



T.C.
S.B. ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ KLİNİĞİ
Klinik Şefi: Doç. Dr. İrfan ŞENCAN

METİSİLİNE DİRENÇLİ STAFİLOKOK SUŞLARINDA
AZALMIŞ VANKOMİSİN DUYARLILIĞININ
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ferit KUŞCU

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Uzm. Dr. Yunus GÜRBÜZ

ANKARA

2009

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım klinik Őefimiz, Doç. Dr. İrfan Şencan ve emekli klinik Őefimiz Dr. Rüşhan Türkyılmaz'a; mesleki eğitimime olan katkıları nedeniyle klinik Őef yardımcımız Dr. M. Cihat Diri'ye; asistanlığım süresince ve tez çalışmam sırasındaki esirgemediği desteği ve katkıları nedeniyle başasistanımız Dr. Yunus Gürbüz'e; başta Dr. Vedat Sargın ve Dr. Ediz Tütüncü olmak üzere, tüm uzmanlarımıza teşekkürü borç bilirim.

Uzmanlık eğitimimin neredeyse tamamında, varlığıyla sürekli desteğini hissettiğim, tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında canla başla katkıda bulunan, çok değerli arkadaşım Dr. D. Barış Öztürk'e ve tüm asistan arkadaşlarıma; kliniğimiz hemşireleri ve personellerine; bir dediğimizi iki etmeyip elinden gelen her konuda bize yardımcı olan, laborantımız Abdülkerim Delikaya'ya ve tez çalışmamın finansal kaynağının sağlanması konusunda destek olan SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bilimsel Araştırmaları Destekleme Komisyonuna teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde büyük emeği olan annem, babam ve desteğiyle yaşamımı daha da anlamlı kılan sevgili eşim Özlem, iyi ki varsınız.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1. STAFİLOKOKLAR.....	3
1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma	3
1.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri	3
1.3. Tanımlama	4
1.4. Hücre Yapısı ve Virülans Faktörleri.....	5
1.5. Epidemiyoloji ve Enfeksiyonları	10
1.6. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları.....	11
2. GLİKOPEPTİDLER	20
2.1. Vankomisin.....	20
2.2. Teikoplanin	22
3. LİNEZOLİD.....	23
GEREÇ VE YÖNTEM	25
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA	36
SONUÇ	47
ÖZET	48
ABSTRACT	49
KAYNAKLAR	50
EKLER	

KISALTMALAR DİZİNİ

MRSA: Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*.

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok.

VISA: Vankomisin İntermediate *Staphylococcus aureus*.

hVISA: Heterojen Vankomisin İntermediate *Staphylococcus aureus*.

GIS: Glikopeptid İntermediate Srafilokok.

hGIS: Heterojen Glikopeptid İntermediate Stafilokok.

GISA: Glikopeptid İntermediate *Staphylococcus aureus*.

hGISA: Heterojen Glikopeptid İntermediate *Staphylococcus aureus*.

VSSA: Vankomisin Duyarlı *Staphylococcus aureus*.

VRSA: Vankomisin Dirençli *Staphylococcus aureus*.

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon.

PVL: Panton-Valentine Lökosidin.

TK-MRSA: Toplum Kökenli Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*.

HK-MRSA: Hastane Kökenli Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*.

PBP: Penisilin Bağlayan Protein.

VRE: Vankomisin Dirençli Enterokok.

BHI-V6: 6µg/ml Vankomisin içeren Brain- Heart İnfüzyon Agar.

PAP: Populasyon Analiz Profili.

AUC: Eğri Altında Kalan Alan.

