. Kan kültürü örneği olan 74 numaralı suşun izole edildiği menenjit tanılı yetişkin kadın hastanın MRSA üremesinden önce pnömoni nedeniyle vankomisin ve seftriakson tedavisi aldığı saptanmıştır.

Ülkemizde seftobiprolün *in vitro* aktivitesi ile ilgili yayın sayısı azdır. Örneğin bir tez çalışmasında, seftobiprolün enterokoklar üzerine etkinliği araştırılmış ve izolatların hiçbirisinde daptomisine karşı direnç saptanmamıştır. Seftobiprol, *E. faecalis* izolatlarına aktivite gösterirken, *E. faecium* izolatlarına karşı aktivite göstermediği tespit edilmiştir [160]. Yapılan çalışmada *Enterococcus* spp. izolatları için duyarlılık sonuçları bulunmasına rağmen 2023 EUCAST rehberinde seftobiprolün enterokoklara uygun bir antibiyotik olmadığı ve bu nedenle antibiyotik duyarlılık testlerinin önerilmediği belirtilmiştir [140].

Mevcut çalışma dışında ülkemizde Mirza ve arkadaşları tarafından yakın zamanda yapılan çalışmada klinik örneklerden (yara, apse, doku, kan, idrar, balgam, trakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj) izole edilen toplam 100 MRSA izolatında BPR

aktivitesi mevcut çalışmadan farklı olarak gradiyent test yöntemiyle çalışılmış ve bizimkiyle birebir uyumlu olarak seftobiprole % 96 oranında duyarlılık saptanmış, BPR için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 1,5 µg/ml bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları mevcut çalışmayla kıyaslandığında, MİK₅₀ değerleri (1 µg/ml) açısından da uyumlu olduğu bulunmuştur [161].

Hastanemizde yapılan bir çalışmada, klinik örneklerden izole edilen MRSA izolatlarındaki (n=25) seftobiprolün *in vitro* etkinliği mevcut çalışmadan farklı olarak gradiyent test yöntemi ile araştırılmış olup tüm izolatlar seftobiprole duyarlı bulunmuştur [157]. Ancak suş sayısının azlığı gerçeği yansıtmayabilir. Mevcut çalışmada ise tüm MRSA izolatlarında direnç oranı % 4 bulunmuştur. MRSA izolatlarının BPR için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,75 µg/ml ve 1 µg/ml olarak bildirilmiştir [157].

Yurt dışındaki çalışmalara bakıldığında, Pfaller ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 2016-2017 arasında ABD’de kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan 558 MRSA izolatının % 99,3’ü seftobiprole duyarlı bulunmuştur [162]. Mevcut çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen MRSA izolatlarındaki direnç oranının (% 4,5) daha nispeten yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun nedeninin BPR dirençli suşların izole edildiği hastalarda önceden kullanılan beta laktam antibiyotiklere bağlı olduğu düşünülmüştür.

Avrupa sürveyans çalışmasında 2015 yılında ülkemizi de kapsayan 18 ülkedeki Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri içeren toplam 12.240 izolatta seftobiprolün antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. İzolatlar, ortak bir sürveyans tasarımına göre öncelikle kan dolaşımı enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları (CYDE), pnömoniler, idrar yolu enfeksiyonları ve intra-abdominal enfeksiyonları olan hastanede yatan hastalardan izole edilmiştir. Avrupa sürveyans çalışmasının *in vitro* sonuçları, seftobiprolün klinik açıdan önemli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı *in vitro* olarak aktif olduğunu göstermektedir. Klinik örneklerden izole edilen 579 MRSA izolatı seftobiprole % 96,5 duyarlı (MİK₅₀:2 µg/ml , MİK₉₀:2 µg/ml) olarak bulunmuştur [163]. Yapılan çalışmanın sonuçları mevcut çalışma verileriyle kıyaslandığında, mevcut çalışmada tüm MRSA izolatlarında seftobiprole direnç oranı % 4 bulunmuş ve MİK₉₀ değeri (2 µg/ml) mevcut çalışmayla uyumlu bulunmuş ancak MİK₅₀ değeri mevcut çalışmadan farklı olarak 1 µg/ml bulunmuştur.

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2016-2018 yılları arasında CYDE örneklerinden izole edilen 7300'den fazla klinik izolatta (1643'ü MRSA) BPR aktivitesi çalışılmış, izole edilen MRSA izolatlarının % 99,4'ü seftobiprole duyarlı bulunmuştur [18]. Mevcut çalışmada cilt ve yumuşak doku örneklerinden izole edilen suşlarda (n=26) seftobiprole direnç saptanmamıştır. Bu, hastanemizde MRSA'nın etken olduğu CYDE'lerinde seftobiprolün kullanılmamasına bağlı olabilir.

Avrupa'da 17 ülkedeki tıp merkezlerinde kanıtlanmış enfeksiyonu olan hastalardan 2016-2019 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada toplam 20.000 bakteri izolatu toplanmış, MRSA izolatlarının (n=3502) % 0,5'i seftobiprole dirençli bulunmuştur. Bu oran mevcut çalışmaya göre oldukça düşük olup seftobiprole dirençli izolatlarının çoğunun İtalya ve Rusya kökenli olduğu belirtilmiştir [19]. BPR dirençli suş oranımızın nispeten yüksek olmasında, çalışma dönemimizin pandemi dönemini kapsaması ve dirençli suşların izole edildiği hastaların önceden antibiyotik kullanımının olması etkili olabilir.

Fransa'da 2010-2014 arasında bronkopulmoner enfeksiyonlarından izole edilen 440 *S. aureus* suşunun 115'i (%26) MRSA olarak saptanmış ve MRSA izolatları seftobiprole % 99,1 oranında duyarlı bulunmuştur [164]. Mevcut çalışmada ise, solunum yolu örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarının tümü sevindirici bir şekilde seftobiprole duyarlı bulunmuştur. MRSA izolatlarının BPR için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,5 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur [164].

Antimikrobiyal sürveyans programında (SENTRY), 2005–2010 yılları arasında Avrupa, Türkiye ve İsrail'den toplanan 15.426 *S. aureus* klinik izolatının 4.147'sinin (%27) MRSA izolatu olduğu ve mevcut çalışmadaki seftobiprole direnç oranına (%4) göre daha düşük olarak % 1,7'sinin dirençli olduğu bulunmuştur [165].

İrlanda ve Birleşik Krallık'ta kan kültürlerinden izole edilen MRSA izolatlarındaki (n= 234) seftobiprolün *in vitro* etkinliği mevcut çalışmadan farklı olarak agar dilüsyon yöntemiyle araştırılmış olup tüm izolatlar seftobiprole duyarlı bulunmuştur [166]. Mevcut çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen MRSA izolatlarındaki direnç oranı %4,5 olarak bulunmuştur.

Rouse ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, infeksiyeli endokardit (n=37 MRSA) , kemik ve eklem enfeksiyonu (n=31 MRSA) izolatlarında BPR aktivitesi araştırılmış, tüm MRSA izolatları seftobiprole duyarlı bulunmuştur. MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak 2 µg/ml bulunmuştur [167].

Amerika Birleşik Devletleri'nde klinik örneklerden izole edilen MRSA izolatlarındaki (n=20) BPR *in vitro* etkinliği BMD ile araştırılmış ve tüm izolatlar seftobiprole duyarlı bulunmuştur. İzolatların MİK aralığı mevcut çalışmadan farklı olarak 0,25-2 µg/ml ve MİK₉₀ değeri mevcut çalışmayla uyumlu olarak 2 µg/ml bulunmuştur [21]. Mevcut çalışmada tüm izolatlarda direnç oranı % 4 bulunmuştur.

