

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**DENEYSEL METİSİLİNE DİRENÇLİ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS OSTEOMİYELİT
MODELİNDE STANDART TERAPİNİN
(TEİKOPLANİN); DAPTOMİSİN, LİNEZOLİD VE
FUSİDİK ASİT TEDAVİSİ İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.YASEMİN ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR.AYŞE YÜCE

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2014

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**DENEYSEL METİSİLİNE DİRENÇLİ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS OSTEOMİYELİT
MODELİNDE STANDART TERAPİNİN
(TEİKOPLANİN); DAPTOMİSİN, LİNEZOLİD VE
FUSİDİK ASİT TEDAVİSİ İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.YASEMİN ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR.AYŞE YÜCE

UZMANLIK TEZİ

İÇİNDEKİLER:

TABLO DİZİNİ.....	iii
ŞEKİL DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2.GENEL BİLGİLER.....	5
<u>2.1.Tanım</u>	5
<u>2.2.Tarihçe</u>	5
<u>2.3.Patofizyoloji</u>	6
<u>2.4.Sınıflandırma</u>	6
2.4.1.Lew-Waldvogel Osteomyelit Evrelemesi.....	7
2.4.2.Cierny-Mader Osteomyelit Evrelemesi.....	7
<u>2.5.Klinik</u>	8
<u>2.6.Tanı</u>	8
2.6.1.Laboratuvar Testleri.....	9
2.6.2.Radyolojik Bulgular.....	9
2.6.3.Mikrobiyolojik İnceleme.....	10
<u>2.7.Tedavi</u>	12
2.7.1.Antibiyotik Tedavisi.....	12
<i>2.7.1.a.Antimikrobiyal Terapi Hedeflerinin Tanımlanması</i>	12
<i>2.7.1.b.Antibiyotik Spektrumu</i>	13
<i>2.7.1.c.Uygulama Yolu</i>	13
<i>2.7.1.d.Antibiyotik Seçenekleri</i>	15
<i>2.7.1.e.Antibiyotik Tedavi Süresi</i>	26
2.7.2.Cerrahi Tedavi.....	26

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
<u>3.1.Osteomyelit Modeli Oluşturulması.....</u>	29
3.1.1.Deneyin Aşamaları.....	29
<u>3.2.Enfeksiyonun Kanıtlanması.....</u>	29
<u>3.3.Tedaviye Kadar İzlem.....</u>	31
<u>3.4.Tedavi.....</u>	31
<u>3.5.Çalışmanın Sonlandırılması.....</u>	32
<u>3.6.İstatistik.....</u>	33
4.BULGULAR.....	34
5.TARTIşMA VE SONUÇ.....	43
6.KAYNAKLAR.....	52

TABLO DİZİNİ:

Tablo 1: Cierny-Mader osteomyelit evrelemesi.....	7
Tablo 2: Osteomyelitte immünyanıt,metabolizma ve vaskülariteyi etkileyen lokal ve sistemik faktörler.....	8
Tablo 3: Osteomyelit etkenleri.....	10
Tablo 4: Farklı klinik tablolarda sık rastlanan osteomyelit etkenleri.....	11
Tablo 5: Osteomyelit tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller, uygulama yolu ve dozları..	14
Tablo 6: <i>S.aureus</i> ve MRSA osteomyelitinde tedavi seçenekleri.....	15
Tablo 7: Sıçanların ağırlıklarına göre gruplara dağılımı.....	27
Tablo 8: Deney gruplarına göre uygulanan antibiyotik tedavisi.....	31
Tablo 9: Tedavi başlangıcına kadar ağırlık değışimleri.....	35
Tablo 10: Tedavi öncesi seçilen beş sıçanda üreme miktarları.....	35
Tablo 11: Uygulanan antibiyotiklerin MİK değeri.....	36
Tablo 12: Makroskopik enfeksiyon bulguları.....	38
Tablo 13: Ağırlık değeriindeki kayıpların karşılaştırılması.....	39
Tablo 14: Tedavi gruplarına göre mikroorganizma sayıları.....	41
Tablo 15: Tedavi gruplarına göre üreyen mikroorganizma sayılarının log ₁₀ cfu/gr cinsinden karşılaştırılması.....	41

ŞEKİL DİZİNİ:

Şekil 1: Lokal enfeksiyon bulgularının dağılımı.....	34
Şekil 2: Çalışma başlangıcından sonuna kadar ağırlık değişimleri.....	39
Şekil 3: 28 günlük tedavi sonunda kemik dokusundaki MRSA oranları.....	40
Şekil 4: Tedavi sonrası makroskopik ve mikrobiyolojik bulguların karşılaştırılması.....	42

KISALTMALAR:

MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
Kob-cfu-	: Koloni oluşturan bakteri
IV	: İntravenöz
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus epidermidis</i>
VRSA	: Vankomisine dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	: Vankomisine dirençli enterokok
KDYDE	: Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları
U.S.FDA	: U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
<i>S.pneumoniae</i>	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>
ESH	: Eritrosit sedimentasyon hızı
CRP	: C-reaktif protein
PNL	: Polimorfonükleer lökosit
USG	: Ultrasonografi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
F-18 FDG PET:	F-18 Florodeoksiglukoz Pozitron Emisyon Tomografisi
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
KNS	: Koagulaz negatif stafilokok
spp.	: Türleri
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
PO	: Peroral
IM	: İntramusküler
PBP	: Penisilin bağlayan protein
GISA	: Glikopeptide orta duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
VISA	: Vankomisine orta duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>

K⁺	: Potasyum
Ca⁺⁺	: Kalsiyum
Min.	: Minimum
Mak.	: Maksimum
Ort.	: Ortalama
St.sapma	: Standart sapma
ATCC[®]	: Amerikan tip kültür koleksiyonu (American Type Culture Collection)
TSB	: Tyriptic Soy Broth
BHI Agar	: Beyin-Kalp İnfüzyon Agar (Brain-Heart Infusion Agar)
NaCl	: Sodyum klorür
log₁₀	: 10 tabanına göre logaritma

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan hocalarım Sayın Prof.Dr.Ayşe Yüce, Sayın Prof.Dr.Nedim Çakır, Sayın Prof.Dr.Nur Yapar, Sayın Prof.Dr.Vildan Avkan Oğuz, Sayın Doç.Dr.Ziya Kuruüzüm, Sayın Yard.Doç.Dr.Sema Alp Çavuş, Sayın Uzm.Dr.Oya Özlem Eren Kutsoylu'ya;

Tez çalışmamın ‘‘enfeksiyon modeli oluşturulması ve takibi’’ aşamasında büyük destek olan Multidisipliner Laboratuvarı Deney Hayvanları Birimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi AD Başkanı Sayın Prof.Dr.Osman Yılmaz, Uzm.Biyolog Efsun Kolatan, teknisyen Adem Bey'e;

Tez çalışmamın ‘‘mikrobiyolojik prosedürlerin uygulanması’’ aşamasında teknik açıdan destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji AD öğretim üyesi Sayın Prof.Dr.Zeynep Gülay'a;

Enfeksiyon modeli oluşturulmasında yardımını eksik etmeyen Dr.Gökhan Bilen'e;

Uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalıştığım Uzm.Dr.Halil Aslan, Uzm.Dr.Münir Hançer, Uzm.Dr.Bengisu Ay, Uzm.Dr.Sevil Sapmaz Karabağ, Uzm.Dr.Eray Aktaş, Uzm.Dr.Zeynep Karlıbaş, Uzm.Dr.Kübra Demir Önder, Dr.Vecihe Dursun, Dr.Hatice Köse, Dr.Hande Hazır Konya, Dr.Madina Abdullayeva, Dr.Muammer Çelik, Dr.Üstün Andaç Dinçtürk'e;

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servis ve enfeksiyon kontrol komitesi hemşirelerine, sekreter ve personellerine;

Rotasyonum sırasında bıkmadan ve usanmadan her türlü soruma yanıt vermeye çalışan, laboratuvar pratiğimi geliştirmeme yardımcı olan arkadaşlarım, Tıbbi Mikrobiyoloji AD asistan doktorları ile biyolog ve teknisyenlerine;

Hayatımın her aşamasında sevgi ve güvenlerini hissettiğim, varlıklarını yaşam kaynağım saydığım canım babam ve canım anneme, sevgili eşime;

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürler...

Dr.Yasemin ŞAHİN

ÖZET:

Deneysel Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus Osteomyelit Modelinde Standart Terapinin (Teikoplanin); Daptomisin, Linezolid ve Fusidik Asit Tedavisi ile Karşılaştırılması

Dr.Yasemin Şahin

Danışman: Prof.Dr.Ayşe Yüce

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD,
Narlidere/İZMİR

Amaç: Sıçanda oluşturulan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) osteomyelit modelinde teikoplanin terapisinin daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavileri ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi planlandı.

Gereç ve Yöntem: Osteomyelit modeli, 10^8 koloni oluşturan bakteri (kob-cfu-)/ml MRSA suşunun intramedüller enjeksiyonuyla meydana getirildi. Osteomyelit oluşumu 14.günde doğrulandıktan sonra, ilk dört gruptaki enfekte sıçanlara sırasıyla; teikoplanin, daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavileri başlandı. Beşinci gruba (kontrol grubu) ise antibiyotik tedavisi verilmedi. İntravenöz (IV) yoldan 28 gün boyunca antibiyotik tedavisi uygulanan sıçanlar sakrifiye edildi ve tibiaları çıkarıldı. Çıkarılan kemik doku tartıldı ve kültürü yapıldı.

Sonuçlar: Kemik dokuda üreyen mikroorganizma sayısı teikoplanin, daptomisin, linezolid ve fusidik asit alan gruplarda kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü (sırayla $p=0.033$, $p=0.004$, $p=0.005$ ve $p=0.04$). Ancak; daptomisin ve linezolid tedavisi alan gruplar arasında bu açıdan fark saptanmadı ($p=1.00$). Aynı şekilde; teikoplanin ve fusidik asit tedavisi verilen gruplar arasında da bu açıdan fark saptanmadı ($p=0.6$). Bu iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında ise; daptomisin ve linezolid alan grupta, anlamlı olarak daha az sayıda mikroorganizma üremesi olduğu görüldü ($p=0.043$).

Anahtar kelimeler: MRSA; osteomyelit; teikoplanin; daptomisin; linezolid; fusidik asit

SUMMARY:

Comparison of the Standard Therapy (Teicoplanin) with Daptomycin, Linezolid, Fucidic Acid Treatment in an Experimental Methicilin Resistant Staphylococcus aureus Osteomyelitis Model

Aim: We tried to figure out the efficacy of teicoplanin with the comparison of daptomycin, linezolid and fucidic acid therapies in a rat model of MRSA osteomyelitis.

Material and Methods: Osteomyelitis was developed with an intramedullary injection of 10^8 cfu/ml of MRSA. After osteomyelitis formation was confirmed on day 14; teicoplanin, daptomycin, linezolid and fucidic acid therapies were started to the first four groups of rats infected. No treatment was given to the fifth group (control group). A 28 day antibiotic therapy with an IV injection was administered. Rats were then sacrificed and the tibias were harvested. The bones were weighed and then cultured.

Results: Our results indicated that bacterial growth was significantly reduced in teicoplanin, daptomycin, linezolid and fucidic acid groups; compared with the control group ($p=0.033$, $p=0.004$, $p=0.005$ and $p=0.04$, respectively). However; no difference was detected between daptomycin and linezolid groups ($p=1.00$). In the same way; no difference was detected between teicoplanin and fucidic acid groups ($p=0.6$). When those groups were compared with each other; in daptomycin and linezolid group significantly fewer microorganism growth was observed ($p=0.043$).

Key words: MRSA; osteomyelitis; teicoplanin; daptomycin; linezolid; fucidic acid

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Osteomyelit, temel etkeni stafilokoklar olan; kemiğin inflamatuvar destrüksiyonu ve nekrozu ile giden, yeni kemik oluşumunun izlendiği, progresif iltihabi süreçle karakterize bir enfeksiyondur. Bakteriyemi ile seyredebilir ve hematojen komplikasyon riski oldukça yüksektir. Sıklıkla kronikleşir ve ciddi oranda rekürrens eğilimi bulunmaktadır. Klinik yönetimi oldukça zor olan bu enfeksiyonlarda; tedavide kullanılabilen antibiyotik seçenekleri kısıtlıdır. Etkin tedavi için gereken süre uzun olmakla birlikte, klinik başarı oranları buna göre düşüktür (1).

Özellikle MRSA kolonizasyonundaki artışla birlikte, altta yatan hazırlayıcı faktörleri de olan hastalarda çeşitli klinik prezantasyonlarda enfeksiyon gelişimi görülmektedir. MRSA osteomyeliti sıklığında geçmişten günümüze artış saptanmasının nedenlerinden birtanesi de budur. MRSA ile gelişen osteomyelitin tedavisi, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ile karşılaştırıldığında; daha zordur ve prognozu da daha kötüdür (1, 2).

Etkeni MRSA olarak kanıtlanmış osteomyelitli hastalarda temel ve standart sayılabilecek tedavi seçeneği; glikopeptidlerdir. Dirençli gram pozitif nozokomiyal patojenlerin sıklığının artması, yaygın glikopeptid kullanımının nedenlerinden biri olarak gösterilebilir (3). Ülkemizde, glikopeptid grubu antibiyotiklerden vankomisin ve teikoplanin bulunmaktadır. Bu iki antibiyotığın klinik etkilerinin karşılaştırıldığı Avrupa kaynaklı randomize araştırmaların meta-analiz sonuçları incelendiğinde; teikoplanin kullanımı ile klinik yanıt oranlarının, vankomisin kullanımına göre daha yüksek olduğu görülmektedir (4). Bununla birlikte; son yıllarda artan glikopeptid direnci nedeni ile osteomyelit tedavisinde alternatif seçenekler aranmaktadır.

MRSA, metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), vankomisine dirençli *Staphylococcus aureus* (VRSA) ve vankomisine dirençli enterokok (VRE) türlerine etkili olan daptomisin; komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında (KDYDE) kullanılmak üzere, 2003 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nden (U.S. FDA) onay almıştır (5). Osteomyelitte kullanım onayı olmayan daptomisinle ilgili bu alandaki deneyimler henüz yetersizdir. İn vitro bilgiler, kemik dokusuna iyi geçebildiği yönündedir. Alternatif tedavilere yanıtız ve dirençli kökenlerle oluşmuş, ana etkenin MRSA olduğu kemik ve eklem enfeksiyonlarında etkinliği; %90'lara varan oranda yüksek bulunmuştur (6).

Oksazolidonlardan linezolid; MRSA ile ilişkili olarak gelişen deri ve yumuşak doku infeksiyonları ile toplum kökenli veya nozokomiyal pnömoni, VRE bakteriyemisi ve penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* (*S pneumoniae*)'ye bağlı pnömonide kullanılmak üzere onay almıştır. Osteomyelitte kullanım onayı yoktur (7).

Fusidik asit, başta stafilokoklar olmak üzere tüm gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Kemik dokuya geçişi iyidir; ancak direnç gelişimini engellemek amacıyla diğer antibiyotiklerle kombine kullanımı önerilmektedir (8).

Mevcut bilgi ve deneyimler doğrultusunda yapılması planlanan bu çalışma ile, deneysel olarak meydana getirilecek osteomyelit modelinde standart terapinin (glikopeptidlerden teikoplanin); daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavisi ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi planlanmıştır. Böylece; klinik araştırmaların önünün açılması ve glikopeptidler dışındaki antibiyotiklerin, MRSA osteomyeliti tedavisinde kullanılabilirliği ile ilgili elde edilmesi beklenen objektif kanıtlara olumlu yönde katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER:

2.1.Tanım:

Osteomyelit; sıklıkla piyojenik bakterilerin, nadiren mikobakterilerin ve fungusların yol açtığı; kemik dokunun destrüksiyonunu da içine alan enflamatuvar bir süreçtir. Enflamasyon, kemik dokunun sadece bir tabakasına sınırlı olabileceği gibi; kemik iliği, korteks, periost ve yumuşak dokuyu kapsayan geniş bir alanı da etkileyebilir (1).

Tedavisi en güç ve en uzun süren enfeksiyon hastalıklarından biri olan osteomyelitte; anatomik ve patofizyolojik bazı özellikler nedeniyle tedavi başarısı, diğer enfeksiyon hastalıklarında elde edilenden çok daha düşüktür. Hastaların çoğu; defalarca opere edilen, uzun süre değişik antimikrobiyal tedaviler alan; fakat enfeksiyon etkeni eradike edilemeyen ve klinik iyileşme süreci uzun olanlardır (2).

2.2.Tarihçe:

Tarihteki ilk osteomyelit kayıtlarına, MÖ 2500 yıllarındaki Hindu yazıtlarında rastlanmaktadır. Hipokrat, MÖ 400'de; travma ile ilişkili olarak gelişen kemik enfeksiyonlarını ve sekestrin (kemik nekrozu) spontan atılmasını tarif etmiştir. Howship ve Havers, XVII. yüzyılda kemik anatomisini ayrıntılı olarak tanımlamış ve Percival Pott, sekestrektomiye tarif etmiştir. Brodie, 1830'da dokuz adet kronik kemik absesi olgusu yayınlamıştır. Nelaton'un, 1834'de osteomyelit terimini kullandığı belirtilmektedir (1).