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>S. aureus</i> 'un hücre yüzey proteinleri	7
Tablo 2. İzole edilen bakterilerin kliniklere göre dağılımı.....	28
Tablo 3. Bakterilerin izole edildikleri klinik örnekler.....	29
Tablo 4. Stafilokok suşlarının türlere göre dağılımı.....	29
Tablo 5. E-test metoduyla izolatların vankomisin MİK değerlerinin dağılımı	30
Tablo 6. E-test metoduyla izolatların teikoplanin MİK değerlerinin dağılımı.....	30
Tablo 7. E-test metoduyla izolatların linezolid MİK değerlerinin dağılımı.....	31
Tablo 8. BHI-V6'da üreyen bakterilerin, üreme zamanları ve standart E-test, Makro E-test yöntemleriyle bulunan MİK değerleri	32
Tablo 9. İzolatların PAP-AUC değerleri ve Mu3'e oranları	33
Tablo 10. VIS veya hVIS üretilen hastaların klinik özellikleri.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Stafilokok türlerinin tanımlanmasında kullanılabilir bir şema	5
Şekil 2. Süperantijenlerin, T hücrendeki reseptörleriyle etkileşimi	10
Şekil 3. Murein monomerlerinin sentezi.....	14
Şekil 4. Peptidoglikan tabakanın sentezi	15
Şekil 5. Peptidoglikan tabaka.....	16
Şekil 6. Elektron mikroskopu ile büyütölmüş <i>S. aureus</i> izolatlarının görüntüleri.....	17
Şekil 7. MRSA izolatlarında vankomisin direncinin ekspresyonundaki değişim.....	17
Şekil 8. VRSA'larda direnç mekanizması	19
Şekil 9. <i>S. epidermidis</i> ve <i>S. hominis</i> izolatlarının PAP-AUC grafiği.....	33
Şekil 10. <i>S. aureus</i> izolatlarının PAP-AUC grafiği	34
Şekil 11. <i>S. haemolyticus</i> izolatlarının PAP-AUC grafiği	34

GİRİŞ VE AMAÇ

Stafilokokların ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanması ve 1881'de Alexander Ogston'un fare ve kobaylar için patojen olduklarını vurgulamasından beri 100 yıldan fazla zaman geçmesine rağmen, bu bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisi halen büyük bir sorun olarak önümüzde durmaktadır¹.

Stafilokoklara karşı etkili benzilpenisilinlerin 1940'lı yıllarda klinik kullanıma girmesiyle birlikte bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Ancak kısa sürede penisilinaz üreten stafilokokların ortaya çıkması ve selektif seçilimi, benzilpenisilinlerin etkisini yitirmesine neden olmuştur. Günümüzde stafilokoklarda penisiline direnç oranları %80-90'ları geçmiştir^{2,3,4}. Klinik kullanıma 1959 yılında giren metisiline karşı da 1960'lı yılların hemen başlarında direnç bildirilmeye başlanmıştır³. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, yıllardır tedavisi sorunlu bakteriler olarak gündemdeki yerlerini korumaktadırlar. Son yıllarda Avrupa'daki hastanelerde izole edilen stafilokok suşlarının yaklaşık %20' si metisilin dirençli iken Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (ABD) merkezlerde ise bu oranlar %50'lere ulaşmaktadır⁵. Hastane kaynaklı suşların yanısıra, toplum kaynaklı MRSA'ların bildirimi de gün geçtikçe artmaktadır⁵.

MRSA türleri, beta laktam antibiyotiklere dirençli olmakla birlikte, aynı zamanda makrolidler, kinolonlar, tetrasiklinler, linkozamidler ve aminoglikozitlere de direnç gösterebilmektedirler. Dolayısıyla, MRSA etkeni enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak tek seçenek çoğu zaman glikopeptid antibiyotikler olmaktadır. İlk kez 1997 yılında, Hiramatsu ve arkadaşları tarafından Japonya'dan vankomisine orta düzeyde dirençli olan (minimum inhibitör konsantrasyonu 8µg/ml) *S. aureus* suşunun bildirilmesiyle, literatüre vankomisin ya da glikopeptid intermediate *S. aureus* (VISA, GISA) kavramı girmiştir⁶. Bu olgu bildirimini, ABD, Japonya, Fransa, İngiltere ve Almanya'dan bildirilen VISA'lar izlemiştir. Stafilokoklarda, vankomisine orta düzeyde direncin nedeni, peptidoglikan biyosentezindeki değişikliğe bağlı olarak hücre duvarının kalınlaşması ve düzensiz hale gelmesidir⁵. Ek olarak, penisilin bağlayan protein 2 (PBP2) üretiminin aşırı

artması ve PBP4 ekspresyonunun olmamasının da bu direnç mekanizmasında etkili olduğu bildirilmiştir^{7,8}.

ABD’de 2002 yılında ilk kez bildirilen vankomisin dirençli *S.aureus* (VRSA) suşu, tam vankomisin direnci (MİK \geq 32 μ g/ml) olması nedeniyle VISA’dan farklıdır. VRSA’lardaki temel direnç mekanizması, VISA’lardaki kromozomal dirençten farklı olarak, *Enterococcus faecalis*’teki *vanA* determinantının konjugal transferiyle ortaya çıkmaktadır⁹.