İtalya'da 2017-2018 yılları arasında çeşitli örneklerden izole edilen 102 MRSA izolatında BPR aktivitesi BMD yöntemi ile araştırılmış, seftobiprole direnç oranı % 12 olarak bulunmuştur. İzolatların MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 4 µg/ml bulunmuştur [168]. Yapılan çalışmadaki direnç oranı, mevcut çalışmadaki direnç oranına (%4) göre oldukça yüksek bulunmuştur. Çalışmadaki MRSA izolatlarının MİK₅₀ değeri 1 µg/ml olarak mevcut çalışmayla uyumlu bulunmuş ancak MİK₉₀ değeri mevcut çalışmadan farklı olarak daha yüksek ve 4 µg/ml olarak bulunmuştur.

Afrika'da yapılan bir çalışmada örneklerden izole edilen 60 MRSA izolatında BPR etkinliği BMD yöntemi ile araştırılmış, seftobiprole direnç oranı % 15 bulunmuştur [169]. Yapılan çalışmadaki direnç oranı, mevcut çalışmadaki direnç oranına (% 4) göre oldukça yüksek bulunmuştur ve literatürdeki en yüksek BPR direnç oranı bildiren çalışmadır.

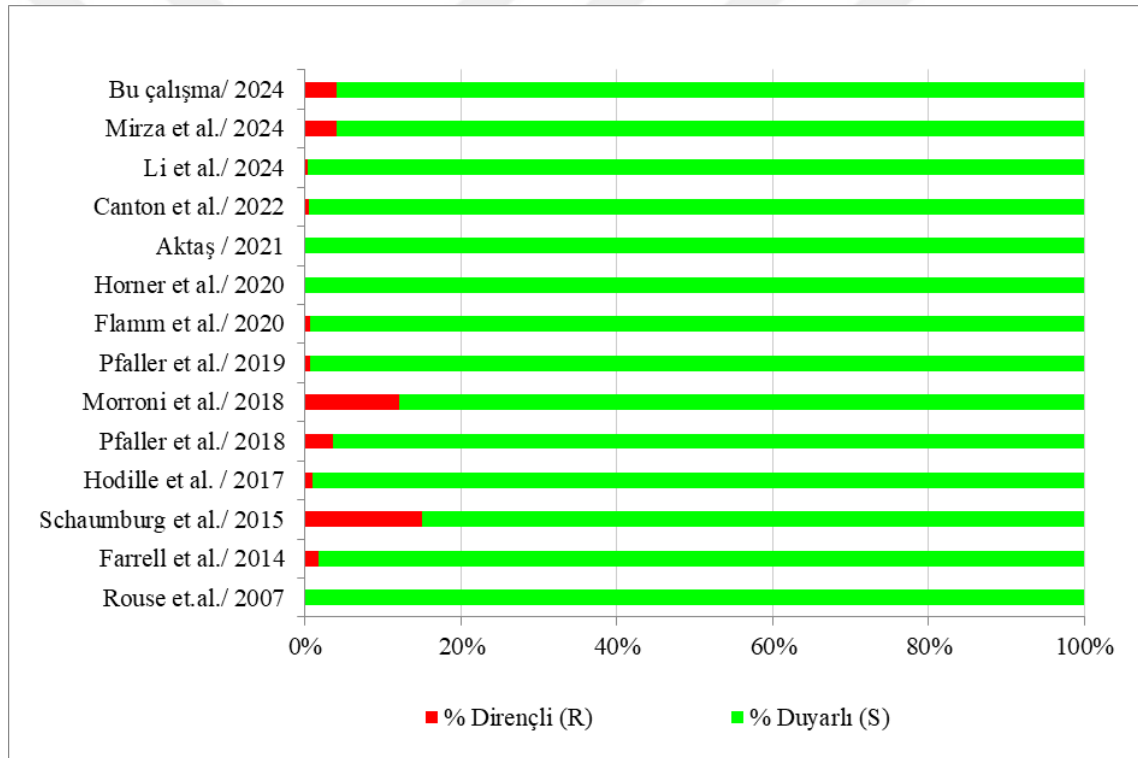
Çin'de yapılan bir çalışmada kan dolaşımı enfeksiyonlarına ait örneklerden izole edilen MRSA izolatlarının (n=289) BPR aktivitesi araştırılmış ve seftobiprole direnç oranı % 0,4 bulunmuştur. Seftobiprol için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri mevcut çalışmadan farklı olarak sırasıyla 0,5 µg/ml ve 1 µg/ml bulunmuştur [158]. Mevcut çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen MRSA izolatlarındaki direnç oranının (% 4,5) daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 5-1: BPR, DAP, VAN duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması.

Araştırmacı / Yıl	MRSA Sayısı (n)	Antibiyotik	Direnç Oranı (%)	Yöntem
Rouse et.al./ 2007	68	BPR	0	BMD
Ökstüz et.al./ 2013	49	DAP	0	GT
Barber et al./ 2014	20	BPR	0	BMD
Farrell et al./ 2014	4.147	BPR	1,7	BMD
Schaumburg et al./ 2015	60	BPR	15	BMD
Hodille et al. / 2017	115	BPR	0,9	BMD
		DAP	0	
		VAN	0	
Pfaller et al./ 2018	579	BPR	3,5	BMD
Morroni et al./ 2018	102	BPR	12	BMD
Pfaller et al./ 2019	558	BPR	0, 7	BMD
Flamm et al./ 2020	1.643	BPR	0, 6	BMD
		DAP	0	
		VAN	0	
Horner et al./ 2020	234	BPR	0	AD
Aktaş / 2021	25	BPR	0	GT
		DAP	0	
		VAN	0	
Canton et al./ 2022	3502	BPR	0, 5	BMD
		DAP	0,5	
		VAN	0,1	

Li et al./ 2024	289	BPR	0, 4	BMD
		DAP	0, 4	
		VAN	0	
Mirza et al./ 2024	100	BPR	4	GT
Bu çalışma/ 2024	100	BPR	4 (4/100)	BMD
		DAP	4,12 (4/97)	
		VAN	0	

*BMD: Sıvı mikrodilüsyon, GT: Gradyent test, AD: Agar dilüsyon, BPR: Seftobiprol, DAP: Daptomisin, VAN: Vankomisin.



Şekil 5-1: Seftobiprole duyarlılık sonuçlarının literatüre göre karşılaştırılması.

MRSA izolatlarının seftobiprole duyarlılığının azalması endişe oluşturduğundan kombinasyon tedavisi önerilmiştir [18-20]. Vankomisine ya da daptomisine dirençli Gram pozitif enfeksiyonların tedavisi için seftobiprolün başka antibiyotiklerle kombine halde kullanılmasının yararlı olabileceği bildirilmiştir. Seftobirol-daptomisin kombinasyonunun kullanıldığı bazı çalışmalarda sinerjik etki meydana geldiği

bildirilmiştir [21, 22]. Seftobiprol ve vankomisinin kombinasyon halinde kullanıldığı bir çalışmada, MRSA'ya karşı sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir [16].

Mevcut çalışmada seftobiprole dirençli dört izolattın, hem BPR-DAP ve hem BPR-VAN kombinasyonlarına karşı indifferens etki gösterdiği saptanmıştır. Literatürdeki bazı çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda sinerjik etki gözlenmemiştir.

Mevcut çalışmanın dışında, ülkemizde Mirza ve arkadaşları tarafından BPR kombinasyonlarının yapıldığı çalışmada, 100 MRSA izolatında seftobiprolün aktivitesi mevcut çalışmadan farklı olarak gradiyent test ile çalışılmış ve mevcut çalışmayla uyumlu olarak seftobiprole direnç oranı % 4 bulunmuştur. Seftobiprole dirençli izolatlarda (n=4) mevcut çalışmadan farklı olarak BPR-SXT kombinasyonu MİK: MİK oranı yöntemiyle araştırılmış ve seftobiprole dirençli dört izolattan ikisinin aditif, diğer ikisinin ise indifferens etki gösterdiği bulunmuştur [161]. Çalışmamıza benzer şekilde sinerji saptanmaması ülkemizden iki çalışmanın birbiriyle uyumlu olduğunun göstergesidir.