2.3.Patofizyoloji:

Osteomyelit; komşu yumuşak doku ve eklemlerden direkt yayılım yoluyla, hematogen yolla ve mikroorganizmaların travma veya cerrahi işlem sonrası kemiğe direkt inokülasyonu sonucu gelişebilir. Akut osteomyelit alanının mikroskopik incelemesinde; bakteri veya diğer mikroorganizmaların invazyonu sonucu oluşan akut süperatif enflamasyon görülür. Çeşitli enflamatuar faktörler ve lökositler doku nekrozuna; bu da, kemik trabekülü ve kemik matriksinin tahribine neden olur. Enflamatuar süreçte oblitere olan vasküler yapılar sebebiyle; iskemi artarak kemik nekrozuna katkıda bulunur. Kemik segmentlerinin kan akımından yeterince yararlanmadığı bu durumda; antibiyotik tedavisinin bakteriler üzerindeki etkinliği de azalmış olur. Enfarkt alanında osteoklastik aktivitenin artmasına bağlı olarak reaktif hiperemi gelişir. Bu osteoklastik aktivite artışı, kemik kaybı ve lokalize osteoporoz ile sonuçlanır. Bununla birlikte; yeni kemik oluşumları da görülebilir. Kronik osteomyelitte ise; nekrotik kemik alanında yeni kemik oluşumu ve özellikle lenfosit, histiyosit ve plazma hücrelerini içeren mononükleer hücre infiltrasyonu görülür. Enfekte alanda, endosteum ve periost altındaki ölü kemik dokusunu çevreleyen; involukrum olarak da bilinen yeni kemik oluşumu gözlenir. İnvolutrum, çok düzensiz bir yapıdır ve zamanla yumuşak dokuyu perfor ederek cilt yüzeyine açılır; sinüs traktı oluşturabilir. İnvolutrum o kadar büyük yoğunluğa ulaşabilir ki; yeni diyafizin bir bölümünü veya tamamını oluşturabilir. Endosteal yeni kemik büyüyerek medüller kanalı tıkayabilir. Bu ölü kemik dokusunun cerrahi olarak veya konak savunması ile ortadan kaldırılmasından sonra kalan boşluk, özellikle çocuklarda yeni kemik dokusu ile tekrar dolabilir. Yetişkinlerde ise kavite kalabilir veya fibröz doku ile dolabilir, bazen de sinüs traktı ile cilt yüzeyine açılabilir (9, 10).

2.4.Sınıflandırma:

Osteomyelitte sık kullanılan iki evreleme sistemi vardır:

2.4.1.Lew-Waldvogel Osteomyelit Evrelemesi:

Lew ve Waldvogel, osteomyeliti hastalık süresi (akut-kronik), enfeksiyon mekanizması (hematojen-komşuluk) ve vasküler yetmezlik bulunma durumuna göre sınıflandırmışlardır. Enfeksiyonun oluşum süresine ve klinik prezantasyonuna göre yapılan akut ve kronik ayrımı, kesin tanımlamaları olmadığı için günümüzde geçerli olan osteomyelit sınıflama sistemi içerisinde genel kabul görmese de; pratik yaklaşımda yarar sağlamaktadır (9).

2.4.2.Cierny-Mader Osteomyelit Evrelemesi:

Daha yeni bir sınıflandırma sistemi oluşturan Cierny ve Mader, osteomyeliti; etkilenen bölgeye, konağın fizyolojik durumuna ve lokal çevreye göre daha detaylı olarak evrelemişlerdir (Tablo 1). Genel kabul gören bu sınıflama; özellikle uzun kemik osteomyelitinde, enfeksiyonun ciddiyetini ve prognozunu belirlemede ve tedaviyi yönlendirmede olumlu katkı sağlamaktadır (11).

Tablo 1: Cierny-Mader osteomyelit evrelemesi

Sınıflama	Açıklama
Anatomik	
Evre 1	Medüller osteomyelit
Evre 2	Yüzeyel osteomyelit
Evre 3	Lokelize osteomyelit
Evre 4	Diffüz osteomyelit
Fizyolojik	
A grubu	Normal hasta
B grubu	Sistemik/lokal veya sistemik ve lokal olarak immunkompromize hasta
C grubu	Hastalığın yetersiz tedavisi

Evre 1’de tipik olarak sadece antimikrobiyal tedavi ile kür elde edilebilirken; evre 3’de sıklıkla agresif cerrahi debridman, antimikrobiyal tedavi ve gecikmiş ortopedik rekonstrüksiyona ihtiyaç duyulur (11).

2.5.Klinik:

Akut hematojen osteomyelit genellikle çocuklarda görülmektedir. İlgili eklem veya kemik bölgesinde ağrı ve hareket kısıtlılığı ile ödem ve eritem saptanabilir. Ateş yüksekliği gelişebilir (12). Yetişkin hasta grubunda ise osteomyelit genellikle subakut veya kronik olarak belirsiz yakınmalarla seyreder. Sistemik bulgu ve semptomlar görülmezken, ilgili bölge etrafında nonspesifik ağrı hissedilebilir. Ateş yüksekliği, lokal ödem ve eritem nadiren bulunur. Enfekte aspirat, ilgili kemik bölgesinden sinüs traktı ile drene olabilir; ancak bu durum, genellikle aylar ve yıllar içerisinde gelişir (13). Bununla birlikte; hastalardaki bazı sistemik ve lokal faktörler de immünyanı, metabolizma ve vaskülariteyi etkileyerek hastalık gelişimi ve tedaviye yanıt sürecini değiştirebilmektedir (1). Osteomyelitte immünyanı, metabolizma ve vaskülariteyi etkileyen faktörler Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2: Osteomyelitte immünyanı, metabolizma ve vaskülariteyi etkileyen faktörler

Sistemik	Lokal
Malnütrisyon	Kronik lenfödem
Böbrek ve karaciğer yetmezliği	Venöz yetmezlik
DM	Büyük damar anomalileri
Kronik hipoksi	Arteritler
Malignite	Büyük skarlar
Yaş	Radyasyon fibrozisi
İmmünyetmezlik	Küçük damar hastalıkları
Aspleni	Nöropati
HIV/AIDS	
Alkol ve/veya sigara kullanımı	

2.6.Tanı:

Osteomyelit yönetimindeki sorunlardan ilki, tanıyı kesinleştirme aşamasında karşımıza çıkmaktadır. Klinik bulgular, laboratuvar testleri, örneklerin mikrobiyolojik analizi ve görüntüleme yöntemleri ile tanı konulmaya çalışılır.

2.6.1.Laboratuvar Testleri:

Akut osteomyelitte; eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP) ve prokalsitonin hemen hemen her hastada yükselir. ESH, başarılı bir tedavi sonrasında düşebilir ve prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir. Ancak; ESH ölçümü akut veya kronik osteomyelit tanı ve takibinde sensitif bir test değildir. CRP, tedavinin başarılı olması halinde ESH'ndan daha hızlı bir şekilde düşer. CRP'in yüksek seyretmesi veya tekrar yükselmesi, yeni bir süreci veya eski enfeksiyonun kötüleştiğini gösterebilir. CRP, ESH'ndan daha sensitif bir test olmasına rağmen; osteomyelit tanısında tek başına yeterli değildir (14).

Akut osteomyelitte lökosit sayısı artabilir. Bu durumda, periferik yaymada polimorfonükleer lökosit (PNL) hakimiyeti vardır; ancak kronik osteomyelitte PNL yüzde değeri genellikle normaldir (14).

2.6.2.Radyolojik Bulgular:

Akut osteomyelitte radyolojik değişiklikler, 10-15 güne kadar görülmez. Osteomyelit için tanısız olan litik lezyonlar ise, daha geç ortaya çıkma eğilimindedir (15).

Tüm hastalarda değerlendirme direkt grafi ile başlar. Konvansiyonel radyografi hem enfeksiyonun gösterilmesinde, hem de takibinde gereklidir. Ultrasonografi (USG), akut osteomyelitin erken tanısında veya yumuşak dokudaki pürülan materyalin saptanmasında yararlı olabilir. Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yöntemleri yüksek rezolüsyon gücü ile, konvansiyonel radyografinin normal olduğu durumlarda; kortikomedüller destrüksiyonu, periost reaksiyonunu, eklem hasarını ve yumuşak doku yayılımını ortaya çıkarabilir. MRG, erken kemik iliği ödemi ortaya çıkarır ve bu nedenle; enfeksiyonun erken tespitinde en yararlı radyolojik uygulamadır (16).

Yukarıda bahsedilen ve rutinde sık olarak kullanılan görüntüleme yöntemleri dışında, osteomyelit tanısını desteklemede yararlanılabilecek diğer radyolojik tetkikler arasında; kemik sintigrafisi, lökosit işaretli sintigrafisi, kombine kemik-galyum sintigrafisi ve F-18 florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi (F-18 FDG-PET) sayılabilir (15).

2.6.3.Mikrobiyolojik İnceleme:

Etken patojen(ler)in izole edilmesi, osteomyelit tanısında altın standarttır. Yara sürüntüsü veya iğne biyopsileri ile alınan materyalin kültürü yeterli değildir. Debridman sırasında yara bol miktarda serum fizyolojik ile irrigedildikten sonra, derin; çok sayıda pürülan sıvı ve debris örnekleri alınarak, aerob ve anaerob kültürler için mikrobiyoloji laboratuvarına yollanmalıdır. Ayrıca; yumuşak doku ve kemik örnekleri, malign değişiklikleri ekarte etmek için patolojik incelemeye de gönderilmelidir (17).

Osteomyelite neden olan etkenler, genel olarak ve farklı klinik tablolarda rastlanma sıklıklarına göre Tablo 3 ve 4’de gösterilmiştir (1).

Tablo 3: Osteomyelit etkenleri

En sık	Sık	Nadir
<i>S.aureus</i> *	Streptokoklar	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
KNS**	Enterokoklar	<i>Mycobacterium avium complex</i>
	<i>Pseudomonas spp.</i> ***	<i>Candida spp.</i>
	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>
	<i>Proteus spp.</i>	<i>Mycoplasma spp.</i>
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Tropheryma whipplei</i>
	<i>Serratia spp.</i>	<i>Brucella spp.</i>
	Anaeroblar	<i>Salmonella spp.</i>
		<i>Actinomyces</i>

Staphylococcus aureus* **Koagulaz negatif stafilokok *Türleri

Tablo 4: Farklı klinik tablolarda sık rastlanan osteomyelit etkenleri

Klinik Tablo	Etken
Klasik osteomyelit	<i>S.aureus</i>
Yabancı cisim enfeksiyonu	KNS
Nozokomiyal enfeksiyonlar	<i>Propionibacterium spp.</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Diyabetik ayak yarası/Dekübit ülseri	<i>Candida spp.</i> Streptokoklar
Orak hücreli anemi	Anaeroblar <i>Salmonella spp.</i>
HIV/AIDS	<i>S.pneumoniae</i> <i>Bartonella henselae</i>
İnsan/hayvan ısırıkları	<i>Bartonella quintana</i> <i>Pasteurella multocida</i>
İmmünyetmezlik	<i>Eikenella corrodens</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida albicans</i>
Bazı etkenlerin endemik olarak görüldüğü bölgeler	Mikobakteriler <i>Brucella spp.</i> <i>Coxiella burnetti</i> Koksidiomikoz Blastomikoz

2.7.Tedavi:

Osteomyelit tedavisinin başarısını dört faktör etkilemektedir. Bunlar; hastanın genel metabolik ve fizyolojik durumu, hastada oluşan fonksiyonel kayıp, etkilenen anatomik bölge

ve kemik nekrozunun büyüklüğüdür. Temel prensip; radikal bir şekilde nekrotik dokuların temizlenmesi, ölü boşlukların doldurulması ve uzun süreli, etkin antibiyoterapi ile enfeksiyonun eradikasyonu ve/veya iskelet sistemi fonksiyonunun restorasyonudur (18). Klinik seyri başarılı bir şekilde yönetebilmek için; kemik enfeksiyonunun nasıl tanınacağını, hastalık patogenezi, etiyolojide rol oynayan mikroorganizmaları, anti-enfektif tedavi prensiplerini, cerrahi debridman ve rekonstrüktif işlemlerin ne zaman ve nasıl yapılacağını bilmek; bunların enfeksiyon hastalıkları uzmanı ve cerrahlardan (ortopedist, plastik cerrah, damar cerrahı, vb) oluşan bir ekip tarafından konsensusla uygulanmasını sağlamak gerekmektedir (19).

2.7.1. Antibiyotik Tedavisi:

Efektif antibiyotik tedavisi, çoğu küratif osteomyelit tedavi rejiminin mutlaka gerekli olan bir parçasıdır. Uzun kemik veya vertebranın akut medüller osteomyeliti gibi "Evre 1" osteomyelitte; hedefe yönelik uygun antimikrobiyal tedavi, mikroorganizmanın eradikasyonu ve kür için tek başına yeterli olacaktır. Ancak; daha yüksek evredeki akut ve kronik osteomyelitte genellikle kombine antibiyotik tedavisine ve aralıklı olarak nekrotik ve ölü dokunun debridmanı, abse drenajı, enfekte yabancı cisimlerin çıkarılması gibi cerrahi prosedürlere ihtiyaç duyulacaktır (18).

2.7.1.a. Antimikrobiyal Terapi Hedeflerinin Tanımlanması:

Uygun antimikrobiyal ajanın seçimi genel olarak, tedavi ile elde edilmek istenen hedeflere bağlıdır. Eğer hedef kür veya uzun süreli remisyon elde etmekse; etkene spesifik antibiyotik tedavisi; uygulama yolu, doz aralığı ve süresi dikkate alınarak optimize edilmelidir. Amaç; enfeksiyonun kontrol altına alınması olduğunda ise tedavi seçenekleri daha farklı olacaktır. Enfeksiyon etkeninin eradike edilememesi sebepleri arasında; enflamasyonun lokalizasyonu ve genişliği, tedavi seçeneklerini sınırlayan konak faktörleri veya yüksek derecede antibiyotik direncine sahip patojen varlığı sayılabilir (1, 9).

2.7.1.b. Antibiyotik Spektrumu:

Osteomyelit tedavisinde; antimikrobiyal ajan seçiminde en önemli parametre o ilacın etki ettiği spektrumun genişliğidir (9). Standart duyarlılık testleri, ilaç etkinliği ile ilgili in

vitro değerlendirme sağlar ve genel olarak in vitro duyarlılıkta belirtilen azalma, klinik başarıyla koreledir. Bununla birlikte; minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri veya disk difüzyon testi ile, antibiyotiğin yeterli serum düzeyinin elde edilebilirliğine bağlı olarak saptanmış duyarlılığın gösterilmesi; klinik başarıyı öngörmeye her zaman geçerli olmayabilir (20). Özellikle kemik dokusu ve bunu çevreleyen yumuşak dokuda, vasküler perfüzyondaki azalmaya bağlı olarak serumdakinden çok daha düşük seviyelerde antibiyotik düzeyi oluşabilir (9).

Antibiyotikler, biyofilm tabakasını penetre etme kapasitelerine veya spesifik pH ve oksidatif mikroçevredeki fonksiyonlarına göre de farklılık göstermektedirler (9). Farklı antibiyotiklerin osteomyelit tedavisindeki etkinlikleri ile ilgili daha geniş çaplı deneyim, iyi dizayn edilmiş hayvan modellerinden yola çıkılarak ortaya konulabilmiştir; ancak yeni birçok antimikrobiyal ilaç ve hatta bazı eski antibiyotiklerle ilgili yayınlanmış klinik çalışmalar buna göre yetersiz kalmaktadır (21, 22).

2.7.1.c.Uygulama Yolu:

Osteomyelit tedavisinde antibiyotiklerin uygulama yolu, hedeflenen kan ve kemik doku düzeylerine erişilebilirlikten daha az önem taşımaktadır. Dolayısıyla; florokinolonlar ve linezolid gibi oral biyoyararlanımları oldukça iyi olan antibiyotikler, fonksiyonel gastrointestinal sisteme sahip olan hastalara oral yoldan verilebilir. Oral terapi, özellikle uzamış tedavi rejimlerinde hasta için kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Ayrıca; IV katater ile ilişkili diğer komplikasyonların engellenmesi ve maliyet etkin olması, gözönünde bulundurulması gereken diğer avantajlarıdır (23). Hem oral, hem de parenteral formülasyonları olan bazı antibiyotikler; özellikle de penisilinler ve sefalosporinler için parenteral terapi, daha yüksek serum düzeyleri sağlamak veya hedeflenen serum düzeyine erişebilmek için gerekli olan yüksek oral dozlardan daha iyi tolere edilebilmektedir. Geniş spektrumlu sefalosporinler, vankomisin, aminoglikozidler ve karbapenemler gibi birçok önemli antibiyotik ise sadece IV yolla uygulanabilmektedir. Osteomyelit tedavisinde kullanılmış antibiyotiklerin oral ve parenteral biyoyararlanımları Tablo 5’de gösterilmiştir (22).

Tablo 5: Osteomyelit tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller, uygulama yolu ve dozları

Oral ve Parenteral Biyoyararlanımları Eş Antimikrobiyaller

	Sınıf	Günlük IV Doz	Günlük PO* Doz
Siprofloksasin	Florokinolon	2x400 mg	2x750 mg
Levofloksasin	Florokinolon	500-750 mg	500-750 mg
Moksifloksasin	Florokinolon	400 mg	400 mg
Klindamisin	Linkomisin	3x600-900 mg	4x300/450 mg
Linezolid	Oksazolidinon	2x600 mg	2x600 mg
Trimetoprim-sulfametoksazol	Sülfanomid	5-10 mg/kg	3x1/ 2x1 tablet
Minosiklin	Tetrasiklin	2x100 mg	2x100 mg
Metronidazol	Nitroimidazol	3x500 mg	3x500 mg
Rifampisin	Rifampisin	600 mg/2x300 mg	600 mg/2x300 mg
Flukonazol	Azol	400 mg	400 mg

Parenteral Tedavinin Üstün Olduğu Antibiyotikler

	Sınıf	Günlük IV Doz	Oral Alternatifler
Penisilin G	Penisilin	4-6x3-4 milyon ünite	Amoksisilin
Nafsilin	Penisilin	4-6x1-2 gr	Dikloksasilin, Kloksasilin

*Peroral

2.7.1.d.Antibiyotik Seçenekleri:

Osteomyelit tedavisinde; antibiyotik seçiminde spektrum ve toksisitenin yanı sıra, kullanılan antibiyotiğin güvenilirliği (Örn.; doz sıklığı, monitörizasyon gerekliliği vb) ve maliyet etkinlik gibi diğer faktörler de gözönünde bulundurulmalıdır. Genel olarak bakıldığında; osteomyelitin tüm formları ve evrelerinde en sık izole edilen mikroorganizma, *S.aureus*'tur. Suşların çoğu da, hastane kökenli MRSA'larda artışa ve giderek daha fazla ciddiye kazanan toplum kökenli MRSA'ların varlığına sekonder olarak; metisiline direnci artmış suşlardır (2, 24). *S.aureus* osteomyelitinde tedavi seçenekleri Tablo 6'da gözden geçirilmiştir (22).