Normal deri ve mukoza florası elemanları olan koagülaz negatif stafilokokların (KNS), özellikle hastane kökenli enfeksiyon etkenleri arasındaki önemi giderek artmaktadır. KNS’ler, bağışıklık sistemiyle ilgili sorunu olan ya da biyomedikal bir araç taşıyan hastalarda ön plana çıkan etkenlerdir. KNS’lerde glikopeptidlere karşı edinilmiş direnç ilk kez 1986 yılında bildirilmiştir^{10,11}. Teikoplanine dirençli bulunan bu suşların ikisi de *Staphylococcus haemolyticus*’tur. Bu bildirim takibeden yıllarda yapılan başka çalışmalarda da vankomisine duyarlılığı azalmış KNS türleri tespit edilmiştir¹².

Rutin test yöntemleriyle, vankomisine azalmış duyarlılıktaki (VISA/GISA/GIS) ya da heterojen duyarlılık azalması olan (hVISA/hGISA/hGIS) suşların tespiti genellikle mümkün olmamaktadır. Glikopeptidlere duyarlı olarak bulunmaları, bu suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde başarısızlıklara yol açmaktadır. Dolayısıyla, vankomisine azalmış duyarlılığa sahip suşların oranlarının, özellikle bizim hastanemiz gibi glikopeptid kullanımının yoğun olduğu hastanelerde araştırılması önemlidir. Bu çalışmada, SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları laboratuvarlarında, değişik klinik örneklerden izole edilen MRSA ve metisilin dirençli KNS’lerde, vankomisine duyarlılığı azalmış suşların, agar tarama, makro metot E-test ve populasyon analiz profili yöntemiyle sıklığının belirlenmesi ve bu suşların vankomisin, teikoplanin ve linezolid MİK değerlerinin E-test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. STAFİLOKOKLAR

1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma

Micrococci terimi, 1871 yılında Alman bilim adamı Von Reclinghausen tarafından, apse materyalindeki gram pozitif bakteriler için kullanılmıştır. Stafilocokları ise ilk kez 1878'de Robert Koch irinde görmüş, 1880'de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiştir¹. 1881 yılında ise İskoçyalı cerrah Sir Alexander Ogston bu mikroorganizmalara, üzüm salkımına benzemeleri nedeniyle, Grekçe üzüm salkımı anlamına gelen *staphylé* kökünden gelen stafilocok ismini önermiştir¹³. Rosenbach 1884'te beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı-portakal rengi kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir. Bu ayırım yakın zamana kadar devam etmiştir¹.

Günümüzde kabul edilen sınıflandırmaya göre, gram pozitif kok morfolojisindeki bakterilerin önemli bir bölümünü içeren Micrococcaceae familyasında *Micrococcus*, *Planococcus*, *Staphylococcus* ve *Stomatococcus* cinsleri bulunmaktadır¹⁴.

Staphylococcus cinsi içinde, 1974 yılına kadar, koagülaz pozitif olan *S. aureus*, koagülaz negatif olan *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* olmak üzere sadece üç tür tanımlanmıştır. Günümüzde ise bu cins içinde 37 tür bulunmaktadır¹⁴, ancak bunlardan sadece 16'sı insanlardaki enfeksiyonlarla ilişkili bulunmuştur¹³. Son yıllarda çok önemli nozokomiyal enfeksiyonların etkeni olduğu bilinen ve sepsis, endokardit, osteomyelit gibi değişik klinik tablolar oluşturabilen koagülaz negatif stafilocok (KNS) türlerini ilk olarak Baird – Parker tanımlamıştır¹.

1.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri

Stafilocoklar, 0.5–1.0 µm çapında, küresel, gram pozitif, sporsuz, hareketsiz mikroorganizmalardır. Tek tek, ikili, tetrat ya da üzüm salkımı şeklinde kümeler, bazen de kısa zincirler oluşturabilen bakterilerdir¹³. Geniş bir ısı aralığında (6,5-45°C) üreyebilirler, aerop ve fakültatif anaerop ortamlarda üremeyi yeğlerler. Katalaz enzimi üretirler ve kanlı agarda 18-24 saatte yuvarlak, düzgün, 1-4 mm çapında hafif

konveks koloniler yaparlar. Optimal üreme dereceleri 30-37° C ve pH: 7-7,5'tur. Çoğu köken, % 10'luk NaCl'li ortamda üreyebilir^{1,13,14}.