Barber ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 20 MRSA izolatlarında beş suş için BPR-DAP ve BPR-VAN kombinasyonları zaman-ölüm (time-kill) yöntemi ile araştırılmıştır. BPR-DAP kombinasyonu beş suşun tamamında, BPR-VAN kombinasyonu ise beş suşun dördünde (%80) sinerji göstermiştir [21]. Yöntem farklılığı ve toplam suş sayısının azlığı sonuçların birbiriyle uyumsuzluğunu açıklayabilir.

Campanile ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, beş MRSA suşunda BPR-DAP kombinasyonu mevcut çalışmadan farklı olarak gradient-cross metodu ile araştırılmış ve sonuçlarımıza benzer şekilde sinerji saptanmamış, dört suшта aditif bir suшта ise indifferens etki saptanmıştır [22].

SONUÇ

Çalışmamızda saptanan seftobiprole direnç oranı düşük olmasına rağmen, hastanemizin üçüncü basamak sağlık kuruluşu olması nedeniyle dirençli bakterilerle sık karşılaşılması ve ülkemizde son sörveyans verilerine göre kan kültürlerinde MRSA prevalansının %31 olması nedeniyle gelecekte daha yüksek seftobiprol direnci ile karşılaşma olasılığı vardır. Seftobiprole dirençli izolatların etken olduğu enfeksiyonları olan hastalar için vankomisin ve daptomisin ile kombinasyon tedavi seçeneğini değerlendiren çalışmamız önemli bir sağlık sorununu çözmeye yardımcı olacaktır.

SONUÇLAR

1) Disk difüzyon testine göre kan kültürü izolatlarında en yüksek direnç sırasıyla eritromisin (% 46) ve tetrasikline (%37); CYDE örneklerinden izole edilen izolatlarda ise en yüksek direnç tetrasiklin (% 73) ve eritromisine (%58) karşı saptanmıştır. Tüm izolatlar dikkate alındığında en yüksek direnç oranları yine eritromisin (%50) ve tetrasiklin (%47) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiştir.

2) Çalışmada klinik örneklerden izole edilen tüm MRSA izolatlarının %42'si iMLS_b, %4'ü cMLS_b, %4'ü MS_b fenotipi olarak bulunmuştur. İzolatların yarısı hem eritromisine hem klindamisine duyarlı olarak bulunmuştur. iMLS_b fenotipine sahip olan 42 izolatın 11'i CYDE örneklerinden, 28'i kan kültüründen, ikisi solunum yolu örneklerinden, biri konjonktiva örneklerinden izole edilmiştir. cMLS_b fenotipine sahip olan dört izolatın biri CYDE örneklerinden, ikisi kan kültüründen, biri periton sıvısından izole edilmiştir. MS_b fenotipine sahip olan dört izolatın üçü CYDE örneklerinden, biri kan kültüründen izole edilmiştir.

3) Çalışmada BMD yöntemiyle MRSA izolatlarının % 4'ü seftobiprole dirençli (MİK: > 2 µg/ml), % 96 'sı duyarlı (MİK: ≤ 2 µg/ml) bulunmuştur.

Kan kültürü örneklerinden izole edilen MRSA izolatlarında seftobiprole direnç oranı % 4,5 (3/67) bulunmuştur. Periton sıvısından izole edilen bir MRSA izolatında seftobiprole direnç bulunmuştur. CYD örneklerinden, solunum yolu örneklerinden, konjonktiva örneklerinden, eklem sıvısı örneklerinden izole edilen tüm MRSA izolatları seftobiprole duyarlı bulunmuştur.

4) MRSA izolatlarında seftobiprol için disk difüzyon testi ile mikrodilüsyon testi arasında %100 kategorik uyum saptanmış olup, küçük hata, büyük hata ve çok büyük hata saptanmamıştır.

5) Tüm izolatların vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri < 8 µg/ml olarak bulunmuş ve VRSA, VISA, hVISA varlığı saptanmamıştır.

6) Seftobiprole dirençli dört izolatın tümünde, hem seftobiprol-daptomisin hem seftobiprol-vankomisin kombinasyonlarının indifferens etki gösterdiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Tong, S.Y., et al., *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev, 2015. **28**(3): p. 603-61.
2. Lakhundi, S. and K. Zhang, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology*. Clin Microbiol Rev, 2018. **31**(4).
3. Chambers, H.F., *The changing epidemiology of Staphylococcus aureus?* Emerg Infect Dis, 2001. **7**(2): p. 178-82.
4. Tang, S.S., A. Apisarnthanarak, and L.Y. Hsu, *Mechanisms of beta-lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria*. Adv Drug Deliv Rev, 2014. **78**: p. 3-13.
5. Sutherland, R. and G.N. Rolinson, *Characteristics of Methicillin-Resistant Staphylococci*. J Bacteriol, 1964. **87**(4): p. 887-99.
6. Cong, Y., S. Yang, and X. Rao, *Vancomycin resistant Staphylococcus aureus infections: A review of case updating and clinical features*. J Adv Res, 2020. **21**: p. 169-176.
7. Liu, C., et al., *Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in adults and children: executive summary*. Clin Infect Dis, 2011. **52**(3): p. 285-92.
8. Vestergaard, M., D. Frees, and H. Ingmer, *Antibiotic Resistance and the MRSA Problem*. Microbiol Spectr, 2019. **7**(2).
9. Kern, W.V., *[New antibacterial agents on the market and in the pipeline]*. Internist (Berl), 2015. **56**(11): p. 1255-63.
10. De Oliveira, D.M.P., et al., *Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens*. Clin Microbiol Rev, 2020. **33**(3).
11. Jorgensen, S.C.J., et al., *Daptomycin Plus beta-Lactam Combination Therapy for Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Bloodstream Infections: A Retrospective, Comparative Cohort Study*. Clin Infect Dis, 2020. **71**(1): p. 1-10.
12. Leonard, S.N. and K.M. Rolek, *Evaluation of the combination of daptomycin and nafcillin against vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother, 2013. **68**(3): p. 644-7.
13. Heidary, M., et al., *Daptomycin*. J Antimicrob Chemother, 2018. **73**(1): p. 1-11.
14. Humphries, R.M., S. Pollett, and G. Sakoulas, *A current perspective on daptomycin for the clinical microbiologist*. Clin Microbiol Rev, 2013. **26**(4): p. 759-80.
15. Syed, Y.Y., *Ceftobiprole medocaril: a review of its use in patients with hospital- or community-acquired pneumonia*. Drugs, 2014. **74**(13): p. 1523-42.
16. Lupia, T., et al., *Ceftobiprole Perspective: Current and Potential Future Indications*. Antibiotics (Basel), 2021. **10**(2).
17. Bazan, J.A., S.I. Martin, and K.M. Kaye, *Newer beta-lactam antibiotics: doripenem, ceftobiprole, ceftaroline, and cefepime*. Infect Dis Clin North Am, 2009. **23**(4): p. 983-96, ix.
18. Flamm, R.K., et al., *Ceftobiprole Activity against Bacteria from Skin and Skin Structure Infections in the United States from 2016 through 2018*. Antimicrob Agents Chemother, 2020. **64**(6).