Tablo 6: *S.aureus* ve MRSA osteomyelitinde tedavi seçenekleri

Antibiyotik	MRSA etkinliği	Etkinlik kanıtı				
		Hayvan çalışması	Olgu raporu	Olgu serisi	Klinik çalışma	Randomize klinik çalışma
Sefazolin	-	+	+	+	+	+
Seftriakson	-	+	+	+	+	+
Vankomisin	+++	+	+	+	+	+
Teikoplanin	+++	+	+	+	+	+
Linezolid	+++	+	+	+	+	-
Florokinolon	+	+	+	+	+	+
Daptomisin	+++	+	+	+	-	-
Klindamisin	+	+	+	+	+	+
Trimetoprim-sulfametoksazol	++	+	+	+	+	+
Tigesiklin	+++	+	+	-	-	-
Kinupristin-Dalfopristin	++	+	+	+	-	-
Fusidik asit						
Rifampisin	++	+	+	+	+	-
	+++	+	+	+	+	+

Etkeni MSSA olduğu saptanan osteomyelitli hastaların tedavisinde beta-laktam grubu antibiyotikler tercih edilmekle birlikte; MSSA suşlarının sadece %5'inden az bir bölümünün halen penisiline duyarlı olduğu unutulmamalıdır. MSSA osteomyelitli, penisilin ve

sefalosporin allerjisi olan bireylerin tedavisinde kullanılmak üzere alternatif birçok parenteral ve oral antibiyotik seçeneklerinin bulunduğu; ancak bunların etkinliklerinin beta-laktam grubu antibiyotiklere göre daha düşük seviyelerde seyrettiği bilinmelidir (9). Vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid grubu antibiyotikler ise, etkeni MSSA olduğu bilinen osteomyelitin tedavisinde kullanılmamalıdır. Yapılan retrospektif çalışmalarda; MSSA osteomyeliti tedavisinde vankomisin kullanımı ile, beta-laktam grubu antibiyotiklere göre daha fazla oranda relaps görüldüğü ortaya konulmuş (25) ve diğer ciddi enfeksiyonlarda (enfektif endokardit gibi) etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir (26).

Osteomyelit tedavisinde vankomisin kullanımı, son zamanlarda tüm dünyada; özellikle de hastanelerde genel olarak *S.aureus*'un etken olduğu enfeksiyonların çoğunu MRSA türlerinin oluşturması sebebiyle önemli ölçüde artmıştır. Öte yandan, giderek daha sık vankomisin kullanımının yarattığı önemli sonuçlardan biri de; dirençli ve orta derecede dirençli türlerin ortaya çıkışıyla sonuçlanan, vankomisin duyarlılığında zamanla azalmanın olmasıdır. Bu suşlarla oluşan enfeksiyonlar daha nadir olmakla birlikte, vankomisin tedavisi ile başarı oranları oldukça düşüktür (27). Bunun yanı sıra, optimal vankomisin dozu ve hedeflenen serum çukur düzeyi konusu da tartışmalıdır. Vankomisin MİK değeri 2 µg/ml olan türlerle gelişen enfeksiyonlarda, hedeflenen kemik doku düzeyini elde edebilmek için; serum çukur düzeyinin, normalde bulunması gereken değerlerden (5-10 µg/ml) daha yüksek olması gerekmektedir. Ancak; bu şekilde şüpheli artmış etkinliğe rağmen yüksek düzeylerin sürekliliği, antibiyotik ile ilişkili nefrotoksisitede artış sorununu gündeme getirmektedir (28).

Glikopeptid grubu antibiyotiklerin ikinci üyesi olan teikoplanin, 1978'de *Actinoplanes teichomyceicus*'tan elde edilmiş ve 1988'de klinik kullanıma girmiştir. Bu grup glikopeptidler, ABD'nde ruhsatlı değildir. Yapısal ve antimikrobiyal etkinlik olarak vankomisine benzemekte; ancak daha iyi farmakolojik özellikleri, kullanım kolaylığı ve güvenlik profili ile vankomisinden üstün tutulmaktadır (29). Vankomisin gibi hücre duvar sentez inhibisyonu yapan teikoplanin; terapötik dozlarda enterokoklara karşı bakteriyostatik, diğer bakterilere karşı bakterisidal etkilidir (28).

Glikopeptidlerin en önemli kullanım alanı metisiline dirençli stafilokokların etken olduğu ciddi enfeksiyonlardır. Streptokok, enterokok ve stafilokok endokarditleri, glikopeptidlerin başlıca klinik kullanım endikasyonları arasındadır. Ortopedik ve kardiyak

implant cerrahisi stafilokok enfeksiyonlarının sık görüldüğü girişimler olduğu için; bu olgularda gelişen enfeksiyonların standart ampirik tedavi rejimlerinde glikopeptidler yer alır. Metisiline direnç oranlarının yüksek olduğu hastanelerde ortopedik ve kardiyak cerrahi implant olgularında, glikopeptidler profilaktik olarak kullanılabilir. Belirtilen durumlar dışında glikopeptidlerin profilakside yeri yoktur. Yeterli doz ve sürede kullanılmasına karşın vankomisin ile, ciddi MRSA enfeksiyonları arasında en yüksek relaps veya tedavi başarısızlığı osteomyelitte görülmektedir (29).

Glikopeptidler, gastrointestinal sistemden emilmedikleri için oral preparatları yoktur. Teikoplanin; vankomisinin aksine hem IV yoldan bolus tarzında, hem de intramusküler (IM) olarak kullanılır. IM olarak uygulanan teikoplaninin biyoyararlanımı %90'dır (29).

Teikoplanin ile tedaviye normal dozlarda başlandığında; serumda kararlı ilaç düzeyine ulaşılabilmesi için yaklaşık bir haftalık sürenin geçmesi gereklidir. Bu nedenle enfeksiyonun tipi ve şiddetine göre; günde 400-800, hatta 2000 mg'lık yükleme dozu gerekir (dördüncü güne kadar tekrarlanabilir). Daha sonra idame doza geçilir. Ancak; hangi klinik durumda hangi idame dozun yeterli olacağı konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (30). Hafif-orta şiddetteki enfeksiyonların tedavisinde 6 mg/kg/gün teikoplanin, etkinlik yönünden 30 mg/kg/gün vankomisine eşdeğerdir. Ancak; ciddi enfeksiyonlarda 6 mg/kg/gün dozunda teikoplanin uygulanması yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca; sık teikoplanin kullanımının glikopeptidlere dirençli *S.aureus* suşlarının ortaya çıkışını hızlandırabileceği unutulmamalıdır. Bugüne kadar edinilen klinik deneyimlerden çıkarılan sonuçlara göre; yüzeysel cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde 3 mg/kg/gün, derin yara ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde 6-10 mg/kg/gün dozunda uygulama yeterlidir. Kemik ve eklem enfeksiyonlarında ise daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulmakta (6-15 mg/kg/gün), yavaş cevap veren ya da iyileşmeyen olgularda tedavi dozu 30 mg/kg/güne kadar çıkılabilmektedir (31).

Teikoplanin, vankomisine göre 50-100 kat daha lipofilik bir molekül yapısına sahiptir. Bu özellik teikoplanine; daha iyi bir doku ve hücre içi konsantrasyonu, daha uzun yarılanma ömrü, dokulara daha hızlı giriş ve kana daha yavaş salınım gibi avantajlar kazandırır. Ayrıca; teikoplanin fizyolojik pH'da vankomisine oranla çok daha iyi çözünür, buna bağlı olarak daha

iyi bir IM emilim elde edilir. Bu şekilde IM uygulama olanağı, özellikle kronik osteomyelit gibi evde uzun süreli parenteral tedavi gerektiren durumlarda önemli bir avantaj kazandırır. Yarı ömrü doza bağlı değişmek üzere 168 saat olan teikoplanin, vankomisin aksine günde tek doz uygulanabilir. Böbreklerden glomerüler filtrasyonla hemen hiç metabolize edilmeden atılır (29).

Fusidik asit, fusidan sınıfının bir üyesi olup *fusidium coccineum* mantarından elde edilen steroid benzeri yapıda bir antibiyotiktir. Ribozomlara bağlanmadan protein sentez inhibisyonu yaparak etkisini gösterir. Temel olarak bakteriyostatik; ancak yüksek dozlarda bakterisidal etkilidir. Avrupa'da 1962 yılında, ülkemizde ise 1998'de klinik kullanıma giren fusidik asit dar spektrumlu; özellikle MRSA ve MRSE suşlarına etkili, glikopeptid grubu antibiyotiklere oral kullanım üstünlüğü ve ucuz maliyeti nedeniyle alternatif olabilecek bir antibiyotiktir (31).

Oral, IV ya da topikal olarak kullanılabilen fusidik asitin ülkemizde sadece oral ve topikal kullanım şekli bulunmaktadır. Yarılanma ömrü 14-16 saat olan fusidik asit, proteinlere sıkı bir şekilde bağlandığı için tüm doku ve sıvılara iyi dağılır. Karaciğerde metabolize edilir. Böbrek yetmezliği bulunanlarda ve hemodiyaliz hastalarında doz ayarlaması gerekmez. Yan etkileri, ilacın uygulama yolu ile ilişkili olup; IV uygulama sırasında tromboflebit ve oral kullanım ile bulantı, kusma, ishal gibi semptomlar görülebilmektedir. Önemli bir yan etkisi de geriye dönüşümlü sarılıktır (31).

Kemik sekestreleri gibi avasküler enfeksiyon odaklarına ve biyofilm tabakasına iyi geçtiği gösterilen fusidik asit, biyofilm içindeki stafilokoklara karşı aynı oranda etkili değildir. Akut enfeksiyonlarda tek ilaç olarak kullanıldığında yüksek oranda direnç gelişirken, kombine tedavide bu oranın daha az olduğu gösterilmiştir. Kronik enfeksiyonlarda da, tek başına uygulandığı çalışmalarda benzer direnç oranları bulunmuştur. Sonuç olarak; osteomyelit, endokardit gibi ciddi enfeksiyonlarda diğer antistafilokoksik antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılması önerilmektedir (32, 33).

S.aureus osteomyelitinde başarı ile kullanılan bir diğer antibiyotik olan klindamisin kemige penetrasyonu ve oral biyoyararlanımı oldukça iyidir (23). Buna karşın; klindamisine duyarlı ve eritromisine dirençli *S.aureus* izolatları indüklenebilir klindamisin direnci açısından test edilmelidir. Bu durum, klindamisin ile direnç gelişimi ve tedavide başarısızlık ile sonuçlanabilmektedir (34).

MSSA ve MRSA ile ilişkili osteomyelit tedavisinde kullanılabilen ve biyoyararlanımı da iyi olan bir diğer antibiyotik, trimetoprim-sulfametoksazoldür. Çoğu *S.aureus* türüne karşı bakterisidal etkinliğe sahip olan bu antibiyotiğin şu ana kadar yayınlanmış çoğu klinik çalışmada kullanımı; altı haftadan uzun süre ile ve araç ilişkili enfeksiyonlardadır (35, 36).

Stafilokoklar, dirençli mutantların seçilmesine daha hassas (göreceli olarak) bir genetik özellik göstermektedir. Levofloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasinin dahil olduğu üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler; gram pozitif patojenlere karşı siprofloksasin ve ofloksasini içeren ikinci kuşaklara göre daha yüksek etkinliğe ve direnç gelişimine karşı da daha büyük bir bariyere sahiptirler (37). Stafilocok enfeksiyonlarında, özellikle direnç problemini bertaraf edebilmenin yollarından biri; kinolonların rifampisin ile kombine edilerek kullanımıdır. Ancak; yine de toplum kökenli MRSA suşlarında dahi giderek artan düzeyde florokinolon direncine rastlanır hale gelmiştir (38).

MSSA ve MRSA osteomyeliti tedavisinde kullanılabilen antibiyotiklerden olan rifampisinin oral biyoyararlanımı, kemik dokusuna penetrasyonu ve biyofilm tabakasına etkisi oldukça iyidir. Potent bir intrinsek antistafilokkal aktiviteye sahiptir; ancak hızlı direnç gelişiminden ötürü tek başına kullanılamamaktadır. Kombinasyon terapisi; hem rifampisine, hem de bazı durumlarda eşlik eden antibiyotiğe karşı direnç gelişimini engelleyebilmektedir. Yine de; yüksek düzeyde bakteri inokülasyonunun ve yetersiz cerrahi drenajın söz konusu olduğu durumlarda, rifampisine karşı direnç gelişiminin önüne geçilememektedir (38). Deneysel bir tavşan osteomyelit modelinde; rifampisinin, vankomisinle birlikte kullanıldığında potent aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (39). Vergidis ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir sıçan osteomyelit modelinde ise; linezolid veya vankomisinin etkinliklerinin, rifampisinle kombine edildiklerinde arttığı gösterilmiştir (40).

Yukarıda anlatılan antibiyotiklere göre daha yeni olarak kullanıma sunulan ve MRSA osteomyelitinde oldukça iyi in vitro ve in vivo etkinliğe sahip olduğu gösterilen birkaç antibiyotikten daha bahsedilebilir. Bunlar; tigesiklin, kinupristin-dalfopristin, seftobiprol, seftarolin, televansin, linezolid ve daptomisindir. Bu antibiyotiklerin optimal kullanımları, akut ve kronik osteomyelit tedavisindeki yerleri ve glikopeptid grubu antibiyotikler ile karşılaştırmalı etkinlikleri halen üzerinde çalışılmakta ve araştırılmakta olan konulardır.

Glisilsiklin grubu antibiyotiklerden minosiklinin sentetik bir derivesi olan tigesiklinin, deneysel MRSA osteomyelit modellerinde etkili olduğu gösterilmiştir; ancak bununla ilgili klinik çalışmalar yetersizdir (39, 41).

İlk parenteral streptogramin olan kinupristin-dalfopristinin standart tedaviyi tolere edemeyen veya standart terapinin başarısız olduğu 90 kişilik hasta grubundan meydana gelen, çeşitli MRSA enfeksiyonlarına (%44'ü kemik ve eklem enfeksiyonu) etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada; %71.1 oranında genel bir başarı elde edilmiştir (42). Osteomyelitte kullanım onayı bulunmayan kinupristin-dalfopristin ile ilgili klinik deneyim oldukça sınırlıdır.

Seftobiprol, MRSA izolatlarına etkili ilk geniş spektrumlu sefalosporindir. MRSA osteomyeliti modellerinde, vankomisin ve linezolid ile karşılaştırmalı olarak etkinliği gösterilmiştir (43, 44). Klinikte ise, seftobiprolün osteomyelitte başarılı olarak kullanımı ile ilgili ilk olgu raporu 2010'da yayınlanmıştır (45).

Seftarolin; metisiline direnç mekanizmasından sorumlu penisilin bağlayan protein (PBP)-2a'yı da içeren *S.aureus* PBP'lerine karşı güçlü affinitesi nedeniyle MRSA suşlarına potent etkili, yeni, geniş spektrumlu bir sefalosporindir. Deneysel bir tavşan akut osteomyelit modelinde; vankomisin, MRSA ve glikopeptide orta duyarlı *S.aureus* (GISA) suşlarına karşı etkisiz bulunurken; seftarolinin hem MRSA, hem de GISA suşlarına önemli derecede in vivo etkinlik gösterdiği ve antibakteriyel aktivitesinin, çeşitli enfekte dokularda (kemik iliği, kemik) benzer olduğu gösterilmiştir (46).

Televansin; MRSA'yı da içeren klinik olarak önem arz eden gram pozitif patojenlere karşı potent ve hızlı bakterisidal aktiviteye sahip, semi-sentetik lipoglikopeptidlerdendir. Deneysel bir MRSA osteomyelit modelinde; vankomisin ve linezolid kadar etkili olduğu gösterilmiştir (47). Standart terapinin başarısız olduğu vertebral osteomyelitli dört hastanın tedavisinde uzun süre televansin kullanılmış ve cerrahi debridmanlarla birlikte klinik iyileşme sağlanmıştır (48).

Oksazolidinonların 1970'li yıllarda bitki patojenleri için kullanıma girmesinden sonra, kimyasal yapılarında gerçekleştirilen değişiklikler sonucu insan patojenlerine etkili moleküller oluşturulmuştur. Protein sentezini inhibe ederek etkinlik gösteren linezolidle ilgili yapılan çalışmalar; bu antibiyotiğin stafilokoklar ve enterokoklara karşı bakteriyostatik, streptokoklara karşı bakterisidal etkisi olduğunu göstermektedir. Linezolid; MRSA, KNS, VRE ve penisiline dirençli *S.pneumoniae* gibi oldukça sorunlu mikroorganizmalarla diğer birçok gram pozitif türe karşı etkilidir (31).

Oral veya IV olarak uygulanabilen linezolidin oral biyoyararlanımı yaklaşık %100'dür. Kararlı durumdaki dağılım volümü 40-50 L olup; total vücut suyuna yakındır. Kemik dokuya da oldukça iyi geçer. Hedef dokuda etkinlik gösterebilmesi için anahtar parametre; plazma düzeyinin, enfekte eden mikroorganizma için MİK değerinden fazla olduğu süredir. Linezolid, doz aralarında; enfekte eden mikroorganizma için MİK seviyeleri, plazma düzeylerinin en az %40'ı üzerinde iken etkilidir. Metabolize olduğunda inaktif derivelerine dönen linezolidin ortalama yarı ömrü beş-yedi saattir. Klirensi, büyük oranda (%65) böbrek dışı yollarla olmaktadır. Linezolid ve metabolitleri diyaliz sıvısına geçtiğinden, diyaliz sonrası ilave doz verilmesi önerilmektedir (49).

Linezolidin kullanım endikasyonları son derece sınırlı olup; kanıtlanmış vankomisine orta duyarlı *S.aureus* (VISA) enfeksiyonu ile kanıtlanmış VRE enfeksiyonu veya vankomisinle cevap alınamayan ya da vankomisini tolere edemeyen, kanıtlanmış MRSA ve MRSE enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde kullanılması önerilmektedir. Duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla toplum kökenli ve nozokomiyal pnömonilerin tedavisinde yeri vardır (50).

İn vitro şartlarda, gram pozitif mikroorganizmaların spontan mutasyon sıklığı son derece düşük olup; bu patojenlerin ancak seri pasajları sonrasında MİK değerlerini yükselterek linezolid direnci sergileyebileceği bildirilmektedir. Genel olarak; MİK₉₀ değeri \geq 8 μ g/ml olan bütün mikroorganizmalar linezolide dirençli kabul edilir. Diğer protein sentezi inhibitörlerinden farklı bir şekilde etki ettiklerinden çapraz direnç gelişmemektedir (49). Linezolid ile ilgili ilk duyarlılık raporu 2002 yılında yayımlanmıştır. Bu raporda; gram pozitif mikroorganizmalar için linezolid direnci %0.05 olarak bulunmuştur. Direnç gelişimi; daha önceden uzun süre linezolid kullanımıyla ilişkilendirilmiştir. Stafilokoklarda linezolid direnci gelişimi ise çok nadirdir (51).

Linezolidin kemik dokusuna penetrasyonu ve biyofilm tabakasına etkisi oldukça iyidir. Protez enfeksiyonları da dahil olmak üzere kemik ve eklem enfeksiyonlarında tek başına veya diğer antibiyotiklerle birlikte başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (50). Diğer antibiyotiklerle kombine edilerek verildiği klinik durumlar için prognostik veriler yetersiz kalmaktadır; ancak in vitro çalışmalar ve hayvan osteomyelit modelleri, linezolidin rifampisinle birlikte kullanımının; rifampisine karşı gelişebilecek olası dirençten koruduğunu göstermektedir (40, 52, 53).

Linezolidin iki haftadan uzun süre kullanımı ile anemi ve trombositopeni gibi yan etkilerinin görülme olasılığı artmaktadır; dolayısıyla hematolojik parametrelerin tedavi süresince monitörize edilmesi gerekmektedir (54). Bununla birlikte; bir çalışmada toksik yan etki oranları vankomisinle benzer olarak bulunmuştur. Kronik *S.aureus* osteomyelitli 66 hasta ile yapılan bu prospektif çalışmada; tedavide ortalama 13 hafta süre ile linezolid kullanılmış ve linezolid ile ilişkili toksisite gelişimi, olguların üçte birinde görülmüştür (55). Uzamış tedavi süreleri nedeniyle bildirilen diğer ciddi yan etkileri arasında; laktik asidoz sendromları, optik nörit ve periferik nöropati sayılabilir (54). Bu nedenle; linezolid, uzamış tedavi rejimleri veya kronik supresif tedavilerde ideal bir antibiyotik olarak görünmemektedir.

Daptomisin; dirençli gram pozitif patojenlere karşı geliştirilen, yeni bir antibiyotik sınıfı olan siklik lipopeptidlerin ilk ve tek üyesidir. 1980'li yılların başında *Streptomyces roseosporus* adlı bakteriden izole edilen bu ilaçla ilgili araştırmalara faz 1 aşamasında, farklı dozdaki uygulamaları ile iskelet kaslarına olan ılımlı yan etkileri sebebiyle son verilmiştir (56). 1997 yılında, dirençli gram pozitif bakteri enfeksiyonu oranlarındaki artışa paralel olarak tekrar geliştirilen bu antibiyotik 2003'de, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde günde tek doz uygulama şeklinde onay alarak klinik kullanıma girmiştir (57).

Kimyasal yapı olarak daptomisin, hidrofilik yapıda bir kor ve lipofilik zincire bağlı 13 üyeli aminoasitten oluşmuş bir lipopeptiddir. Etkisini; gram pozitif hücre membranına bağlanıp, membran depolarizasyonu ile potasyum (K⁺) iyonlarının kaybına sekonder hızlı hücre ölümü yaparak gösterir. Hücre membranından içeri girişinde kalsiyum (Ca⁺⁺) iyonlarının varlığı gereklidir. Üreme fazındaki hücrelere ek olarak dinlenme fazındaki hücrelere de etki gösterebilmesi sebebiyle diğer ajanlara göre daha güçlü bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Bunun yanı sıra; bakterinin hücre duvarını rüptüre etmeden ve lizis yapmadan ölümüne sebep olduğundan, toksin salınımına bağlı komplikasyon gelişme riski de azalmaktadır (29).

Daptomisin, çoğu gram pozitif patojene karşı (metisilin, teikoplanin ve linezolide dirençli izolatlar da dahil) hızlı bakterisidal ve konsantrasyona bağımlı etkinlik göstermektedir. Hızlı bakterisidal aktivite ile; direnç gelişim potansiyeli minimize edilmekte, bakteri üreme miktarı hızla azalmaktadır. Böylece; hem tedavi, hem de hastanede kalış süresi kısalmaktadır (58).

Daptomisin, yaklaşık sekiz saatlik bir yarı ömre ve 6-10 saatlik post-antibiyotik etkiye sahiptir. Bu nedenle; günde tek doz kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Sadece IV

formülasyonu bulunmaktadır. Hem 30 dakikalık IV infüzyon, hem de iki dakikalık enjeksiyon şeklinde uygulanabilmektedir. Önerilen doz 4-6 mg/kg olmakla birlikte; ciddi enfeksiyonlarda 8-10 mg/kg'a kadar çıkılabilmektedir. Primer olarak böbrek yoluyla atılmaktadır. Kreatinin klirensi 30 ml/dk'nın altında olan hastalarda doz ayarlaması yapılmalı ve 48 saate bir 4 mg/kg şeklinde uygulanmalıdır (59).

Daptomisin, %90-93 oranında proteine bağlanır. Çoğu gram pozitif mikroorganizmaya karşı mükemmel in vitro aktivitesinden bağımsız olarak, proteinlere yüksek oranda bağlanma özelliği; in vivo daptomisinin plazmadan dokuya dağılımına engel olabilmekte, bu da kompartmanlar arasında gecikmiş veya eksik ilaç dağılımı ile sonuçlanabilmektedir. Bununla birlikte; yüksek iyonize kalsiyum seviyelerinin, daptomisin gibi peptolidlerin aktivitesini güçlendirdiği gösterilmiştir (59). Sonuç olarak; kemik dokuda serbest daptomisin seviyesindeki azalma, yüksek iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının bulunduğu bu alanlarda aktivitesinin artmasıyla dengelenmiş gibi görünmektedir.

Daptomisin, genelde iyi tolere edilmektedir. En sık bildirilen yan etkileri; başta konstipasyon olmak üzere gastrointestinal sistem ile ilişkili yakınmalardır (ishal, kusma, bulantı). Bunun yanı sıra; anemi, hipokalemi, baş ağrısı, artralji, periferik ödem ve renal bozukluk da bildirilmektedir. En dikkat çekici yan etkisi ise, doza bağlı iskelet sistemi toksisitesidir. Düşük yan etki profili sebebi ile güvenli bir moleküldür; ilaç düzeyi takibi gerekmemektedir (29).

Daptomisin, geniş bir aerob ve anaerob gram pozitif etki spektrumuna sahiptir. Bu gram pozitif etkinlik arasında; stafilokoklar (MRSA, VISA, VRSA dahil), enterokoklar (VRE'ları da içeren *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*) ve streptokoklar (penisiline dirençli *S.pneumoniae*) yer almaktadır. Ayrıca; *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* gibi vankomisine dirençli kökenlere; *Bacillus* cinsi bakterilere; *Corynebacteria*, peptostreptokoklar; *Clostridium difficile* dahil klostridiumlar gibi anaeroplara karşı da etkinlik göstermektedir (60). Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (2003), metisiline duyarlı ve dirençli *S.aureus* izolatlarının neden olduğu sağ kalp enfektif endokarditi ve *S.aureus*

bakteriyemisi (2006) için FDA onayı bulunan daptomisin (59), ülkemizde Sağlık Bakanlığı'ndan Ağustos 2010 tarihi itibariyle kullanım onayı almıştır.

Traczewski ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro bir çalışmada; 1985-2007 yılları arasında toplanan MRSA izolatlarına karşı daptomisin etkinliği, vankomisin ve teikoplanin ile MİK₅₀ ve MİK₉₀ seviyelerine bakılarak karşılaştırıldığında; en potent antibiyotiğin daptomisin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada; vankomisin ve teikoplanine karşı sırasıyla, %6.1 ve %18.8 oranlarında direnç gelişirken; daptomisine karşı direnç oluşumu saptanmamıştır (61).

Daptomisinin kemik ve eklem enfeksiyonlarında kullanımı ile ilgili henüz yeterli veri bulunmasa da, kemik dokusuna iyi geçtiği bildirilmektedir. Septik artriti olan 22 vakada kullanılmış ve klinik sonuçların başarılı olduğu belirtilmiştir (62). 67 osteomyelitli hastada kullanımı ilgili elde edilen sonuçlar incelendiğinde; %63 oranında kür sağlandığı ve bunların da %19'unun MRSA enfeksiyonu ile ilişkili osteomyelit vakaları olduğu görülmektedir (6).

Günde bir defa kullanım avantajı, minimal yan etki varlığı, önemli ilaç etkileşimlerinin bulunmayışı, çok ilaca dirençli patojenlere karşı bakterisidal etkinlik gösterebilmesi ve düşük direnç gelişim potansiyeli sebebiyle klinisyenler; bu antibiyotiği daha derin lokalizasyonlu ve tedavisi daha zor olan osteomyelit ve endokardit gibi enfeksiyonlarda kullanma eğilimindedirler (60).

Faz II ve faz III çalışmaları devam eden, geniş spektrumlu gram pozitif etkinliğe sahip ve gelecek yıllarda klinik kullanım için onay alması beklenen antibiyotikler arasında; oritavansin, dalbavansin, omadasiklin, tedizolid, delafloksasin sayılabilir (3). Ancak; klinik yönetimi oldukça zor ve iyileşme süreci de uzun olan osteomyelitin tedavisinde, sözü edilen bu ajanların alternatif bir role sahip olabilmeleri için; kemik dokuya penetrasyonlarının net olarak belirlenmesi ve klinik kullanımdaki antibiyotiklerle karşılaştırmalı etkinliğinin

gösterilebilmesi açısından daha çok sayıda ve geniş kapsamlı klinik çalışmanın yapılması gerekmektedir.

2.7.1.d.Antibiyotik Tedavi Süresi:

Osteomyelitte antimikrobiyal tedavi için ideal sürenin; yapılan klinik çalışmalar ve hayvan modelleri gözönünde bulundurulurularak, dört-altı hafta kadar olması gerektiği belirtilmektedir (1). Debridman gibi olası bir cerrahi girişimi takiben, kemiğin ve çevre yumuşak dokunun revaskülarizasyonu dört-altı haftayı alır. Bu nedenle; en azından ilk iki-üç hafta, antibiyotiklerin tedavi edici dozlarının enfekte bölgeye ulaşması mümkün değildir. Waldvogel ve arkadaşlarının geniş osteomyelit çalışma serilerinde; dört haftadan daha az süre ile IV beta-laktam tedavisi verilen olgularda, dört hafta veya daha uzun süre tedavi alanlara göre relaps oranı daha yüksek bulunmuştur (9).

2.7.2.Cerrahi Tedavi:

Son üç dekattan fazla bir süredir; daha kullanışlı fiksasyon cihazlarının yerleştirilmesi, doku rejenerasyon metodlarının uygulanması, geniş spektrumlu yeni antimikrobiyal ilaçların kullanılması, izolasyon stratejilerinin benimsenmesi ve lokal antibiyotik uygulamalarına rağmen; özellikle ortopedi ameliyatlarından sonra, mikroorganizmanın biyomateryallere ve organik dokulara bağlanma ve ardından da biyofilm oluşturma özelliği, enfeksiyon gelişiminde etkin olan önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilm yapısı, konağın bağışıklık sistemi elementlerinin ve antibiyotiklerin mikroorganizmalara ulaşmasını engelleyen bir bariyerdir (63).

Cerrahi tedavide amaç; biyofilm tabakası tarafından oluşturulan kirli yarayı ortadan kaldırmak, iyi bir vasküler yatak sağlamak ve dokunun şekil ve fonksiyonel özelliğini korumaktır. Dolayısıyla; yumuşak dokuda ve kemikte iyi kanlanan alanlara gelinceye kadar debridman yapılır. Tüm yabancı cisimler ve cerrahi implantlar çıkarılır. Enfeksiyonun teşhisi ve altta yatan otoimmün displaziler veya neoplazmları ayırt edebilmek için çevre dokulardan biyopsiler alınır. Yetersiz debridman, büyük bir olasılıkla nükse neden olur (64).

3.GEREÇ VE YÖNTEM:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, 23 Nisan 2014 - 5 Haziran 2014 tarihleri arasında yapılan bu çalışma öncesinde Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu onayı alındı.

Çalışmamızda; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlanan, ağırlıkları 260-310 gram arasında değişen, 8-10 haftalık, toplam 35 adet, her iki cinsiyette, outbred Wistar-Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar 21 °C'de, 12 saat karanlık-12 saat aydınlık ortam sağlanarak, ısıtma ve havalandırma ekipmanı bulunan ortamda, standart yem ve şehir suyu ile beslenerek barındırıldı.

Sıçanlar, ağırlık aralıklarına göre beş ayrı gruba ayrıldı. Birinci gruptaki sıçanların ortalama ağırlığı 264 gr \pm 2.88 (minimum: 260 gr; maksimum: 268 gr) iken; diğer gruplardaki değerler sırasıyla 274.57 gr \pm 3.25 (270; 279), 285.85 gr \pm 2.67 (282; 289), 295.57 gr \pm 1.71 (293; 298), 307.42 gr \pm 2.99 (302; 310) şeklindeydi (Tablo 7).

Tablo 7: Sıçanların ağırlıklarına göre gruplara dağılımı

Grup	Sayı	Ağırlık (gr)			
		Min.*	Mak.**	Ort.***	St.sapma****
1.	7	260	268	264	\pm 2.88
2.	7	270	279	274.57	\pm 3.25
3.	7	282	289	285.85	\pm 2.67
4.	7	293	298	295.57	\pm 1.71
5.	7	302	310	307.42	\pm 2.99

*Minimum **Maksimum ***Ortalama ****Standart sapma

Sıçanlarda deneysel MRSA osteomyeliti oluşturmak amacıyla, son 40 yıldır yapılmış olan diğer bütün çalışma metodları incelendi ve uygulama aşamasında örnek alındı (21). -20 °C'de saklanan, liyofilize, standart MRSA Amerikan tip kültür koleksiyonu (ATCC®) 43300 suşu; Tryptic Soy Broth (TSB) (Merc 1.05459, Almanya) ile canlandırıldı. Bu süspansiyondan bir öze dolusu alınarak katı besiyerine ekimi yapıldı. Sonrasında; %5 koyun kanlı agar besiyerine (Becton Dickinson, ABD) bu plaktan steril öze ile pasaj yapılarak 35 °C'de bir gecelik inkübasyon sonucu elde edilen canlı koloniler, bakteri süspansiyonlarının

hazırlanmasında ve antibiyotik MİK değerlerinin belirlenmesinde kullanıldı. Direkt plaktan alınan canlı bakteri kolonileri, 10 cc steril serum fizyolojik ile süspansiyon edildi. 5000 devir/dakika hız ile 15 dakika santrifüj edilip, üst kısmı dökülerek elde edilen dipteki çökeltiye tekrar 10 cc steril serum fizyolojik eklendi ve bu işlem, iki defa daha tekrarlandı. 600 nm dalga boyuna ayarlanan spektrofotometre cihazı ile bulanıklık ölçümleri yapıldı. 0.5 McFarland ile eşit bulanıklıkta bakteri süspansiyonu (1×10^8 cfu/ml) elde edildi ve her bir sıçan, bu süspansiyondan 0.1 ml kullanılarak enfekte edildi (21, 41).

Çalışmamızda kullanılan teikoplanin (Targocid[®], Sanofi Aventis), daptomisin (Cubicin[®], Novartis), linezolid (Zyvoxid[®], Pfizer) ve fusidik asit (Stafine[®], Koçak Farma) üretici firmalarından sağlandı. Bu antibiyotiklerin duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemiyle belirlendi. Bunun için; bir önceki paragrafta anlatıldığı şekilde elde edilen canlı kolonilerin, steril serum fizyolojik ile 0.5 McFarland bulanıklıkta olacak şekilde süspansiyonu hazırlandı. Steril pamuklu çubuk yardımıyla Mueller Hinton II Agar (Becton Dickinson, ABD) yüzeyine yapılan sürüntü ekimleri üzerine E-test şeritleri yerleştirilerek, 35 °C'de bir gece inkübe edildi. İnhibisyon zonunun E-test şeridini kestiği noktadaki MİK değerleri kaydedildi ve sonuçlar, CLSI önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Teikoplanin için ≤ 8 µg/ml duyarlı, 16 µg/ml orta duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli; linezolid için ≤ 4 µg/ml duyarlı, ≥ 8 µg/ml dirençli; daptomisin için ≤ 1 µg/ml duyarlı ve fusidik asit için ≤ 0.125 µg/ml duyarlı olarak kabul edildi (20).