19. Canton, R., et al., *In vitro* activity of ceftobiprole and comparator antibiotics against contemporary European isolates (2016-19). JAC Antimicrob Resist, 2022. **4**(2): p. dlac030.
20. Zhanel, G.G., et al., *Real-life experience with ceftobiprole in Canada: Results from the CLEAR (Canadian Leadership on Antimicrobial Real-life usage) registry*. J Glob Antimicrob Resist, 2021. **24**: p. 335-339.
21. Barber, K.E., et al., *Potent synergy of ceftobiprole plus daptomycin against multiple strains of Staphylococcus aureus with various resistance phenotypes*. J Antimicrob Chemother, 2014. **69**(11): p. 3006-10.
22. Campanile, F., et al., *Bactericidal activity of ceftobiprole combined with different antibiotics against selected Gram-positive isolates*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2019. **93**(1): p. 77-81.
23. Deresinski, S., *Vancomycin in combination with other antibiotics for the treatment of serious methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections*. Clin Infect Dis, 2009. **49**(7): p. 1072-9.
24. Myles, I.A. and S.K. Datta, *Staphylococcus aureus: an introduction*. Semin Immunopathol, 2012. **34**(2): p. 181-4.
25. Licitra, G. (2013). *Etymologia: Staphylococcus*. Emerging Infectious Diseases, 19(9), 1553.
26. Deurenberg, R.H., et al., *The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect, 2007. **13**(3): p. 222-35.
27. Stefani, S. and A. Goglio, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: related infections and antibiotic resistance*. Int J Infect Dis, 2010. **14 Suppl 4**: p. S19-22.
28. CDC. *Centers for Disease Control and Prevention, Antibiotic Resistance and Patient Safety Portal* 2021 [Available from: <https://arpsp.cdc.gov/profile/antibioticresistance/vancomycin-resistant-mrsa>].
29. Carroll, K.C., Pfaller, M. A. *Manual of Clinical Microbiology*, 13th Edition. İçinde Becker, K. , David, M.Z. , Skov, R.L. , *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*. Washington, DC: ASM Press ; 2021. p.367-367. [Available from: https://clinmicronow.org/doi/full/10.1128/9781683670438.MCM.0013.2021.ch22_1].
30. Kayser, F.H., Bienz, K. A. , Eckert, J. , Zinkernagel, R. M. (2002). *Tıbbi Mikrobiyoloji Anlamak, Öğrenmek, Başvurmak İçin*. Çev: Küçüker, M.A. , Tümbay, E. , Anğ, Ö. , Erturan Z. :Nobel Tıp Kitabevleri, 9. Basım: s.221-227.
31. Missiakas, D.M. and O. Schneewind, *Growth and laboratory maintenance of Staphylococcus aureus*. Curr Protoc Microbiol, 2013. **Chapter 9**: p. Unit 9C 1.
32. Xue, L., et al., *Staphyloxanthin: a potential target for antivirulence therapy*. Infect Drug Resist, 2019. **12**: p. 2151-2160.
33. Patrick R. Murray, P., Ken S. Rosenthal, PhD, Michael A. Pfaller, MD, *Medical Microbiology, 8th Edition*, 2016.
34. Ayeni, F.A., C. Andersen, and N. Norskov-Lauritsen, *Comparison of growth on mannitol salt agar, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, VITEK((R)) 2 with partial sequencing of 16S rRNA gene for identification of coagulase-negative staphylococci*. Microb Pathog, 2017. **105**: p. 255-259.

35. Matos, J.E., R.J. Harmon, and B.E. Langlois, *Lecithinase reaction of Staphylococcus aureus strains of different origin on Baird-Parker medium*. Lett Appl Microbiol, 1995. **21**(5): p. 334-5.
36. Beckers, H.J., et al., *Evaluation of a pour-plate system with a rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of Staphylococcus aureus in food*. Can J Microbiol, 1984. **30**(4): p. 470-4.
37. Corry, J.E.L., Curtis, G. D. W. , Baird, R. M. , editors., *Handbook of Culture Media for Food Microbiology Progress In Industrial Microbiology*. 2003. **37**: p. 400-403.
38. Dinkov, D., Stratev, D. , Balkanska, R. , Sergelidis, D. , Vashin, I. , *Reduction Effect of Royal Jelly and Rape Honey Alone and in Combination Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Strains* 2016. **46**(1): p. 36-43.
39. Cheung, G.Y.C., J.S. Bae, and M. Otto, *Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus*. Virulence, 2021. **12**(1): p. 547-569.
40. Tan, L., et al., *Accessory Gene Regulator (agr) Allelic Variants in Cognate Staphylococcus aureus Strain Display Similar Phenotypes*. Front Microbiol, 2022. **13**: p. 700894.
41. Singh, V. and U.J. Phukan, *Interaction of host and Staphylococcus aureus protease-system regulates virulence and pathogenicity*. Med Microbiol Immunol, 2019. **208**(5): p. 585-607.
42. Liu, Q., W.S. Yeo, and T. Bae, *The SaeRS Two-Component System of Staphylococcus aureus*. Genes (Basel), 2016. **7**(10).
43. Tiwari, N., et al., *The SrrAB two-component system regulates Staphylococcus aureus pathogenicity through redox sensitive cysteines*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020. **117**(20): p. 10989-10999.
44. Oriol, C., et al., *Expanding the Staphylococcus aureus SarA Regulon to Small RNAs*. mSystems, 2021. **6**(5): p. e0071321.
45. Jenul, C. and A.R. Horswill, *Regulation of Staphylococcus aureus Virulence*. Microbiol Spectr, 2019. **7**(2).
46. Liu, L., et al., *Subinhibitory Concentrations of Fusidic Acid May Reduce the Virulence of S. aureus by Down-Regulating sarA and saeRS to Reduce Biofilm Formation and alpha-Toxin Expression*. Front Microbiol, 2020. **11**: p. 25.
47. O'Riordan, K. and J.C. Lee, *Staphylococcus aureus capsular polysaccharides*. Clin Microbiol Rev, 2004. **17**(1): p. 218-34.
48. Greenlee-Wacker, M.C., et al., *Phagocytosis of Staphylococcus aureus by human neutrophils prevents macrophage efferocytosis and induces programmed necrosis*. J Immunol, 2014. **192**(10): p. 4709-17.
49. Altwiley, D., et al., *A functional menadione biosynthesis pathway is required for capsule production by Staphylococcus aureus*. Microbiology (Reading), 2021. **167**(11).
50. Visansirikul, S., S.A. Kolodziej, and A.V. Demchenko, *Staphylococcus aureus capsular polysaccharides: a structural and synthetic perspective*. Org Biomol Chem, 2020. **18**(5): p. 783-798.
51. Strelkauskas, A., Edwards, A. , Fahnert, B. , Pryor, G. , Strelkauskas, J. , *Mikrobiyoloji Klinik Bir Yaklaşım*. 2018: p. 47-72.
52. Laitman, I., et al., *Synthesis and characterization of fluoro-modified polypropylene films for inhibition of biofilm formation*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014. **115**: p. 8-14.

53. Sutton, J.A.F., et al., *Staphylococcus aureus* cell wall structure and dynamics during host-pathogen interaction. PLoS Pathog, 2021. **17**(3): p. e1009468.
54. Mihelic, M., et al., *The mechanism behind the selection of two different cleavage sites in NAG-NAM polymers*. IUCrJ, 2017. **4**(Pt 2): p. 185-198.
55. Kim, S.J., J. Chang, and M. Singh, *Peptidoglycan architecture of Gram-positive bacteria by solid-state NMR*. Biochim Biophys Acta, 2015. **1848**(1 Pt B): p. 350-62.
56. Garde, S., P.K. Chodisetti, and M. Reddy, *Peptidoglycan: Structure, Synthesis, and Regulation*. EcoSal Plus, 2021. **9**(2).
57. van Dalen, R., A. Peschel, and N.M. van Sorge, *Wall Teichoic Acid in Staphylococcus aureus Host Interaction: (Trends in Microbiology*. In press. Trends Microbiol, 2020. **28**(10): p. 869.
58. Dickson, K. and C. Lehmann, *Inflammatory Response to Different Toxins in Experimental Sepsis Models*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(18).
59. Foster, T.J., *Surface Proteins of Staphylococcus aureus*. Microbiol Spectr, 2019. **7**(4).
60. Herman-Bausier, P., et al., *Staphylococcus aureus* clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018. **115**(21): p. 5564-5569.
61. Lacey, K.A., et al., *Clumping factor B is an important virulence factor during Staphylococcus aureus skin infection and a promising vaccine target*. PLoS Pathog, 2019. **15**(4): p. e1007713.
62. Gries, C.M., et al., *Staphylococcus aureus* Fibronectin Binding Protein A Mediates Biofilm Development and Infection. Infect Immun, 2020. **88**(5).
63. Foster, T.J., *The remarkably multifunctional fibronectin binding proteins of Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016. **35**(12): p. 1923-1931.
64. Madani, A., K. Garakani, and M.R.K. Mofrad, *Molecular mechanics of Staphylococcus aureus adhesin, CNA, and the inhibition of bacterial adhesion by stretching collagen*. PLoS One, 2017. **12**(6): p. e0179601.
65. Herman-Bausier, P., et al., *Mechanical Strength and Inhibition of the Staphylococcus aureus Collagen-Binding Protein Cna*. mBio, 2016. **7**(5).
66. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Propcop, G.W. ve Woods, G.L., *Gram positive cocci PartI: Staphylococci and related gram positive cocci. Colar Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed (623-662). Philadelphia: Lippincott. (2005).* .
67. Olson, M.E., et al., *Staphylococcus aureus* nuclease is an SaeRS-dependent virulence factor. Infect Immun, 2013. **81**(4): p. 1316-24.
68. Kiedrowski, M.R., et al., *Staphylococcus aureus* Nuc2 is a functional, surface-attached extracellular nuclease. PLoS One, 2014. **9**(4): p. e95574.
69. Lister, J.L. and A.R. Horswill, *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. Front Cell Infect Microbiol, 2014. **4**: p. 178.
70. Rosenstein, R. and F. Gotz, *Staphylococcal lipases: biochemical and molecular characterization*. Biochimie, 2000. **82**(11): p. 1005-14.
71. Hu, C., et al., *Functional characterization of lipase in the pathogenesis of Staphylococcus aureus*. Biochem Biophys Res Commun, 2012. **419**(4): p. 617-20.
72. Mootz, J.M., et al., *Staphopains modulate Staphylococcus aureus biofilm integrity*. Infect Immun, 2013. **81**(9): p. 3227-38.