3.1.Osteomyelit Modeli Oluşturulması:

Osteomyelit modelinin Wistar-Albino türü sıçan üzerinde oluşturulması planlandı. Daha önce yapılmış sıçan osteomyelit modelleri incelendiğinde, Wistar-Albino türünün sık olarak kullanıldığı ve bunda; fiziksel, hormonal ve davranışsal olarak; değişen çevre koşullarına hızla adapte olabilmesi ve dolayısıyla osteomyelit gibi hem enfeksiyöz sürecin

geçirilmesi, hem de uzun süreli tedavi rejimlerinin tolere edilmesinin daha zor olduğu klinik tabloları nispeten daha kolay geçirebildiğinin görülmesinin rol oynadığı saptandı (65).

3.1.1.Deneyin Aşamaları:

Sıçanlar 80 mg/kg dozunda, IM yolla, ketamin hidroklorid (Ketalar®; Eczacıbaşı Warner Lambert, İstanbul/Türkiye) uygulanarak uyutuldu. Anestezi derinliği, fizyolojik yanıtın izlenmesi ile değerlendirildi. Tüm sıçanların sol bacak kısımları %10 polivinylpyrrolidone-iodine solüsyonuyla (Biokadin®; Biokar, Düzce/Türkiye) boyanarak cilt antisepsisi yapıldıktan sonra; sol cruris üzerine, proksimal antero-medial yüzü ortaya çıkacak şekilde steril delikli cerrahi örtü serildi. 11 numaralı bistüri ucu ile cilt-cilt altı steril olarak geçildikten sonra periost sıyrıldı. 22 numaralı iğne ucuyla tibianın proksimal metafiz korteksi manuel olarak delindi ve rimerizasyon yapılarak, medüller kanal hasarı oluşturuldu. Medüller kanala 0.1 ml, 0.5 McFarland bulanıklığında MRSA suşu içeren süspansiyon enjekte edildi. İşlemin sonunda cilt-cilt altı, katküt iplikle kapatıldı (21, 41, 65).

3.2.Enfeksiyonun Kanıtlanması:

14 gün boyunca, günlük olarak enfeksiyonun lokal bulguları değerlendirildi (osteomyelit oluşturulan tibia bölgesinde ödem, kızarıklık, hassasiyet, apse, fistül vb varlığı). Ardından; MRSA osteomyeliti, her bir gruptan rastgele seçilen birer adet toplam beş sıçanda, aşağıda ayrıntılandırılacağı üzere; mikrobiyolojik olarak kanıtlanmaya çalışıldı.

Öncelikle sıçan, dietil eter anestezisi ile uyutuldu. Anestezi derinliği, fizyolojik yanıtın izlenmesi ile değerlendirildi. Sol bacak arka yüzeyi, %10 polivinylpyrrolidone-iodine solüsyonuyla boyanarak cilt antisepsisi yapıldıktan sonra; üzerine steril delikli cerrahi örtü serilerek ortaya çıkarıldı. Her bir sıçanın sol bacak posterioruna 11 numaralı bistüri ucu ile longitudinal olarak iki buçuk cm'lik cilt insizyonu yapılarak cilt-cilt altı geçildikten sonra, aşil tendonu kenarından anteriora doğru derinleştirildi ve tibianın fibulayla alt birleşme yeri bulundu. Bu birleşme yerinin üç-dört mm proksimalinden 14.5 cm'lik cerrahi makas ile tibia

kesildi. Derin anestezi altında olduğuna emin olunan sıçan, servikal dislokasyonla sakrifiye edildi.

Çıkarılan kemik doku, 11 numaralı bistüri ile parçalarına ayrıldı; içine Beyin-Kalp İnfüzyon Buyyon (BHI Buyyon; Oxoid, İngiltere) döküldükten sonra, ağırlıkları önceden ölçülmüş steril tüplere konularak tartıldı ve vorteksleme işlemi yapıldı. Elde edilen besiyeri içeriğinden 10 ml alınarak, 90 ml steril salin solüsyonu ile dilüe edildi. Bu 1/10'luk ilk dilüsyondan 1 ml alındı, steril bir tüpe aktarılarak üzerine 9 ml steril salin solüsyonu eklendi. Aynı işlem toplam üç defa tekrar edildi. Seyreltilmiş haldeki son süspansiyondan otomatik pipet ile 0.1 ml alınarak %5 koyun kanlı agara ekim yapıldı. 35°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra, plakta oluşmuş koloniler sayıldı. Bir ml'lik süspansiyonda bulunan canlı bakteri sayısı; plakta bulunan koloni sayısının, dilüsyon oranı (1/1000) ve 100 (her bir plağa 0.1 ml süspansiyon damlatıldığı için) ile çarpımı sonucu hesaplandı. Böylece; üreyen bakteri sayısı cfu/ml cinsinden tespit edilmiş oldu. Daha sonra; gram başına düşen mikroorganizma sayısı cfu/gr cinsinden "Koloni sayısxDilüsyon miktarıxEkim ml'si/Doku ağırlığı" formülü ile hesaplandı (41, 66).

Üreyen bakteri; koloni morfolojisi, gram boyama, katalaz ve tüp koagülaz testleriyle tanımlandı. Gram boyama ile gram pozitif kok morfolojisinde görülen, katalaz pozitif (Öze ile alınan mikroorganizma kolonileri temiz ve yağsız bir lama sürüldü. Üzerine %30'luk hidrojen peroksitten bir damla damlatıldı. Hidrojen peroksid katılmasından sonra kabarcıkların ortaya çıkması "pozitif reaksiyon" olarak değerlendirildi) bakterilere tüp koagülaz testi uygulandı (Besiyerinden iki-üç koloni alınarak 0.5 ml insan plazması içeren tüplere aktarıldı; dördüncü saatte plazmada katılaşmanın görülmesi "pozitif reaksiyon" olarak değerlendirildi).

Metisilin direnci; %4 sodyum klorürlü (NaCl), 6 µg/ml oksasilinli agar tarama testi ile belirlendi (Oksasilin tuz agar, Mueller Hinton Agar'a %4 NaCl ve 6 µg/ml oksasilin tozu ((Bristol-Myers Squibb, ABD)) eklenerek hazırlandı). Plaktan iki-üç koloni alınarak oksasilin tuz agara ekim yapıldı. 35°C'de bir gece inkübasyondan sonra oluşan sarı pigmentli koloniler, MRSA üremesi olarak tanımlandı. *S.aureus* ATCC® 43300 suşu, metisilin duyarlılık testinin kontrolü olarak kullanıldı.

3.3.Tedaviye Kadar İzlem:

Çalışma dahilindeki tüm sıçanlar günlük olarak, 14 gün süre ile hem osteomyelit lokal bulguları (ödem, kızarıklık, hassasiyet, apse, fistül vb); hem de lokalize ağrı ya da rahatsızlık, hareket kabiliyetinde azalma, iştahsızlık, genel durum bozukluğu, bölgesel/sistemik diğer semptom ve bulgular açısından takip edildi.

3.4.Tedavi:

Tedavi öncesi; osteomyelitin mikrobiyolojik olarak değerlendirilebilmesi amacı ile beş adet sıçanın tibiaları steril olarak çıkarılıp sakrifiye edildikten sonra geriye kalan 30 sıçan, altışarlı beş adet gruba ayrıldı. Gruplardan birincisine teikoplanin; ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplara sırasıyla daptomisin, linezolid ve fusidik asit; IV yoldan, yavaş infüzyonla, 28 gün boyunca uygulandı. Beşinci gruba (kontrol grubu) ise tedavi verilmedi (Tablo 8).

Tablo 8: Deney gruplarına göre antibiyotik tedavisi

Gruplar	Doz (Kaynak)	Grup başına sıçan adedi
1.grup (Teikoplanin)	2x6 mg/kg/gün (3 doz) 6mg/kg/gün (devam) (67)	6
2.grup (Daptomisin)	6 mg/kg/gün (68)	6
3.grup (Linezolid)	10 mg/kgx2/gün (69)	6
4.grup (Fusidik asit)	30 mg/kgx3/gün (70)	6
5.grup (Kontrol)	--	6

Teikoplanin, daptomisin ve fusidik asitin liyofilize toz içeren flakonları kullanıldı. Bu antibiyotiklerin IV enjeksiyonları, kullanım ve prospektüs bilgileri gözönünde bulundurularak; belirtilen sulandırma oranlarına göre; linezolid ise kullanıma hazır enjeksiyonluk flakonu ile önerilen dozda uygulandı.

Tedavinin uygulandığı 28 günlük süre boyunca sıçanlar, hem osteomyelit lokal bulguları (ödem, kızarıklık, hassasiyet, apse, fistül vb); hem de lokalize ağrı ya da rahatsızlık, hareket kabiliyetinde azalma, iştahsızlık, genel durum bozukluğu, bölgesel/sistemik diğer semptom ve bulgular açısından takip edildi.

3.5.Çalışmanın Sonlandırılması:

Çalışma protokolünün uygulanmasından sonra sıçanlara, ‘‘MRSA osteomyelitinin mikrobiyolojik olarak kanıtlanması’’ aşamasında bahsedilen prosedür benzer şekilde uygulandı.

Öncelikle sıçan, dietil eter anestezisi ile uyutuldu. Anestezi derinliği, fizyolojik yanıtın izlenmesi ile değerlendirildi. Sol bacak arka yüzeyi, %10 polivinylpyrrolidone-iodine solüsyonuyla boyanarak cilt antisepsisi yapıldıktan sonra; üzerine steril delikli cerrahi örtü serilerek ortaya çıkarıldı. Her bir sıçanın sol bacak posterioruna 11 numaralı bistüri ucu ile longitudinal olarak iki buçuk cm’lik cilt insizyonu yapılarak cilt-cilt altı geçildikten sonra, aşil tendonu kenarından anteriora doğru derinleşildi ve tibia’nın fibulayla alt birleşme yeri bulundu. Bu birleşme yerinin üç-dört mm proksimalinden 14.5 cm’lik cerrahi makas ile tibia kesildi. Derin anestezi altında olduğuna emin olunan sıçan, servikal dislokasyonla sakrifiye edildi.

Çıkarılan kemik doku, 11 numaralı bistüri ile parçalarına ayrıldı; içine BHI Agar (Oxoid, İngiltere) döküldükten sonra, ağırlıkları önceden ölçülmüş steril tüplere konularak tartıldı ve vorteksleme işlemi yapıldı. Elde edilen besiyeri içeriğinden 10 ml alınarak, 90 ml steril salin solüsyonu ile dilüe edildi. Bu 1/10’luk ilk dilüsyondan 1 ml alındı, steril bir tüpe aktarılarak üzerine 9 ml steril salin solüsyonu eklendi. Aynı işlem toplam üç defa tekrar edildi. Seyreltilmiş haldeki son süspansiyondan otomatik pipet ile 0.1 ml alınarak %5 koyun kanlı agara ekim yapıldı. 35°C’de bir gecelik inkübasyondan sonra, plakta oluşmuş koloniler sayıldı. Bir ml’lik süspansiyonda bulunan canlı bakteri sayısı; plakta bulunan koloni sayısının, dilüsyon oranı (1/1000) ve 100 (her bir plağa 0.1 ml süspansiyon damlatıldığı için) ile çarpımı sonucu hesaplandı. Böylece; üreyen bakteri sayısı cfu/ml cinsinden tespit edilmiş oldu. Daha

sonra; gram başına düşen mikroorganizma sayısı cfu/gr cinsinden “Koloni sayısıxDilüsyon miktarıxEkim ml’si/Doku ağırlığı” formülü ile hesaplandı (41, 66).

Bu şekilde; mikroorganizma sayılarının gruplara göre dağılımı belirlenmiş ve tedaviye yanıt da her bir grup için mikrobiyolojik olarak objektif bir şekilde gösterilmiş oldu.

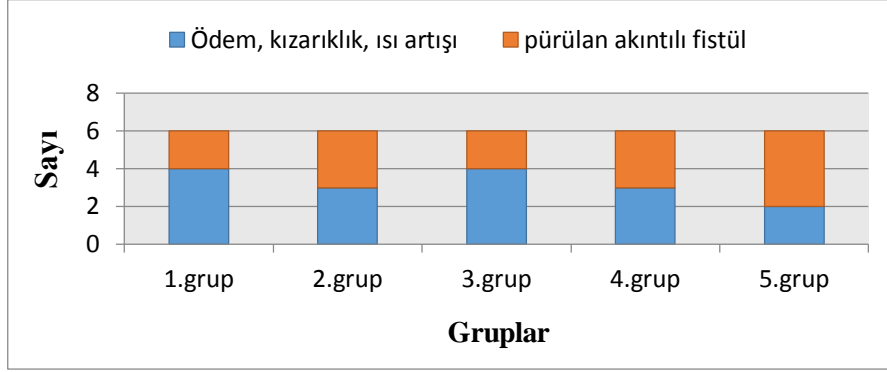
3.6.İstatistik:

Tedavi sonrası üreyen MRSA koloni sayıları arasındaki farkı belirlemek üzere Fisher’in kesinlik testi kullanıldı. Mikroorganizma sayılarının dağılımını incelemek amacıyla Kolmogorov-Smirnov, logaritmik transformasyon yapılan mikroorganizma sayıları bakımından grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizinden yararlandı. İstatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlendi.

4.BULGULAR:

Deneyel osteomyelit modelinde standart teikoplanin terapisinin daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavileri ile karşılaştırmalı olarak incelendiği araştırmamızda; standart MRSA ATCC® 43300 suşu ile osteomyelit oluşturmak üzere enfekte edilen tüm sıçanlarda (n=35) lokal enfeksiyon bulgusu olarak; ekstremitelerde işlevlerinde bozulma ile genel sistemik semptom olarak; halsizlik ve iştahsızlık gözlemlendi. Her bir gruptan rastgele seçilen beş sıçanın osteomyelit mikrobiyolojik kanıtı için kurban edilmesi nedeniyle; geriye kalan 30 sıçanın 16’sında (%53.3) sol bacakta ödem, ısı artışı ve kızarıklık oluşumu saptanırken, 14’ünde (%46.6) pürülan akıntılı fistülleşme görüldü. Toplam altı sıçanda (%20)

konstipasyon saptandı. Konstipasyon gelişen sıçanların beşinde (%83.3) pürülan akıntılı fistül oluşumu mevcuttu. Dördüncü ve beşinci gruplarda iki, birinci ve üçüncü gruplarda birer sıçanda konstipasyon geliştiği gözlemlendi. Şekil 1’de lokal enfeksiyon bulgularının gruplara göre dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 1: Lokal enfeksiyon bulgularının dağılımı

Sıçanların başlangıç ve tedaviye başlamadan hemen önceki ağırlık değerleri karşılaştırıldığında, her bir grup için sırasıyla; ortalama 8 gr \pm 2.21, 8.14 gr \pm 3.57, 10.85 gr \pm 2.91, 9.57 gr \pm 4.72 ve 8.28 gr \pm 1.60 kayıp olduğu saptandı. Sıçanların hiçbirinde tedaviye kadar geçen süre içerisinde kilo artışı gözlenmedi. Tablo 9’da tedavi öncesi ortalama ağırlık değerleri başlangıçtaki değerler ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 9: Tedavi başlangıcına kadar ağırlık değişimleri

Süre	Gruplara göre ağırlık dağılımı*				
	1.grup	2.grup	3.grup	4.grup	5.grup
0.gün	264\pm2.88	274.57\pm3.25	285.85\pm2.67	295.57\pm1.71	307.42\pm2.99
14.gün	256\pm4	266\pm5.47	275\pm4.28	286\pm3.82	299\pm2.60

*Ortalama ağırlık değerleri ve standart sapmaları birlikte verilmiştir.

Osteomyelitin mikrobiyolojik olarak kanıtlanması için rastgele seçilen ve sakrifiye edilen beş adet sıçandan yapılan kemik doku kültürlerinde identifiye edilen tek mikroorganizma; MRSA idi. Mikroorganizma sayısı, ‘‘Koloni sayısıxDilüsyon miktarıxEkim ml’si/Doku ağırlığı’’ formülüne göre hesaplandığında (66); birinci gruptan sakrifiye edilen sıçan için 2.6×10^5 cfu/gr olarak bulundu. 10 tabanına göre logaritması (\log_{10}) alındığında bu değer, $5.40 \log_{10}$ cfu/gr şeklinde saptandı. Üreyen mikroorganizma sayıları cfu/gr cinsinden, diğer gruplar için sırasıyla; 2.1×10^5 , 1.7×10^5 , 2.0×10^5 , 1.9×10^5 ; \log_{10} cfu/gr cinsinden ise 5.30, 5.25, 5.30, 5.30 olarak hesaplandı. Üreyen mikroorganizma sayıları ve logaritmik transformasyon yapıldığında saptanan değerler, normal dağılım göstermekteydi. Tablo 10’da üreyen mikroorganizmaların cfu/gr ve \log_{10} cinsinden değerleri gösterilmiştir.

Sakrifiye edilen sıçanlar	Üreme (cfu/gr)	Üreme (\log_{10} cfu/gr)
1.sıçan	2.6×10^5	5.40
2.sıçan	2.1×10^5	5.30
3.sıçan	1.7×10^5	5.25
4.sıçan	2.0×10^5	5.30
5.sıçan	1.9×10^5	5.30

Tablo 10: Tedavi öncesi seçilen beş sıçanda üreme miktarları

Daha sonra; gruplara sırasıyla teikoplanin, daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavileri IV yoldan başlandı.

Yapılan E teste göre; teikoplanin, daptomisin, linezolid ve fusidik asit için MİK değerleri sırasıyla; 1 $\mu\text{g/ml}$, 0.5 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.125 $\mu\text{g/ml}$ şeklinde bulundu (Tablo 11).

Tablo 11: Uygulanan antibiyotiklerin MİK değerleri

Gruplar				
1	2	3	4	5

Tedavi	Teikoplanin	Daptomisin	Linezolid	Fusidik asit	---
MİK	1	0.5	2	0.125	---

Enfekte edilen toplam 30 adet sıçandan, antibiyotik tedavisi başlandıktan sonraki dördüncü günde; dördüncü gruptan (fusidik asit alan grup) beş numaralı, altıncı ve sekizinci günlerde ise beşinci gruptan (kontrol grubu) bir ve beş numaralı olanlar, öldükleri için çalışmamızdan çıkarıldı. Sıçanların tümünün bakımı standart bir şekilde ve aynı kişi tarafından günlük olarak yapıldığı için; ölüm sebepleri, enfeksiyona sekonder komplikasyonlar olarak değerlendirildi. Her üç sıçanda da pürülan akıntılı fistülleşme mevcuttu. İki sıçan tedavi almıyordu. Diğer ölen bir sıçan da fusidik asit tedavisi almaktaydı.

28 günlük tedavi süresi boyunca, uygulanan antibiyotiklerle ilişkili herhangi bir yan etki oluşumu gözlenmedi. Benzer şekilde; çalışma sırasında, daha önce belirtilen zamanlarda kullanılan IM ketamin hidroklorid ve inhale dietil eter anestezi maddeleri ile ilişkili herhangi bir yan etki oluşumu gözlenmedi.

Tedavi süresi içerisinde, sıçanlardaki enfeksiyonla ilişkili makroskopik bulgular gözden geçirildiğinde:

Teikoplanin alan grupta;

- Akıntılı fistülü olan iki sıçanın fistül ağzlarının kapandığı (kısmi regresyon),
- Isı artışı-kızarıklık-ödem bulguları olan dört sıçandan ikisinin apse formasyonuna ilerlediği (progresyon), diğer ikisinde ise bulguların tamamen gerilediği (tam regresyon) gözlemlendi.

Daptomisin alan grupta;

- Sadece bir sıçan dışında diğer sıçanların makroskopik enfeksiyon bulgularında gerileme mevcuttu (tam regresyon).
- Bir sıçanda varolan pürülan akıntı, azalmakla birlikte devam etmekteydi (kısmi regresyon).

Linezolid alan grupta;

- İki sıçan dışında diğer sıçanlardaki makroskopik enfeksiyon bulgularında gerileme görüldü (tam regresyon).

→İki sıçanda varolan pürülan akıntı, azalmakla birlikte devam etmekteydi (kısmi regresyon).

Fusidik asit alan grupta;

→Sadece iki sıçanın makroskopik enfeksiyon bulgularında gerileme mevcuttu (tam regresyon).

→Pürülan akıntısı olan bir sıçan septik tabloya girerek öldü (eksitus).

→Diğer üç sıçanın ikisinde varolan pürülan akıntı görünümü, birinde ise ısı artışı, ödem ve kızarıklık bulguları azalmakla birlikte devam etti (kısmi regresyon).

Tedavi verilmeyen kontrol grubunda;

→Pürülan akıntısı olan iki sıçandan birinde; sol alt kadranda ele gelen endüre, lokal enflamasyon bulgularının da eşlik ettiği kitlesel oluşum tespit edildi. Her iki sıçan da tedavi süresi içerisinde septik tabloya girerek öldü (eksitus).

→Isı artışı-kızarıklık-ödem bulguları olan iki sıçandan birininin apse formasyonuna ilerlediği, diğerinin ise bu bulgularının aynen devam ettiği gözlemlendi (progresyon).

→Pürülan akıntılı fistülü olan, kalan iki sıçanda da akıntının artarak devam ettiği görüldü (progresyon).

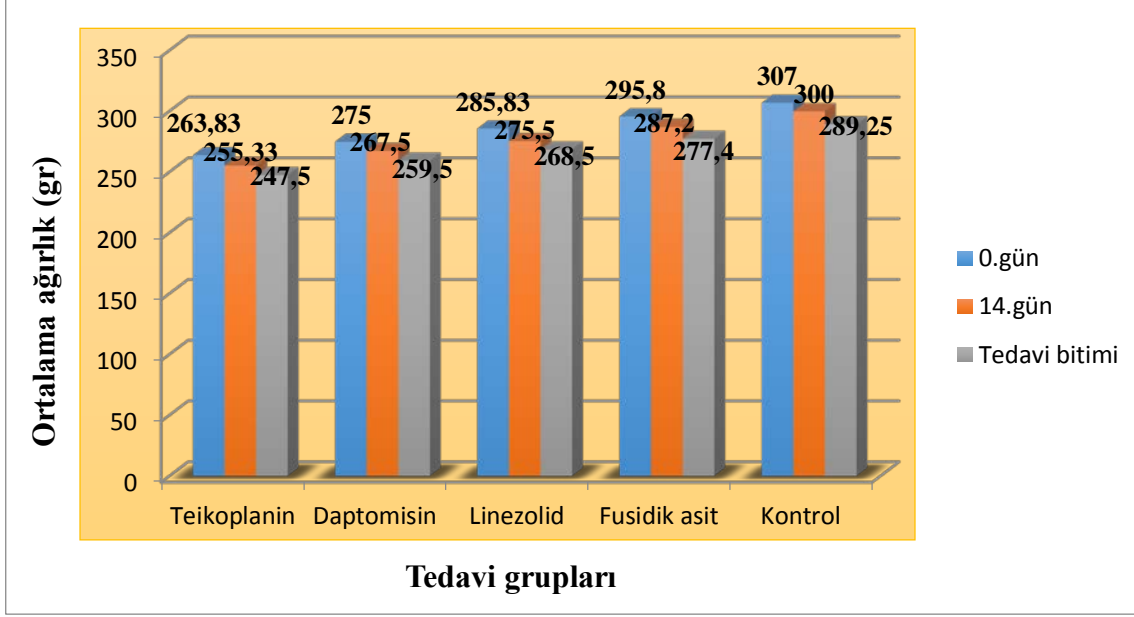
Tablo 12’de; verilen tedavi ile gözlenen makroskopik enfeksiyon bulguları özetlenmiştir.

Tablo 12: Makroskopik enfeksiyon bulguları

Verilen Tedavi				
Teikoplanin	Daptomisin	Linezolid	Fusidik asit	Kontrol

Tam regresyon	2	5	4	2	Yok
Kısmi regresyon	2	1	2	3	Yok
Progresyon	2	Yok	Yok	Yok	4

Deney süresi boyunca sıçanların ağırlık değerlerindeki değişimlerin birbirleri ile karşılaştırılabilmesi için; iki haftalık izlem sonrası sakrifiye edilen ve tedavi süresi içerisinde ölen sıçanlar göz önünde bulundurularak, ortalama ağırlık dağılımları yeniden hesaplandı. Buna göre; sıçanların tedaviye başlanmadan hemen önceki ve tedavi bitimindeki ağırlık değerleri karşılaştırıldığında; her bir grup için sırasıyla ortalama $8.16 \text{ gr} \pm 4.23$, $6.16 \text{ gr} \pm 0.98$, $6 \text{ gr} \pm 3.16$, $9.8 \text{ gr} \pm 1.30$ ve $10.25 \text{ gr} \pm 0.95$ kayıp olduğu saptandı. Sıçanların hiçbirinde tedavi sonuna kadar geçen süre içerisinde kilo artışı gözlenmedi. Tedavi sonundaki ağırlık değerleri, çalışma başlangıcındaki değerlerle karşılaştırıldığında ise; total ağırlık kayıplarının her bir grup için sırasıyla ortalama 17.16 ± 3.97 , 15.5 ± 2.50 , 16.83 ± 4.26 , 18.4 ± 4.27 , 17.75 ± 0.95 şeklinde olduğu hesaplandı. Şekil 2’de her bir grup için farklı zamanlardaki ortalama ağırlık değerleri gösterilmiştir. Tablo 13’de ise her bir grup için farklı zamanlardaki ağırlık değerleri kaybı karşılaştırılmıştır.

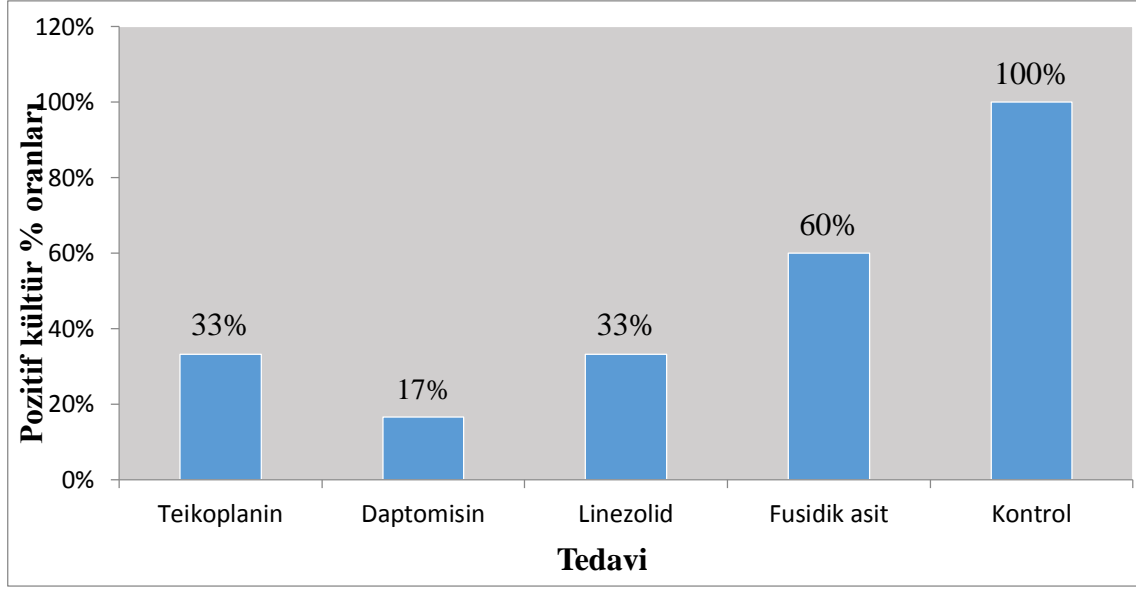


Şekil 2: Çalışma başlangıcından sonuna kadar ağırlık değişimleri

Tablo 13: Ağırlık değerlerindeki kayıpların karşılaştırılması

Süre	Ağırlık kayıpları (gr) ± St.sapma				
	Teikoplanin	Daptomisin	Linezolid	Fusidik asit	Kontrol
14.gün-Tedavi bitimi	8.16 ± 4.23	6.16 ± 0.98	6 ± 3.16	9.8 ± 1.30	10.25 ± 0.95
0.gün-Tedavi bitimi	17.16 ± 3.97	15.5 ± 2.50	16.83 ± 4.26	18.4 ± 4.27	17.75 ± 0.95

Tedavi sonrası kültürü yapılan kemik doku örneklerinden, üreme olan bütün gruplarda; tek tip mikroorganizma identifiye edildi. Kontrol grubunda (n=4); MRSA için %100 oranında, ortalama 7.42×10^4 cfu/gr değerinde pozitif kültür sonuçları elde edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; diğer tüm gruplarda anlamlı olarak daha düşük oranlarda MRSA pozitifliği görüldü (p=0.04). Şekil 3’de 28 günlük tedavinin ardından kemik doku kültürlerindeki MRSA pozitiflik oranları gösterilmiştir.



Şekil 3: 28 günlük tedavi sonunda kemik dokusundaki MRSA oranları

Teikoplanin alan grupta (n=6); tedavi sonrasında iki adet kemik dokuda MRSA pozitifliği görüldü (%33.3). Ortalama bakteriyel konsantrasyon değeri (3.93×10^2 cfu/gr), kontrol grubunun ortalamasına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (p=0.033). Daptomisin tedavisi verilen grupta (n=6); MRSA pozitifliği görülme oranı %16.6 olup, yalnızca bir adet kemik dokuda MRSA varlığı gösterildi. Üreyen tek MRSA suşunun konsantrasyonu 2.0×10^1 cfu/gr olarak saptandı ve bu değer, kontrol grubunun ortalamasından anlamlı olarak daha düşük bulundu (p=0.004). Linezolid alan grupta (n=6), MRSA pozitifliği iki örnekte saptandı (%33.3); ortalama bakteriyel konsantrasyon 9.0×10^1 cfu/gr şeklindeydi ve bu değer de kontrol grubunun ortalamasından anlamlı olarak daha düşüktü (p=0.005). Fusidik asit tedavisi verilen grupta (n=5); MRSA pozitifliği görülme oranı %60 idi, üç adet kemik dokuda MRSA üremesi olduğu gösterildi. Ortalama bakteriyel konsantrasyon 4.76×10^2 cfu/gr şeklinde bulundu ve bu değer, kontrol grubunun ortalamasından anlamlı olarak daha düşüktü (p=0.04). Her bir tedavi grubu için üreyen mikroorganizma sayılarının 10 üzerinden logaritması alındığında hesaplanan değerler, sırasıyla ortalama; 3.06 ± 0.11 , 2.07 ± 0.31 , 2.42 ± 0.06 , 2.88 ± 0.13 , 4.85 ± 0.13 şeklindeydi (Tablo 14).

Tablo 14: Tedavi gruplarına göre mikroorganizma sayıları

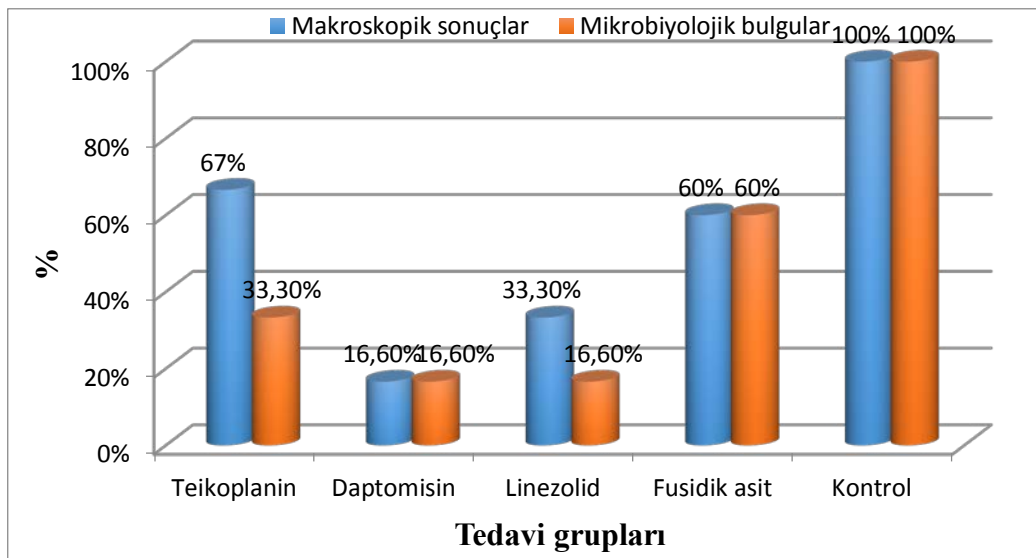
Tedavi grupları	Pozitif kültür sayısı	Üreme (cfu/gr) (Ort.)	p değeri	Üreme (\log_{10} cfu/gr) (Ort. \pm St. sapma)
Teikoplanin	2/6 (%33)	3.93×10^2	0.033	3.06 ± 0.11
Daptomisin	1/6 (%16.6)	2.0×10^1	0.004	2.07 ± 0.31
Linezolid	2/6 (%33)	9.0×10^1	0.005	2.42 ± 0.06
Fusidik asit	3/5 (%60)	4.76×10^2	0.04	2.88 ± 0.13
Kontrol	4/4 (%100)	7.42×10^4	--	4.85 ± 0.13

Tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayılarının logaritmik değerleri incelendiğinde; daptomisin veya linezolid tedavisi verilen gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=1.00$). Aynı şekilde; teikoplanin veya fusidik asit tedavisi alan ya da kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p=0.6$). Daptomisin ve linezolid ile teikoplanin ve fusidik asit tedavileri almış olan gruplar karşılaştırıldığında ise; daptomisin ve linezolid tedavisi verilen grupta, anlamlı olarak daha az sayıda mikroorganizma üremesi olduğu görüldü ($p=0.043$) (Tablo 15).

Tablo 15: Tedavi gruplarına göre üreyen mikroorganizma sayılarının log₁₀ cfu/gr cinsinden karşılaştırılması

Tedavi grupları	Üreyen mikroorganizma sayısı (log ₁₀ cfu/gr, Ort. ± St. sapma)	p değeri
Daptomisin	2.07 ± 0.31	1.00
Linezolid	2.42 ± 0.06	} p=0.043
Teikoplanin	3.06 ± 0.11	
Fusidik asit	2.88 ± 0.13	
Kontrol	4.85 ± 0.13	

Tedavi bitiminde makroskopik ve mikrobiyolojik bulgular karşılaştırıldığında; teikoplanin alan grupta, dört adet sıçanda pozitif enfeksiyon bulgusu görülmesine karşın; ikisinde mikrobiyal üreme tespit edildi (%33.3). Daptomisin tedavisi verilen grupta; pozitif enfeksiyon bulgusu saptanan bir adet sıçanda (%16.6), linezolid alan grupta; iki adet sıçandan birinde (%16.6), fusidik asit tedavisi verilen grupta ise üç adet sıçanın hepsinde MRSA üremesi olduğu görüldü (%60). Kontrol grubunda kalan dört adet sıçanın hepsinde de makroskopik bulgular pozitif ve mikrobiyolojik üreme saptandı (%100) (Şekil 4).