73. Ibberson, C.B., et al., *Staphylococcus aureus* hyaluronidase is a CodY-regulated virulence factor. *Infect Immun*, 2014. **82**(10): p. 4253-64.
74. Bokarewa, M.I., T. Jin, and A. Tarkowski, *Staphylococcus aureus*: *Staphylokinase*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006. **38**(4): p. 504-9.
75. Kaderabkova, N., et al., *The biogenesis of beta-lactamase enzymes*. *Microbiology (Reading)*, 2022. **168**(8).
76. Kocsis, E., et al., *Comparison of Austrian, Hungarian and Macedonian methicillin-resistant and methicillin-sensitive Staphylococcus aureus strains in relation to prevalence of cytotoxin genes*. *Microb Pathog*, 2009. **46**(6): p. 328-36.
77. Thay, B., S.N. Wai, and J. Oscarsson, *Staphylococcus aureus* alpha-toxin-dependent induction of host cell death by membrane-derived vesicles. *PLoS One*, 2013. **8**(1): p. e54661.
78. Herrera, A., et al., *Staphylococcus aureus* beta-Toxin Mutants Are Defective in Biofilm Ligase and Sphingomyelinase Activity, and Causation of Infective Endocarditis and Sepsis. *Biochemistry*, 2016. **55**(17): p. 2510-7.
79. Huseby, M., et al., *Structure and biological activities of beta toxin from Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2007. **189**(23): p. 8719-26.
80. Hodille, E., et al., *Staphylococcal Pantone-Valentine Leukocidin and Gamma Haemolysin Target and Lyse Mature Bone Marrow Leucocytes*. *Toxins (Basel)*, 2020. **12**(11).
81. Ahmad, N.I., et al., *Prevalence and association of Pantone-Valentine Leukocidin gene with the risk of sepsis in patients infected with Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *J Infect Public Health*, 2020. **13**(10): p. 1508-1512.
82. Leistner, R., et al., *Skin Infections Due to Pantone-Valentine Leukocidin-Producing S. Aureus*. *Dtsch Arztebl Int*, 2022. **119**(45): p. 775-784.
83. Bukowski, M., B. Wladyka, and G. Dubin, *Exfoliative toxins of Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel)*, 2010. **2**(5): p. 1148-65.
84. Madigan, M.T., Martinko, J. M. , *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Çev: Çökmüş, C. Palme Yayıncılık, 11. Baskı, 2010 : s. 931-932*.
85. Ross, A. and H.W. Shoff, *Toxic Shock Syndrome*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
86. Pereira, L.B., *Impetigo - review*. *An Bras Dermatol*, 2014. **89**(2): p. 293-9.
87. Johnson, M.K., *Impetigo*. *Adv Emerg Nurs J*, 2020. **42**(4): p. 262-269.
88. Brazel, M., et al., *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome and Bullous Impetigo*. *Medicina (Kaunas)*, 2021. **57**(11).
89. Stevens, D.L., et al., *Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections*. *Clin Infect Dis*, 2005. **41**(10): p. 1373-406.
90. Thomas, O., et al., *The surgical management of cutaneous abscesses: A UK cross-sectional survey*. *Ann Med Surg (Lond)*, 2020. **60**: p. 654-659.
91. Winters, R.D. and M. Mitchell, *Folliculitis*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
92. Lin, H.S., et al., *Interventions for bacterial folliculitis and boils (furuncles and carbuncles)*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2021. **2**(2): p. CD013099.
93. Troxell, T. and C.A. Hall, *Carbuncle*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
94. Amat-Samaranch, V., et al., *New perspectives on the treatment of hidradenitis suppurativa*. *Ther Adv Chronic Dis*, 2021. **12**: p. 20406223211055920.
95. Sabat, R., et al., *Hidradenitis suppurativa*. *Nat Rev Dis Primers*, 2020. **6**(1): p. 18.

96. Gonzalez-Lopez, M.A., *Hidradenitis suppurativa* [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37968174>. Med Clin (Barc), 2024. **162**(4): p. 182-189.
97. Barros Pinto, M.P., *Staphylococcal toxic shock syndrome*. J Hematop, 2023. **16**(3): p. 189-190.
98. Christaki, E. and E.J. Giamarellos-Bourboulis, *The complex pathogenesis of bacteremia: from antimicrobial clearance mechanisms to the genetic background of the host*. Virulence, 2014. **5**(1): p. 57-65.
99. Abraham, L. and D.M. Bamberger, *Staphylococcus aureus Bacteremia: Contemporary Management*. Mo Med, 2020. **117**(4): p. 341-345.
100. Rajani, R. and J.L. Klein, *Infective endocarditis: A contemporary update*. Clin Med (Lond), 2020. **20**(1): p. 31-35.
101. Liesenborghs, L., et al., *Staphylococcus aureus endocarditis: distinct mechanisms of bacterial adhesion to damaged and inflamed heart valves*. Eur Heart J, 2019. **40**(39): p. 3248-3259.
102. Torres, A., et al., *Pneumonia*. Nat Rev Dis Primers, 2021. **7**(1): p. 25.
103. He, H. and R.G. Wunderink, *Staphylococcus aureus Pneumonia in the Community*. Semin Respir Crit Care Med, 2020. **41**(4): p. 470-479.
104. Bandaru, S., et al., *Empyema Necessitans in the Setting of Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Causing Pneumonia and Bacteremia*. Case Rep Infect Dis, 2018. **2018**: p. 4906547.
105. Ramgopal, S., et al., *Pediatric Necrotizing Pneumonia: A Case Report and Review of the Literature*. Pediatr Emerg Care, 2017. **33**(2): p. 112-115.
106. Gimza, B.D. and J.E. Cassat, *Mechanisms of Antibiotic Failure During Staphylococcus aureus Osteomyelitis*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 638085.
107. Urish, K.L. and J.E. Cassat, *Staphylococcus aureus Osteomyelitis: Bone, Bugs, and Surgery*. Infect Immun, 2020. **88**(7).
108. Schmitt, S.K., *Osteomyelitis*. Infect Dis Clin North Am, 2017. **31**(2): p. 325-338.
109. Erkilinc, M., et al., *Current Concepts in Pediatric Septic Arthritis*. J Am Acad Orthop Surg, 2021. **29**(5): p. 196-206.
110. Lima, L.M., et al., *beta-lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective*. Eur J Med Chem, 2020. **208**: p. 112829.
111. Lee, A.S., et al., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primers, 2018. **4**: p. 18033.
112. Chaudhry, S.B., M.P. Veve, and J.L. Wagner, *Cephalosporins: A Focus on Side Chains and beta-Lactam Cross-Reactivity*. Pharmacy (Basel), 2019. **7**(3).
113. Lin, X. and U. Kuck, *Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics*. Appl Microbiol Biotechnol, 2022. **106**(24): p. 8007-8020.
114. Appelbaum, P.C., *Microbiology of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis, 2007. **45 Suppl 3**: p. S165-70.
115. Dhungel, S., et al., *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Prevalence, Antimicrobial Susceptibility Pattern, and Detection of mecA Gene among Cardiac Patients from a Tertiary Care Heart Center in Kathmandu, Nepal*. Infect Dis (Auckl), 2021. **14**: p. 11786337211037355.
116. Das, N., et al., *An overview of cephalosporin antibiotics as emerging contaminants: a serious environmental concern*. 3 Biotech, 2019. **9**(6): p. 231.
117. Miklasinska-Majdanik, M., *Mechanisms of Resistance to Macrolide Antibiotics among Staphylococcus aureus*. Antibiotics (Basel), 2021. **10**(11).

118. Thapa, D., et al., *Staphylococcus aureus* with inducible clindamycin resistance and methicillin resistance in a tertiary hospital in Nepal. *Trop Med Health*, 2021. **49**(1): p. 99.
119. Blaskovich, M.A.T., et al., *Developments in Glycopeptide Antibiotics*. *ACS Infect Dis*, 2018. **4**(5): p. 715-735.
120. Stogios, P.J. and A. Savchenko, *Molecular mechanisms of vancomycin resistance*. *Protein Sci*, 2020. **29**(3): p. 654-669.
121. Wootton, M., et al., *A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in Staphylococcus aureus in a UK hospital*. *J Antimicrob Chemother*, 2001. **47**(4): p. 399-403.
122. Hiramatsu, K., et al., *Vancomycin-intermediate resistance in Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist*, 2014. **2**(4): p. 213-224.
123. Hiramatsu, K., et al., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility*. *J Antimicrob Chemother*, 1997. **40**(1): p. 135-6.
124. Hiramatsu, K., et al., *Dissemination in Japanese hospitals of strains of Staphylococcus aureus heterogeneously resistant to vancomycin*. *Lancet*, 1997. **350**(9092): p. 1670-3.
125. Shariati, A., et al., *Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate Staphylococcus aureus clinical isolates: a systematic review and meta-analysis*. *Sci Rep*, 2020. **10**(1): p. 12689.
126. McGuinness, W.A., N. Malachowa, and F.R. DeLeo, *Vancomycin Resistance in Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*, 2017. **90**(2): p. 269-281.
127. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. 2017.
128. Liu, C. and H.F. Chambers, *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003. **47**(10): p. 3040-5.
129. Miller, W.R., A.S. Bayer, and C.A. Arias, *Mechanism of Action and Resistance to Daptomycin in Staphylococcus aureus and Enterococci*. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016. **6**(11).
130. Silverman, J.A., et al., *Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact*. *J Infect Dis*, 2005. **191**(12): p. 2149-52.
131. Foster, T.J., *Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects*. *FEMS Microbiol Rev*, 2017. **41**(3): p. 430-449.
132. Garcia-Solache, M. and L.B. Rice, *The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment*. *Clin Microbiol Rev*, 2019. **32**(2).
133. Pfaller, M.A., et al., *Ceftobiprole Activity against Gram Positive and Negative Pathogens Collected from the United States in 2006 and 2016*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019. **63**(1).
134. Grayson, M.L., Cosgrove, S. E., Crowe, S. M., Hope, W., McCarthy, J. S., Mills, J., Mouton, J. W., Paterson, D. L. *Kucers' The Use of, A. Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antiparasitic, and Antiviral, and Drugs*, Seventh Edition. 2017.
135. U.S. FDA. *Novel Drug Approvals for 2024*. [Available from: <https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2024>].

136. Morosini, M.I., M. Diez-Aguilar, and R. Canton, *Mechanisms of action and antimicrobial activity of ceftobiprole*. Rev Esp Quimioter, 2019. 32 Suppl 3(Suppl 3): p. 3-10.
137. Dandan, Y., et al., *Antimicrobial activity of ceftobiprole and comparator agents when tested against gram-positive and -negative organisms collected across China (2016-2018)*. BMC Microbiol, 2022. 22(1): p. 282.
138. Chan, L.C., et al., *Ceftobiprole- and ceftaroline-resistant methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother, 2015. 59(5): p. 2960-3.
139. Shalaby, M.W., et al., *Penicillin binding protein 2a: An overview and a medicinal chemistry perspective*. Eur J Med Chem, 2020. 199: p. 112312.
140. EUCAST. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. Version 13.1, 2023. <http://www.eucast.org>.
141. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Leber, A.L., / editor in chief. Washington: American Society for Microbiology 2016.
142. FAQ: *The Threat of MRSA: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in Copenhagen, Denmark, in November 2013*. American Society for Microbiology, Washington DC. [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562897/figure/F4/>].
143. *Catalase Test Protocol*. American Society for Microbiology. 2010.
144. EUCAST. *Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing* Version 11.0, 2023 www.eucast.org.
145. Manandhar, S., et al., *Inducible Clindamycin Resistance and Biofilm Production among Staphylococci Isolated from Tertiary Care Hospitals in Nepal*. Infect Dis Rep, 2021. 13(4): p. 1043-1052.
146. *Penicillin-Binding Protein (PBP2') Latex Agglutination Test*. Oxoid. [Available from: www.oxoid.com].
147. CLSI. *Clinical and Laboratory Standards Institute* [Available from: www.clsi.org].
148. *Vancomycin Agar Screen Test for Staphylococcus aureus and Enterococcus species*. National Programme on Antimicrobial Resistance Containment National Centre for Disease Control, India September 2020.
149. Sharp, S.E., Northern California Branch of ASM. *Verification of Antimicrobial Susceptibility Testing Methods "A practical approach"*. [Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/b871/ea590d0248fb481629960139e7a13bbc0ada.pdf>].
150. CDC. *Centers for Disease Control and Prevention, Antibiotic Resistance and Patient Safety Portal* 2021 [Available from: <https://arpsp.cdc.gov/profile/antibiotic-resistance/methicillin-resistant-staphylococcus-aureus>].
151. *Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi 2016 Yıllık Raporu*. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2016.
152. WHO. *Proportion of bloodstream infection due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. World Health Organization. 2021. [Available from: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/sdg-3.d.2-amr-infect-mrsa>].
153. Dundar, D., et al., *Epidemiological and molecular characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Turkey: A multicentre study*. J Glob Antimicrob Resist, 2016. 6: p. 44-49.