Şekil 4: Tedavi sonrası makroskopik ve mikrobiyolojik bulguların karşılaştırılması

5.TARTIŞMA VE SONUÇ:

Osteomyelit, kemik yıkımı eşliğinde giden enflamatuvar bir süreçtir. Farklı osteomyelit türlerinde genellikle birden çok mikroorganizma kemik dokudan izole edilir. Etken spektrumu çeşitlidir; ancak *S.aureus* en sık identifiye edilen mikroorganizmadır (1). MRSA, dünya genelinde çoğu hastanede endemik olarak saptanmakta; tüm nozokomiyal *S.aureus* enfeksiyonlarının %40-60'ından sorumlu tutulmaktadır (71). Öte yandan; tüm popülasyonda hem ayaktan gelen, hem de yatan hastalarda toplum kökenli MRSA enfeksiyonlarının prevalansı giderek artış göstermektedir. ABD'nde insidans 18-25.7/100000 olarak rapor edilmiştir (72).

MRSA ile gelişen osteomyelit, yukarıda bahsedilen nedenlerden ötürü tedavi başarısı oldukça güç olan bir enfeksiyöz süreçtir. Tedavi süresi diğer bakteriyel enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha uzundur; ancak uzun süreli antibiyotik tedavisi uygulanmasına rağmen sonuçlar çok yüz güldürücü değildir ve rekürrens oranları ortalama %30 kadardır. Hastalar, daha uzun süre hastanede yatarak; çoğunlukla da IV antibiyotik tedavisi almakta, mortalite hızı enfekte olmayan hastalardakine oranla 2.7 kat daha fazla olmakta ve hastaların sağlık maliyetleri de tüm bunlara paralel artmaktadır (73).

Bu tip enfeksiyonların tedavisi için elimizde kalan seçenekler de oldukça sınırlıdır. Antibiyotiklerin etkinliği ile ilgili insan klinik çalışmalarını yürütmek; hem popülasyondaki heterojenite, hem çok çeşitli antibiyotik rejimlerinin kullanılması, hem de çok geniş spektrumda etken patojenlerin ve bunlarla ilişkili virulans paternlerinin bulunması sebebiyle oldukça zor olabilmektedir. Deneysel hayvan modelleri bu boşluğu dolduruyor gibi görünmektedir (74).

Deneysel osteomyelit modellerinde ortak olarak görülen problemler; osteomyelit oluşturmada düşük başarı oranları, etken mikroorganizmanın immunsistemle etkisizleştirilmesinin zorluğu ve sodyum morrhuate gibi sklerozan ajanların kullanılma durumudur. Akut MRSA sıçan osteomyelit modeli, iyi kurgulanmıştır ve antibiyotik etkinliklerinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (65).

Sıçan osteomyelit modellerinin bazılarında; enfeksiyon oluşturulmasının, sklerozan ajanlar kullanılarak ek doku manipülasyonu sağlanmasıyla veya fibrin yapıştırıcı/agar jelle komşu yabancı dokuların birbirine yapıştırılmasıyla kolaylaştırılmaya çalışıldığı görülmüştür (65). Bizim çalışmamız, bu tip yabancı elementlerin tercih edilmemesine bağlı olarak; insandaki enfeksiyöz süreç ile en fazla analog özellik gösterebilmesi açısından önem kazanmaktadır. Bu maddeler; kemik iliği sirkülasyonunu bozmakta, ileriki aşamalarda hedef dokuya antibiyotik dağılımını engellemekte ve sonuç olarak antimikrobiyal terapinin uygun olarak değerlendirilmesinde de birtakım problemlerin ortaya çıkmasına yolaçmaktadır (65). Çalışmamızda; kemik korteksin manüel olarak travmatize edilmesinden sonra MRSA enjeksiyonu yapılmıştır. Ardından; her bir gruptan rastgele seçilen örneklerin tümünde üreme saptanması ve tedavi sonrası yapılan değerlendirmelerde de her bir grup için nesnel üremenin görülmesi, makroskopik bulgular da göz önünde bulundurulduğunda; osteomyelit modelinin başarıyla gerçekleştirildiğini kanıtlar niteliktedir. Yine, benzer olarak; sklerozan ajanların kullanılmadığı diğer osteomyelit modellerinde de enfeksiyon oluşumu gösterilebilmiştir (21).

Çalışmamızda, osteomyelit sıçan modeli; MRSA ATCC® 43300 suşu ile 1×10^8 cfu/ml'lik bakteri süspansiyonundan her bir sıçan için 0.1 ml kullanılarak oluşturulmuştur. Diğer sıçan osteomyelit modellerinde de 1×10^2 - 1×10^9 arasında değişen miktarlarda bakteri süspansiyonu kullanıldığı görülmüştür (21).

Çalışmamızda; tedavi öncesi 14 gün süre ile izlenen 30 sıçanın 16'sında (%53.3) sol bacakta ödem, ısı artışı ve kızarıklık oluşumu gibi lokal enfeksiyon bulguları saptanırken, 14'ünde (%46.6) pürülan akıntılı fistülleşme görülmüştür. Benzer şekilde; Kandemir ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği sıçan osteomyelit modelinde de MRSA enjeksiyonu yapılan tüm sıçanlarda, tedaviye kadar geçen süre içerisinde makroskopik enfeksiyon bulgularının gözlemlendiği bildirilmektedir (41).

Sıçanların başlangıç ve tedaviye başlamadan hemen önceki ağırlık değerleri incelendiğinde; hepsinde kilo kaybı olduğu saptanmıştır. Çalışmamızla benzer şekilde; bir tavşan osteomyelit modelinde de tedaviye kadar geçen süreç içerisinde tavşanların tümünde kilo kaybı olduğu bildirilmektedir (75).

Çalışmamızda, tedaviye başlanmadan önce sakrifiye edilen beş adet sıçandan yapılan kemik doku kültürlerinde identifiye edilen tek mikroorganizma; MRSA idi. Mikroorganizma sayıları sırasıyla ortalama, cfu/gr cinsinden; 2.6×10^5 , 2.1×10^5 , 1.7×10^5 , 2.0×10^5 , 1.9×10^5 olarak hesaplandı. Üreyen mikroorganizma sayıları ve logaritmik transformasyon yapıldığında saptanan değerler, normal dağılım göstermekteydi. Benzer deneysel sıçan osteomyelit modellerinde de; antibiyotik tedavisi başlanmadan önce sakrifiye edilen tüm sıçanlarda aynı mikroorganizmanın identifiye edildiği belirtilmektedir (32, 40, 41).

Tüm stafilokokkal suşlara karşı potent etkinliğe sahip ve osteomyelitte geniş çaplı çalışılmış olan tek ilaç grubu, glikopeptidlerdir (29). Çalışmamızda, Avrupa'da uygun ve güvenilir IV uygulama ve etkinliği nedeniyle standart olarak kullanılmıģ glikopeptid antibiyotiklerden teikoplanin tercih edilmiştir. Ancak; ne yazık ki bu antibiyotiklere karşı gelişen geniş çaplı direnç, gram pozitif patojenlerin tedavisinde karşımıza çıkan major problemlerden biridir. Bu nedenle; alternatif antimikrobiyal ajanların kullanılabilirliği, bu tip çok ilaca dirençli mikroorganizmaların tedavisinde büyük önem taşımaktadır (74). Günümüzde, gram pozitif etkinlik gösteren birçok antibiyotik bulunmaktadır: Daptomisin, linezolid ve fusidik asit bunlardan birkaçıdır.

Antibiyotikler, sıçanlara 28 gün boyunca uygulanmıştır. Benzer deneysel osteomyelit modellerinde de, kullanılan antibiyotiklerin uygulama süresinin genel olarak 28 gün olduğu görülmüştür (39, 41). Bu çalışmalar sonucu elde edilen bilgilerden en önemlilerinden biri; uzatılmış antibiyotik tedavisine rağmen (en az dört hafta) kemik dokuda canlı bakteri varlığının bulunabileceğidir. Yine de; kemik dokudan daha fazla oranda mikroorganizma eradikasyonu antibiyotik tedavi süresinin uzun tutulması ile ilişkilidir. Kısa süreli antibiyotik rejimlerinin çoğu, kemik dokusundan mikroorganizmayı eradike etmekte başarısız olmakta veya yetersiz kalmaktadır (9).

Tedaviye başlandıktan sonra, 30 sıçandan üçü (biri fusidik asit tedavisi alan gruptan, diğer ikisi kontrol grubundan) öldükleri için çalışmamızdan çıkarılmıştır. Sıçanların tümünün bakımı standart bir şekilde ve aynı kişi tarafından günlük olarak yapıldığı için; ölüm sebepleri, enfeksiyona sekonder komplikasyonlar olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bir tavşan osteomiyelit modelinde; çalışma dışı bırakılan yedi tavşandan beşinin gastroenterokolit sebebiyle öldüğü belirtilmiş; ölen tavşanların tümünün linezolid tedavisi almakta olduğu belirtilmiştir (75). Bir başka tavşan osteomiyelit çalışmasında ise linezolid tedavisi almakta olan bir tavşan, gastroenterokolit sebebiyle ölmüştür. Aynı çalışmada; linezolid tedavisi verilen tüm tavşanlarda birtakım gastrointestinal semptomların bulunduğu ve bu nedenle de tavşanların tümüne probiyotik başlandığı belirtilmiştir (76). Bizim çalışmamızda ise uygulanan antibiyotiklerle ilişkili herhangi bir yan etki oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum; bahsedilen çalışmalarda linezolid tedavisinin PO yoldan uygulanması ile daha fazla gastrik irritasyon yapabilmesine bağlanabilir.

Çalışmamızda; sıçanların hiçbirinde tedavi sonuna kadar geçen süre içerisinde kilo artışı saptanmamıştır. Tedavi sonundaki ağırlık değerleri, çalışma başlangıcındaki değerlerle karşılaştırıldığında; total ağırlık kayıplarının her bir grup için sırasıyla ortalama 17.16 ± 3.97 , 15.5 ± 2.50 , 16.83 ± 4.26 , 18.4 ± 4.27 , 17.75 ± 0.95 şeklinde olduğu hesaplanmıştır. Şiddetli bir enfeksiyöz süreç geçiren ve yoğun antibiyotik tedavisi verilen sıçanlarda saptanan bu kilo kayıpları, normal olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın; bizim çalışmamızdan farklı olarak deneysel bir tavşan osteomiyelit modelinde, tedavi süresi boyunca tavşanların tümünde kilo artışı olduğu bildirilmektedir (77). Bir başka tavşan osteomiyelit modelinde ise; antibiyotik tedavisi öncesi 14 günlük süreç içerisinde tavşanların tümünde kilo kaybı olduğu, tedavi sonrasında ise kilo aldıkları bildirilmektedir (75).

Çalışmamızda, 28 günlük antibiyotik tedavisi boyunca lokal enfeksiyon bulgularının değişimi değerlendirildiğinde; teikoplanin alan grupta iki sıçanda tam regresyon olduğu görülürken, daptomisin ve linezolid alan gruplarda ise tam regresyon görülen sıçanların sayıları sırasıyla beş ve dört idi. Daptomisin, linezolid ve fusidik asit alan gruplarda bu açıdan progresyon saptanmazken; teikoplanin verilen iki sıçanın bulgularında progresyon gözlemlendi. Benzer şekilde; Kandemir ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği sıçan osteomyelit modelinde de, teikoplanin alan grupta tigesiklin verilen gruba göre lokal enfeksiyon bulgularında progresyon olduğu bildirilmektedir (41). Vergidis ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka osteomyelit modelinde ise; tek başına linezolid verilen grupta makroskopik enfeksiyon bulgularının, rifampisinle kombine edilerek uygulandığı grupla karşılaştırıldığında devam ettiği ifade edilmektedir (40). Daptomisinle vankomisin etkinliğinin karşılaştırıldığı bir tavşan osteomyelit modelinde ise daptomisin alan gruptaki tavşanların tümünde lokal enfeksiyon bulgularında gerileme olduğu belirtilmektedir (77). Fusidik asit ile yapılan bir sıçan osteomyelit modelinde ise; tek başına teikoplanin verilen gruba göre, fusidik asit emdirilmiş çimento eklenmiş ve teikoplanin verilen grupta klinik olarak daha hızlı iyileşmenin olduğu bildirilmektedir (32).

MRSA ile gelişen ciddi enfeksiyonlarda, daptomisin tedavisi sırasında direnç gelişmesi nedeniyle klinik başarısızlık görülebileceğini bildiren çalışmalar da vardır (78-80). Bununla ilgili olarak tartışılan bir deneysel tavşan osteomyelit modelinde; enfekte kemik dokudaki mikrobiyolojik eradikasyon, vankomisin ile benzer bulunduğu halde; daptomisin düzeylerinin vankomisine göre yetersiz kaldığı belirtilmektedir (77). Yapılan bir başka deneysel tavşan MRSA osteomyelit modelinde ise, daptomisinle rifampisinle kombine edilerek kullanıldığı grupta daptomisine karşı direnç oluşumunun saptanmadığı; ancak tek başına daptomisin verilen grupta, enfekte edilen dokuz sıçanın üçünde direnç görüldüğü belirtilmektedir (81). Bizim çalışmamızda ise; daptomisin ile tedavi sonrasında toplam altı sıçandan oluşan grupta sadece bir sıçanda (%16.6) MRSA üremesi olduğu; teikoplanin, linezolid ve fusidik asit verilen gruplarda ve kontrol grubunda ise sırasıyla; %33.3, %16.6, %60 ve %100 şeklinde pozitif kültür oranlarının elde edildiği görülmüştür.

Çalışmamızda; fusidik asit ile elde edilen %60 oranındaki pozitif kültür sonucu, tek başına kullanılması ile ilişkilendirilebilir. Ersöz ve arkadaşlarının yaptığı bir sıçan MRSA osteomyelit modelinde; hayvanlar enfekte edildikten sonra, bir gruba fusidik asit emdirilmiş kemik çimentosu yerleştirilmiş ve her iki gruba da teikoplanin IV tedavisi uygulanmıştır. Sonuç olarak; bakteri eliminasyon oranları teikoplanin ve fusidik asit kombine terapisi alanlarda %81.8, tek başına teikoplanin tedavisi verilenlerde ise %55.6 şeklinde bulunmuştur (32).

Osteomyelitte fusidik asit kullanımı ile ilgili yapılan klinik çalışmalara bakıldığında; yaklaşık iki hafta kadar IV glikopeptid tedavisi verilmesini ve klinik tablonun kontrol altına alınmasını takiben PO yoldan; çoğu zaman rifampisinle, daha az sıklıkta da doksisisiklin ve linezolid gibi antibiyotiklerle beraber kullanılması sonucunda tedavi başarısının arttığı bildirilmektedir (23, 33).

Tedavi sonrası kültürü yapılan kemik doku örneklerinden, tek tip mikroorganizma (MRSA) identifiye edilmiştir. Tedavi alan gruplardaki üremeler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; tümünde anlamlı olarak daha düşük oranlarda MRSA pozitifliği saptanmıştır ($p=0.04$). Tedavi alan her bir grup için hesaplanan ortalama bakteriyel konsantrasyon değerleri (cfu/gr), ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da; kontrol grubunun ortalamasına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Benzer bir çalışmada; daptomisin tedavisi ile elde edilen ortalama mikrobiyal üreme miktarının fosfomisinle benzer değerlerde olduğu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; antibiyotik tedavisi verilen iki grupta da anlamlı olarak daha düşük oranlarda MRSA pozitifliği saptandığı belirtilmektedir ($p<0.001$) (77). Bir başka çalışmada ise; daptomisin tedavisi ile, elde edilen sonuçların sadece kontrol grubundan daha üstün olduğunun ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında beklenenin altında bir performans görüldüğünün altı çizilmiştir (82).

Çalışmamızda; teikoplanin, daptomisin, linezolid ve fusidik asit tedavileri sonrası üreyen mikroorganizma sayılarının \log_{10} cfu/gr cinsinden değerleri sırasıyla ortalama; 3.06 ± 0.11 , 2.07 ± 0.31 , 2.42 ± 0.06 , 2.88 ± 0.13 şeklindeydi. Bu değer, tedavi verilmeyen kontrol grubunda ise 4.85 ± 0.13 idi. Bu açıdan değerlendirildiğinde; daptomisin veya linezolid tedavisi verilen gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p=1.00$). Benzer durum, teikoplanin veya fusidik asit tedavisi alan ya da tedavi verilmeyen kontrol grubu için de geçerliydi ($p=0.6$). Teikoplanin ve fusidik asit tedavisi alan gruplara göre; daptomisin ve linezolid verilen grupta, anlamlı olarak daha az sayıda mikroorganizma üremesi olduğu saptandı ($p=0.043$). Linezolid, kemik dokudaki ortalama pik konsantrasyon değerinin; plazmadakinin %60'ı olduğunun bilinmesine ve kullanılan diğer antibiyotiklere göre de tek bakteriyostatik ajan olmasına rağmen daptomisine benzer bir tedavi başarısı sağlamıştır. Bunun bir açıklaması; Rana ve arkadaşlarının çalışmasında da belirtildiği gibi, linezolidin enfekte kemik dokuya iyi penetre olabilmesi şeklinde açıklanabilir (83). Bir başka deneysel osteomyelit modelinde ise; linezolidin rifampisinle kombine olarak kullanıldığında daha etkili olduğu gösterilmiştir (40). Ayrıca; uzun süreli tedavide etkinliği, muhtemel mitokondriyal protein sentez inhibisyonuna bağlı gelişen ciddi yan etkileri sebebiyle sınırlı olmaktadır (84). Ek olarak; osteomyelit gibi uzun süreli tedavi gerektiren ve yönetimi bir o kadar da zor olabilen klinik durumlarda ilaçların maliyet etkinliği de göz önünde bulundurularak karar verilmelidir. Bu tarz maliyet kontrollerinin, antibiyotik yönetim politikalarını ve sınırlı kaynaklara sahip sağlık hizmeti sunumlarını etkilediği unutulmamalıdır.