154. Gurung, R.R., P. Maharjan, and G.G. Chhetri, *Antibiotic resistance pattern of Staphylococcus aureus with reference to MRSA isolates from pediatric patients*. Future Sci OA, 2020. **6**(4): p. FSO464.
155. Oksuz, L. and N. Gurler, *Susceptibility of clinical methicillin-resistant Staphylococci isolates to new antibiotics*. J Infect Dev Ctries, 2013. **7**(11): p. 825-31.
156. Hassoun, A., P.K. Linden, and B. Friedman, *Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment*. Crit Care, 2017. **21**(1): p. 211.
157. Aktas, G., *Efficacy of vancomycin in combination with various antimicrobial agents against clinical methicillin resistant Staphylococcus aureus strains*. Pak J Med Sci, 2021. **37**(1): p. 151-156.
158. Li, L., et al., *In Vitro Antibacterial Activity of Ceftobiprole and Comparator Compounds against Nation-Wide Bloodstream Isolates and Different Sequence Types of MRSA*. Antibiotics (Basel), 2024. **13**(2).
159. CDC. Centers for Disease Control and Prevention, *Antibiotic Resistance and Patient Safety Portal 2021* [Available from: <https://arpsp.cdc.gov/profile/antibiotic-resistance/daptomycin-resistant-mrsa>].
160. Işık, Z.Ş., *Kan Örneklerinden izole edilen Enterococcus Faecalis ve Enterococcus Faecium izolatlarının in vitro seftobiprol-daptomisin kombinasyonunun etkinliğinin araştırılması*. Tıpta uzamanlık tezi. Ankara.2020.
161. Mirza, H.C. and O. Oguc Sanli, *Evaluation of in vitro activity of ceftaroline, ceftobiprole and their combination with trimethoprim/sulfamethoxazole against MRSA isolates: a two center study*. J Chemother, 2024: p. 1-8.
162. Pfaller, M.A., et al., *Ceftobiprole activity when tested against contemporary bacteria causing bloodstream infections in the United States (2016-2017)*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2019. **94**(3): p. 304-313.
163. Pfaller, M.A., et al., *Antimicrobial activity of ceftobiprole and comparator agents when tested against contemporary Gram-positive and -negative organisms collected from Europe (2015)*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2018. **91**(1): p. 77-84.
164. Hodille, E., et al., *In vitro activity of ceftobiprole on 440 Staphylococcus aureus strains isolated from bronchopulmonary infections*. Med Mal Infect, 2017. **47**(2): p. 152-157.
165. Farrell, D.J., et al., *Ceftobiprole activity against over 60,000 clinical bacterial pathogens isolated in Europe, Turkey, and Israel from 2005 to 2010*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(7): p. 3882-8.
166. Horner, C., et al., *Activity of ceftaroline versus ceftobiprole against staphylococci and pneumococci in the UK and Ireland: analysis of BSAC surveillance data*. J Antimicrob Chemother, 2020. **75**(11): p. 3239-3243.
167. Rouse, M.S., J.M. Steckelberg, and R. Patel, *In vitro activity of ceftobiprole, daptomycin, linezolid, and vancomycin against methicillin-resistant staphylococci associated with endocarditis and bone and joint infection*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007. **58**(3): p. 363-5.
168. Morroni, G., et al., *High Rate of Ceftobiprole Resistance among Clinical Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates from a Hospital in Central Italy*. Antimicrob Agents Chemother, 2018. **62**(12).

169. Schaumburg, F., et al., *Missense mutations of PBP2a are associated with reduced susceptibility to ceftaroline and ceftobiprole in African MRSA*. J Antimicrob Chemother, 2016. **71**(1): p. 41-4.



HAM VERİLER

Disk Difüzyon Sonuçları

İzolat No	P	FOX	E	DA	SXT	TE	CN (GEN)	LEV	LNZ (LZD)	NOR	RA (RIF)	BPR	D-ZON
1	8	18	10	26	25	11	20	28	26	26	32	18	Pozitif
2	8	17	12	28	25	11	20	30	26	25	33	18	Negatif
3	8	17	10	30	28	12	22	30	30	27	33	19	Pozitif
4	8	18	6	26	26	14	22	26	26	23	31	18	Pozitif
5	10	16	10	26	25	11	20	26	26	23	32	19	Pozitif
6	8	18	12	28	28	12	21	30	30	26	32	18	Pozitif
7	8	17	10	26	25	11	20	30	28	26	33	18	Pozitif
8	14	18	30	30	26	30	22	28	25	25	30	18	Negatif
9	8	16	32	30	22	11	6	16	28	10	6	17	Negatif
10	6	16	30	30	26	14	20	28	28	26	11	17	Negatif
11	8	17	22	30	6	11	20	11	28	6	10	18	Negatif
12	8	16	10	26	26	10	20	26	28	25	30	18	Pozitif
13	6	6	20	12	25	11	6	6	28	6	6	24	Negatif
14	8	19	28	28	26	28	20	12	26	6	30	17	Negatif
15	14	18	38	36	30	32	28	34	27	25	32	19	Negatif
16	14	20	26	32	30	28	20	28	26	24	31	19	Negatif
17	6	6	26	26	22	10	20	6	28	6	6	17	Negatif
18	8	20	26	26	26	26	20	26	26	27	31	17	Negatif
19	20	18	10	26	26	11	20	26	28	23	31	19	Pozitif
20	8	16	8	30	28	8	23	15	28	9	6	17	Pozitif
21	8	18	15	28	28	17	22	28	28	30	32	17	Negatif
22	12	21	36	30	6	36	28	22	30	6	40	26	Negatif
23	18	21	30	30	26	11	22	28	28	25	34	20	Negatif
24	6	19	6	6	14	30	6	8	32	6	6	10	Negatif
25	6	16	10	30	26	12	22	30	30	26	6	18	Pozitif
26	8	18	10	30	25	11	21	28	28	26	32	19	Pozitif
27	8	16	29	30	26	30	22	28	28	26	32	17	Negatif
28	12	21	12	30	26	30	21	28	28	26	32	18	Negatif
29	13	18	30	30	25	10	24	28	27	25	32	18	Negatif
30	10	18	30	30	26	32	21	30	27	26	34	18	Negatif
31	10	15	10	28	24	8	20	29	27	24	32	17	Pozitif
32	8	17	8	28	26	10	23	30	28	28	34	17	Pozitif
33	10	18	10	32	26	30	24	10	30	6	33	19	Pozitif

34	10	21	30	30	25	30	23	30	28	27	32	18	Negatif
35	13	19	30	28	25	30	23	29	28	24	32	21	Negatif
36	12	21	10	26	26	11	22	26	26	26	32	18	Pozitif
37	14	21	27	26	8	28	22	28	26	25	31	20	Negatif
38	10	21	32	30	16	30	23	28	30	26	32	20	Negatif
39	12	21	24	28	26	30	24	32	28	25	30	17	Negatif
40	13	18	40	36	34	40	27	36	32	30	40	17	Negatif
41	8	20	8	28	26	11	24	32	28	24	32	18	Pozitif
42	10	19	12	36	28	10	26	34	34	26	36	17	Pozitif
43	8	16	6	30	22	10	26	30	28	25	33	20	Pozitif
44	6	8	34	34	28	32	22	34	28	31	36	17	Negatif
45	10	20	32	28	26	28	23	32	29	30	24	20	Negatif
46	12	17	36	32	30	11	26	20	32	26	32	20	Negatif
47	10	18	34	30	26	24	26	22	30	10	32	17	Negatif
48	13	20	20	30	32	36	30	13	35	6	38	19	Negatif
49	6	18	34	30	28	32	24	34	28	30	36	17	Negatif
50	14	18	40	36	8	14	30	40	40	35	43	21	Negatif
51	14	20	8	34	28	32	26	32	32	26	34	19	Pozitif
52	16	20	10	30	28	8	26	32	28	26	32	21	Pozitif
53	20	18	28	26	24	30	18	28	28	30	31	21	Negatif
54	10	6	9	34	30	10	30	34	32	32	40	20	Pozitif
55	10	20	8	30	24	28	24	30	26	26	34	18	Pozitif
56	8	20	10	10	28	32	26	32	28	26	34	19	Negatif
57	10	20	30	30	25	28	21	29	25	22	32	17	Negatif
58	8	18	6	26	26	10	22	28	28	25	32	18	Pozitif
59	6	14	12	24	14	24	6	6	34	6	6	6	Pozitif
60	8	20	6	26	28	24	25	28	30	23	33	19	Pozitif
61	8	18	32	30	24	32	32	32	28	28	34	18	Negatif
62	12	21	6	28	26	12	6	28	28	24	32	19	Pozitif
63	6	18	6	30	26	8	25	24	29	22	34	20	Pozitif
64	12	19	15	34	32	38	26	30	32	16	32	20	Pozitif
65	6	19	8	32	34	10	28	36	32	28	36	20	Pozitif
66	12	20	10	30	30	10	25	30	34	30	36	20	Pozitif
67	10	20	32	30	30	30	26	34	32	35	36	20	Negatif
68	8	18	28	28	24	22	22	6	26	6	30	18	Negatif
69	18	20	34	34	30	32	26	34	30	25	35	19	Negatif
70	16	16	30	28	24	28	22	28	30	23	32	17	Negatif
71	8	20	30	30	28	22	22	20	28	10	34	18	Negatif
72	10	20	30	30	24	24	26	28	25	24	32	19	Negatif
73	14	21	36	34	32	14	28	32	34	26	36	19	Negatif

74	6	6	11	34	24	8	6	6	35	6	6	13	Pozitif
75	6	17	6	26	16	8	25	28	22	23	32	19	Pozitif
76	6	20	8	30	30	11	22	30	28	26	34	18	Pozitif
77	15	21	6	26	25	24	24	26	26	23	32	20	Pozitif
78	14	20	34	32	20	34	26	32	26	26	36	21	Negatif
79	15	21	36	34	22	32	26	15	30	6	36	19	Negatif
80	16	21	36	36	12	36	24	36	30	29	34	20	Negatif
81	13	20	6	30	27	28	24	30	31	29	35	18	Pozitif
82	6	6	6	28	24	26	6	6	33	6	11	20	Pozitif
83	8	17	6	34	30	34	26	34	28	26	36	18	Pozitif
84	16	21	6	28	27	30	24	30	30	29	36	20	Pozitif
85	16	18	32	30	28	30	24	32	30	22	34	18	Negatif
86	8	21	6	30	28	8	25	28	26	20	31	19	Pozitif
87	8	13	6	30	27	27	25	26	27	11	33	18	Pozitif
88	19	20	32	28	6	12	23	11	28	11	32	20	Negatif
89	9	20	28	29	26	28	20	26	30	22	32	20	Negatif
90	6	6	6	6	26	8	6	6	30	6	6	16	Negatif
91	6	18	32	30	28	26	24	28	25	24	34	19	Negatif
92	10	20	32	34	26	24	24	30	28	26	34	18	Negatif
93	8	20	10	32	30	11	26	32	32	25	35	18	Pozitif
94	10	20	34	32	16	32	24	32	30	26	36	20	Negatif
95	6	20	34	32	30	10	24	32	34	24	34	17	Negatif
96	16	20	34	30	13	32	26	30	32	26	36	21	Negatif
97	12	21	34	28	30	12	10	32	30	26	36	21	Negatif
98	8	20	28	28	27	24	23	28	30	25	33	20	Negatif
99	8	18	6	30	26	8	23	28	27	22	32	20	Pozitif
100	6	16	34	34	26	10	26	26	28	22	32	19	Negatif

Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları

İzolat No	Mikroorganizma	Klinik Örnek Türü	BPR MİK	DAP MİK	VAN MİK
1	MRSA	CYD (Apse)	2	0,25	2
2	MRSA	CYD (Yüzeyel Enfeksiyon)	2	0,25	2
3	MRSA	CYD (Apse)	2	0,25	2
4	MRSA	CYD (Apse)	2	0,25	2
5	MRSA	CYD (Apse)	1	0,25	2
6	MRSA	CYD (Derin Enfeksiyon)	2	0,25	2
7	MRSA	CYD (Subkutan Apse)	2	0,125	2
8	MRSA	CYD (Subkutan Apse)	1	0,125	2
9	MRSA	CYD (Doku Parçası)	1	0,25	1
10	MRSA	CYD (Doku Parçası)	2	0,25	2
11	MRSA	CYD (Apse)	2	0,25	1
12	MRSA	CYD (Apse)	1	0,25	1
13	MRSA	CYD (Kronik Yara)	0,25	0,125	1
14	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
15	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
16	MRSA	CYD (Cerrahi Yara)	0,5	0,125	1
17	MRSA	Eklem Sıvısı	1	2	1
18	MRSA	CYD (Subkutan Apse)	1	1	1
19	MRSA	CYD (Apse)	1	2	0,125
20	MRSA	CYD (Derin Enfeksiyon)	2	0,5	2
21	MRSA	CYD (Subkutan Apse)	1	1	0,5
22	MRSA	CYD (Doku Parçası)	1	1	1
23	MRSA	CYD (Kronik Yara)	2	2	1
24	MRSA	Periton Sıvısı	8	1	2
25	MRSA	CYD (Doku Parçası)	2	1	1
26	MRSA	CYD (Kronik Yara)	1	1	1
27	MRSA	CYD (Apse)	1	1	2
28	MRSA	CYD (Apse)	2	1	2

29	MRSA	CYD (Doku Örneği)	2	1	2
30	MRSA	Konjonktiva	2	1	2
31	MRSA	Balgam Kültürü	2	-	2
32	MRSA	Konjonktiva	1	1	1
33	MRSA	Balgam Kültürü	2	-	1
34	MRSA	Balgam Kültürü	2	-	2
35	MRSA	CYD (Apse)	1	0,5	1
36	MRSA	Kan Kültürü	1	1	2
37	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
38	MRSA	Kan Kültürü	2	0,5	1
39	MRSA	Kan Kültürü	2	1	2
40	MRSA	Kan Kültürü	2	0,25	1
41	MRSA	Kan Kültürü	2	0,5	2
42	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
43	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
44	MRSA	Kan Kültürü	0,125	0,5	2
45	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
46	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
47	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
48	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
49	MRSA	Kan Kültürü	2	2	2
50	MRSA	Kan Kültürü	0,5	0,125	1
51	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
52	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
53	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
54	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
55	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
56	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
57	MRSA	Kan Kültürü	1	1	1
58	MRSA	Kan Kültürü	2	0,5	2
59	MRSA	Kan Kültürü	8	0,5	2
60	MRSA	Kan Kültürü	1	0,5	1

61	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
62	MRSA	Kan Kültürü	1	1	2
63	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
64	MRSA	Kan Kültürü	1	0,5	1
65	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
66	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
67	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	0,5
68	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
69	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
70	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
71	MRSA	Kan Kültürü	2	0,25	1
72	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
73	MRSA	Kan Kültürü	0,5	0,25	1
74	MRSA	Kan Kültürü	4	0,5	2
75	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
76	MRSA	Kan Kültürü	1	1	2
77	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1
78	MRSA	Kan Kültürü	1	0,5	1
79	MRSA	Kan Kültürü	1	0,5	2
80	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
81	MRSA	Kan Kültürü	0,25	0,25	2
82	MRSA	Kan Kültürü	0,25	0,125	2
83	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
84	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	2
85	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
86	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	2
87	MRSA	Kan Kültürü	2	0,125	1
88	MRSA	Kan Kültürü	1	0,5	1
89	MRSA	Kan Kültürü	1	0,125	1
90	MRSA	Kan Kültürü	4	1	2
91	MRSA	Kan Kültürü	2	0,125	1
92	MRSA	Kan Kültürü	1	0,25	1

93	MRSA	Kan Kùltürü	1	0,25	1
94	MRSA	Kan Kùltürü	1	0,125	2
95	MRSA	Kan Kùltürü	1	0,125	1
96	MRSA	Kan Kùltürü	0,5	0,125	1
97	MRSA	Kan Kùltürü	2	0,25	1
98	MRSA	Kan Kùltürü	0,5	0,25	1
99	MRSA	Kan Kùltürü	0,25	0,25	1
100	MRSA	Kan Kùltürü	0,5	0,25	1

- : Solunum yolu örnekleri (balgam)

FORMLAR

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARINDA SEFTOBİPROLÜN
TEK BAŞINA VE KOMBİNE HALDE IN VITRO ETKİNLİĞİ

ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	4%
2	klimud2023.org Internet Source	2%
3	docplayer.biz.tr Internet Source	1%
4	www.tipacilar.com Internet Source	1%
5	Submitted to Istanbul University Student Paper	<1%
6	avesis.istanbul.edu.tr Internet Source	<1%
7	Kekec, ozge. "Pseudomonas Aeruginosa Pao1 Susunda Sicaklik, Ph Ve Klor Streslerine Karsi Biyofilm Olusumunu Tetikleyen Genlerin Etkinliginin Real-time Pcr Yontemi Ile Belirlenmesi.", Marmara Universitesi (Turkey), 2021	<1%