Çalışmamızda; teikoplanin ve linezolid tedavileri alan gruplardaki pozitif makroskopik enfeksiyon bulguları sırasıyla %67, %33.3 şeklindeyken; tedavi sonunda elde edilen pozitif kültür oranları %33.3 ve %16.6 olarak hesaplandı. Fusidik asit tedavisi alan ve tedavi verilmeyen kontrol grubunda ise pozitif makroskopik bulgular ile mikroskopik üreme oranları birbiriyle koreleydi; her bir grup için sırasıyla %60 ve %100 oranlarında pozitif sonuçlar elde edildi. Kandemir ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir sıçan MRSA osteomyelit modelinde, teikoplanin ve tigesiklinin etkinliği karşılaştırılmış, teikoplanin alan grupta kemik dokuda üreyen mikroorganizma sayısının (\log_{10} cfu/gr) kontrol grubuna göre düşük olduğu; ancak bu iki antibiyotik arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmediği; ayrıca teikoplanin alan grupta lokal enfeksiyon bulgularının devam ettiği belirtilmiştir (41).

Çalışmamızda bazı sınırlılıklar mevcuttur. İlk olarak; MRSA osteomyeliti tüm sıçanlarda aynı klinik MRSA suşu ile oluşturulmuştur. Bununla birlikte; bizim çalışmamızdan elde edilen veriler, subakut veya kronik seyirli ve diğer anatomik lokalizasyonlu osteomyelit modellerine uyarlanmamalıdır (65). Bir diğer sınırlayıcı özellik ise örneklem büyüklüğünün göreceli olarak yeterli olmamasıdır. Bu durumu, yerel etik kurul komitesinin uygun gördüğü hayvan adedenin maksimum bu kadar oluşuyla açıklayabiliriz. Her ne kadar; deneysel prosedür gereği osteomyelit modelinin efektif bir şekilde oluşturulabildiğini desteklemek amacıyla radyolojik görüntüleme işlemi yapılması gerekirse de; çalışmamızın yürütüldüğü hayvan laboratuvarının kısıtlı olanakları sebebiyle deneyin bu aşaması gerçekleştirilememiştir. Ayrıca; radyolojik görüntülemenin kullanılmadığı başka deneysel osteomyelit modelleri de mevcuttur (40, 77). Çalışmamızda; MRSA enjeksiyonunu takiben gerçekleştirilen iki haftalık izlem sırasında, tüm sıçanlarda (n=35) makroskopik lokal enfeksiyon bulgularının saptanması ve tedavinin hemen öncesinde sakrifiye edilen sıçanların kemik dokuları, mikrobiyal üremeler bakımından değerlendirildiğinde; hepsinde de tek identifiye edilen mikroorganizmanın MRSA olduğunun gösterilmesi, deneysel modelimizin başarılı olduğu önemli aşamalardandır.

Sonuçta; antibiyotik direncindeki artışa paralel olarak yeni ajanların geliştirilmesi gerekli ve kaçınılmazdır. Osteomyelit gibi uzun süreli antibiyotik kullanımının gerektiği ve glikopeptid direncinin hızla arttığı klinik tablolarda, glikopeptidlere alternatif ajanların kullanıma girmesi son derece önemlidir. Bu kapsamda; osteomyelit tedavisinde gram pozitif etkinlikteki alternatif ajanlardan daptomisin ve linezolid ile tam regresyon ve anlamlı oranlarda mikroorganizma eradikasyonunun elde edilmesi ümit verici olmakla birlikte, linezolidin bakteriyostatik bir ajan olması osteomyelit tedavisinde gözönünde bulundurulmalıdır. Aynı şekilde, fusidik asitin de tam ve kısmi regresyonda başarılı; ancak mikrobiyolojik eradikasyon yönünden zayıf olduğu dikkate alınırsa, bu antibiyotiklerin osteomyelit tedavisinde kullanılabilirliği için daha geniş serilerde çalışmalar yapılması ile zorunlu hallerde özellikle linezolid ve fusidik asitin kombine şekilde uygulanmasının gerekliliği vurgulanabilir.

6.KAYNAKLAR:

- 1.Berberi EF, Steckleberg J, Osmon DR. Osteomyelitis. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, seventh ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone 2010:1457-67.
- 2.Varkadas KZ, Kontopidis I, Gkegkes ID, Rafailidis PI, et al. Incidence, characteristics and outcomes of patients with bone and joint infections due to community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a systematic review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2013;32:711-721.
- 3.Pan A, Lorenzotti S, Zoncada A. Registered and investigational drugs for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Recent Patent on Anti-Infective Drug Discovery 2008;3:10-33.
- 4.Wood MJ. The comparative efficacy and safety of teicoplanin and vancomycin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1996;37(2):209-22.
- 5.Arbeit RD, Maki D, Tally FP, Campanaro E, et al. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. Clin Infect Dis 2004;38(12):1673-81.
- 6.Finney MS, Crank CW, Segreti J. Use of daptomycin to treat drug-resistant gram-positive bone and joint infections. Curr Med Res Opin 2005;21(12):1923-6.
- 7.Flamm RK, Farrell DJ, Mendes RE, Ross JE, et al. ZAAPS program results for 2010: an activity and spectrum analysis of linezolid using clinical isolates from 75 medical centres in 24 countries. J Chemother 2012;24(6):328-37.
- 8.Wang JL, Tang HJ, Hsieh PH, Chiu FY, et al. Fusidic acid for the treatment of bone and joint infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. International Journal of Antimicrobial Agents 2012;40:103-107.
9. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. Lancet 2004;364:369-79.
- 10.Evans RP, Nelson CL, Lange TA. Pathophysiology of Osteomyelitis. In: Collister Ewerts, editors. Surgery of the Musculoskeletal System, Mc Churchill Livingstone 1990:19-35.
- 11.Cierny G 3rd, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. Clin Orthop Relat Res 2003;414:7-24.

12. Marietta V. Osteomyelitis in children. *Current Opinion in Pediatrics* 2002;14:112-15.
13. Calhoun JH, Manring MM. Adult osteomyelitis. *Infect Dis Clin N Am* 2005;19:765-86.
14. Michail M, Jude E, Liaskos C, Karamagiolis S. The performance of serum inflammatory markers for the diagnosis and follow-up of patients with osteomyelitis. *Int J Low Extrem Wounds* 2013;12(2):94-9.
15. Santiago RC, Gimenez CR, McCarthy K. Imaging of osteomyelitis and musculoskeletal soft tissue infections: current concepts. *Rheum Dis Clin North Am* 2003;29:89-109.
16. Pineda C, Espinosa R, Pena A. Radiographic imaging in osteomyelitis: the role of plain radiography, computed tomography, ultrasonography, magnetic resonance imaging and scintigraphy. *Semin Plast Surg* 2009;23:80-89.
17. Hatzenbuehler J, Pulling TJ. Diagnosis and management of osteomyelitis. *Am Fam Physician* 2011;84(9):1027-33.
18. Rao N, Ziran BH, Lipsky BA. Treating osteomyelitis: antibiotics and surgery. *Plast Reconstr Surg* 2011;127:177-187.
19. Mouzopoulos G, Kanakaris NK, Kontakis G, et al. Management of bone infections in adults: the surgeon's and microbiologist's perspectives. *Injury* 2011;42:18-23.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, twentieth informational supplement, M100-S20, CLSI, Wayne, PA, 2010.
21. Reizner W, Hunter JG, O'Malley NT, Southgate RD et al. A systematic review of animal models for *S.aureus* osteomyelitis. *European Cells and Materials* 2014;27:196-212.
22. Fraimow HS. Systemic antimicrobial therapy in osteomyelitis. *Semin Plast Surg* 2009;23(2):90-9.
23. Kim BN, Kim BS, Oh MD. Oral antibiotic treatment of staphylococcal bone and joint infections in adults. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:309-322.
24. Shorr AF. Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clin Infect Dis* 2007;45:171-176.
25. Tice AD, Hoaglund PA, Shoultz DA. Risk factors and treatment outcomes in osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:1261-1268.

- 26.**Small PM, Chambers HF. Vancomycin for *S.aureus* endocarditis in intravenous drug users. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:1227-1231.
- 27.**Kollef MH. Limitations of vancomycin in the management of resistant staphylococcal infections. *Clin Infect Dis* 2007;45:191-195.
- 28.**Hidayat LK, Hsu DI, Quist R, et al. High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *S.aureus* infections: efficacy and toxicity. *Arch Intern Med* 2006;166:2138-2144.
- 29.**Murray BE, Nannini EC. Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), streptogramins (quinupristin-dalfopristin), and lipopeptides (daptomycin). In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds.). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. New York: Churchill Livingstone 2010:449-468.
- 30.**Şardan YÇ, Ünal S, Aksoy DY. Glikopeptidler. Leblecioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (editörler). *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:293-312.
- 31.**Ulusoy S. Gram-Pozitif Etkinliği Olan Antibiyotikler. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (editörler). *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*. 2. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2012:500-504.
- 32.**Ersoz G, Oztuna V, Coskun B, Eskandari MM, et al. Addition of fusidic acid impregnated bone cement to systemic teicoplanin therapy in the treatment of rat osteomyelitis. *J Chemother* 2004;16(1):51-5.
- 33.**Wang JL, Tang HJ, Hsieh PH, Chiu FY, et al. Fusidic acid for the treatment of bone and joint infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2012;40(103-107).
- 34.**Tekin A, Dal T, Deveci O, Tekin R, et al. Assessment of methicillin and clindamycin resistance patterns in *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary hospital in Turkey. *Infez Med* 2013;21(2):111-6.
- 35.**Saengnipanthkul S, Pongvivat T, Mahaisavariya B, Laupattarakasem W. Co-trimoxazole in the treatment of chronic osteomyelitis. *J Med Assoc Thai* 1988;71:186-191.

- 36.**Markowitz N, Quinn EL, Saravolatz LD. Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with vancomycin for the treatment of *S.aureus* infection. *Ann Intern Med* 1992;117:390-398.
- 37.**Metzler K, Hansen GM, Hedlin P, et al. Comparison of minimal inhibitory and mutant prevention drug concentrations of 4 fluoroquinolones against clinical isolates of methicillin-susceptible and -resistant *S.aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24:161-167.
- 38.**Coiffier G, Albert JD, Arvieux C, Guggenbuhl P. Optimizing combination rifampin therapy for staphylococcal osteoarticular infections. *Joint Bone Spine* 2013;11-17.
- 39.**Yin LY, Lazzarini L, Li F, Stevens CM, Calhoun JH. Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin resistant *staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:995-1002.
- 40.**Vergidis P, Rouse MS, Euba G, Karau MJ, et al. Treatment with linezolid or vancomycin in combination with rifampin is effective in an animal model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* foreign body osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(3):1182-6.
- 41.**Kandemir O, Oztuna V, Colak M, Akdag A, et al. Comparison of the efficacy of tigecycline and teicoplanin in an experimental MRSA osteomyelitis model. *J Chemother* 2008;20(1):53-57.
- 42.**Drew RH, Perfect JR, Srinath L, Kurkimilis E, et al. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections with quinupristin-dalfopristin in patients intolerant of or failing prior therapy. *J Antimicrob Chemother* 2000;46(5):775-84.
- 43.**Bogdanovich T, Ednie LM, Shapiro S, Appelbaum PC. Antistaphylococcal activity of ceftobiprole, a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4210-4219.
- 44.**Yin LY, Calhoun JH, Thomas JK, Shapiro S, et al. Efficacies of ceftobiprole medocaril and comparators in a rabbit model of osteomyelitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(5):1618-22.
- 45.**Macdonald A, Dow G. Ceftobiprole: first reported experience in osteomyelitis. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2010;21(3):138-40.

- 46.**Mushtaq S, Warner M, Ge Y et al. In vitro activity of ceftaroline (PPI-0903M, T-91825) against bacteria with defined resistance mechanisms and phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:300-11.
- 47.**Li-Yan Y, Jason HC, Theodore S. Efficacy of telavancin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis: studies with a rabbit model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009;63:357-360.
- 48.**Jennifer DT, Michael SG, Kerry OC, Justin BU. Telavancin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother* 2011;329:2675-2676.
- 49.**Dryden MS. Linezolid pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical treatment. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(4):7-15.
- 50.**Manfredi R. Update on the appropriate use of linezolid in clinical practice. *Ther Clin Risk Manag* 2006;2(4):455-64.
- 51.**Ross JE, Anderegg TR, Sader HS, Fritsche TR, Jones RN. Trends in linezolid susceptibility patterns in 2002: Report from the worldwide Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:53-8.
- 52.**Murillo O, Domenech A, Euba G. *In vitro* activity of linezolid alone and in combination with gentamicin, vancomycin or rifampicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by time-kill curve methods. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:857-64.
- 53.**Murillo O, Domenech A, Euba G, Verdaguer R, et al. Efficacy of linezolid alone and in combination with rifampin in staphylococcal experimental foreign-body infection. *J Infect* 2008;57(3):229-35.
- 54.**Gould FK. Linezolid: safety and efficacy in special populations. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(4):3-6.
- 55.**Rao N, Ziran BH, Wagener MM, Santa ER, Yu VL. Similar hematologic effects of long-term linezolid and vancomycin therapy in a prospective observational study of patients with orthopedic infections. *Clin Infect Dis* 2004;38:1058-1064.
- 54.**Robbel L, Marahiel MA. Daptomycin, a bacterial lipopeptide synthesized by a nonribosomal machinery. *J Biol Chem* 2010;285:27501-27508.

- 57.**Steenbergen JN, Alder J, Thorne GM, Tally FP. Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:283-288.
- 58.**Cha R, Grucz RG Jr, Rybak MJ. Daptomycin dose-effect relationship against resistant gram-positive organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(5):1598-603.
- 59.**Kosmidis C, Levine DP. Daptomycin: pharmacology and clinical use. *Expert Opin Pharmacother* 2010;11(4):615-625.
- 60.**Carpenter CF, Chambers HF. Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clin Infect Dis* 2004;38(7):994-1000.
- 61.**Traczewski MM, Katz BD, Steenbergen JN et al. Inhibitory and bactericidal activity of daptomycin, vancomycin and teicoplanin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* collected from 1985 to 2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(5):1735-1738.
- 62.**Forrest GN, Donovan BJ, Lamp KC et al. Clinical experience with daptomycin for the treatment of patients with documented gram-positive septic arthritis. *Ann Pharmacother* 2008; 42(2):213-217.
- 63.**Chung PY, Toh YS. Anti-biofilm agents: recent breakthrough against multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathog Dis* 2014;70(3):231-9.
- 64.**Cierny G. Surgical treatment of osteomyelitis. *Plast Reconstr Surg* 2011;127:190-204.
- 65.**Krinke GJ. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*, pp.523-569, San Diego, California, 2000.
- 66.**Bilgehan H. Bakteri Sayma Yöntemleri. Bilgehan H (editör). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 5.Baskı. İzmir: Barış Yayınları 2009:131-144.
- 67.**Wei-Tao J, Shi-Hua L, Chang-Qing Z, Jian-Qiang W. In vitro and in vivo efficacies of teicoplanin-loaded calcium sulfate for treatment of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Antimicrob Agents and Chem* 2010;54:170-176.
- 68.**Steenbergen JN, Mohr JF, Thorne GM. Effects of daptomycin in combination with other antimicrobial agents: a review of in vitro and animal model studies. *J Antimicrob Chemother* 2009;64(6):1130-1138.

- 69.**Gaudin A, Jacqueline C, Gautier H, Desessard C, et al. A delivery system of linezolid to enhance the MRSA osteomyelitis prognosis: in vivo experimental assessment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(2):195-198.
- 70.**Haag R. Efficacy of penicillin G, flucloxacillin, cefazolin, fusidic acid, vancomycin, rifampicin and fosfomycin in muscular infections in mice due to *Staphylococcus aureus*. *Infection* 1986;14(1):38-43.
- 71.**Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis* 2001;7:178-182.
- 72.**Fridkin SK, Hagerman JC, Morrison M, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Eng J Med* 2005;352:1436-1444.
- 73.**Davis JS. Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J* 2005;35(suppl 2):79-96.
- 74.**Sakoulas G, Moellering RC. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Clin Infect Dis* 2008;46:360-367.
- 75.**Yin LY, Calhoun JH, Thomas JK, Shapiro S, et al. Efficacies of ceftobiprole medocartil and comparators in a rabbit model of osteomyelitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents and Chemother* 2008;52(5):1618-1622.
- 76.**Yin LY, Calhoun JH, Thomas TS, Wirtz ED. Efficacy of telavancin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis: studies with a rabbit model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009;63:357-360.
- 77.**Mader JT, Adams K. Comparative evaluation of daptomycin (LY146032) and vancomycin in the treatment of experimental methicillin resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:689-692.
- 78.**Jongsma K, Joson J, Heidari A. Ceftaroline in the treatment of concomitant methicillin-resistant and daptomycin-non-susceptible *Staphylococcus aureus* infective endocarditis and osteomyelitis: case report. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:1444-5.
- 79.**Van Hal SJ, Paterson DL, Gosbell IB. Emergence of daptomycin resistance following vancomycin-unresponsive *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a daptomycin-naive patient- a review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30(5):603-10.

- 80.**John AK, Baldoni D, Haschke M, Rentsch K. Efficacy of daptomycin in implant-associated infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: importance of combination with rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2719-24.
- 81.**Lefebvre M, Jacqueline C, Amador G, et al. Assessment of the *in vivo* activity of daptomycin (DAP) alone and in combination with rifampin (RA) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a rabbit osteomyelitis model: comparison with vancomycin. *American Society for Microbiology* 2008;56-62.
- 82.**Poepl W, Tobudic S, Lingscheid T, Plasenzotti R. Daptomycin, fosfomycin, or both for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in an experimental rat model. *Antimicrob Agents and Chemother* 2011;55(11):4999-5003.
- 83.**Rana B, Butcher I, Grigoris P, Murnaghan C, et al. Linezolid penetration into osteo-articular tissues. *Antimicrob Chemother* 2002;50(5):747-50.
- 84.**Falagas ME, Siempos II, Papagelopoulos PJ, Vardakas KZ. Linezolid for the treatment of adults with bone and joint infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29:233-239.