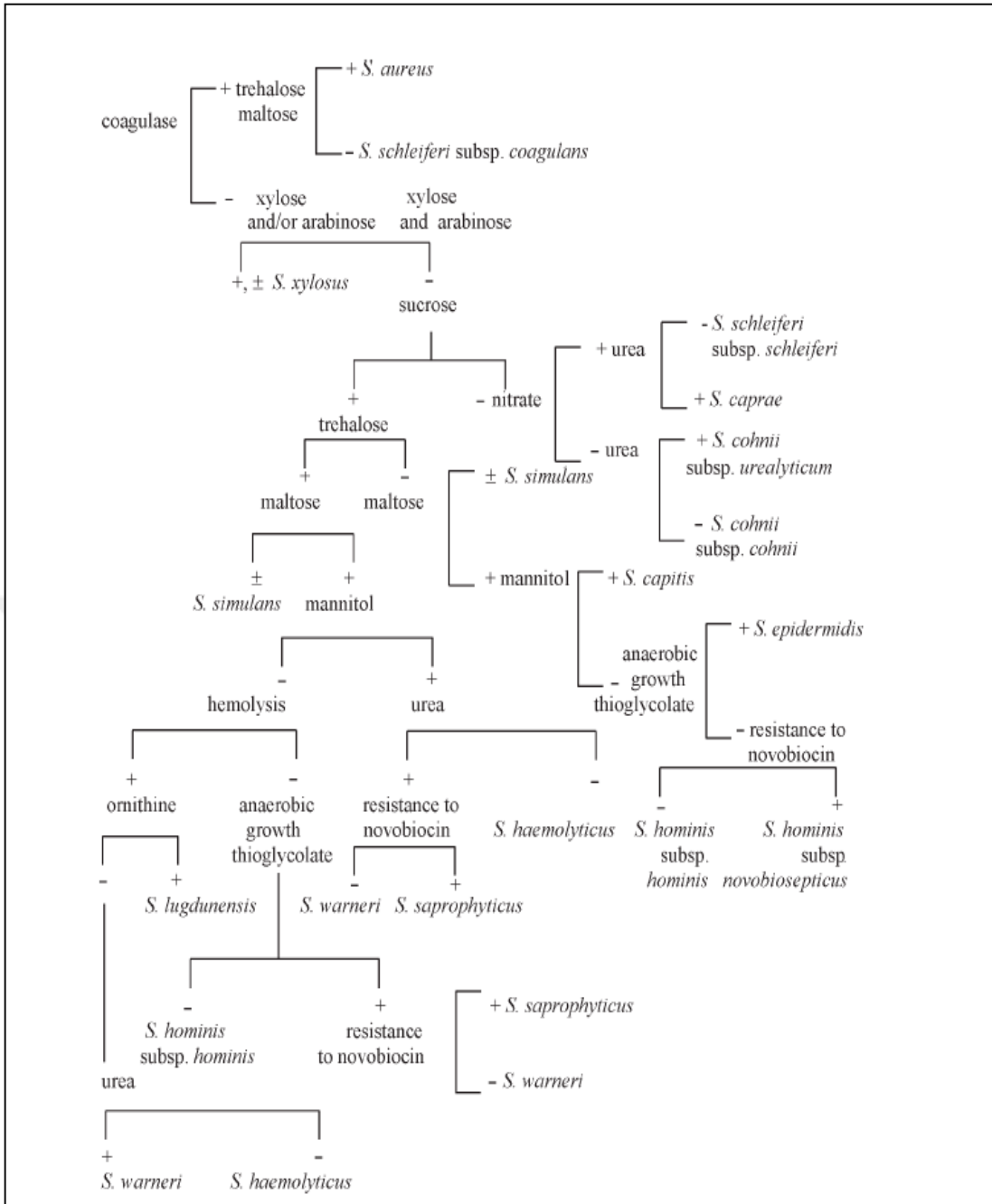
Stafilokoklar, gliserol monoasetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde, 37°C'de üretildiklerinde, karetonoidlerden dolayı, pigment oluştururlar. *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler oluşturur. *S. aureus* kanlı agar da beta hemoliz yapmaktadır¹.

1.3. Tanımlama

Bir bakterinin stafilokok cinsi içinde olduğunu söyleyebilmek için, gram pozitif kok morfolojisinde, katalaz enziminin pozitif, 200 µg/ml lizostafine veya 100 µg furazolidona duyarlı, oksidaz negatif ve basitrasine dirençli olması gerekmektedir^{15,16}.

Stafilokoklar, şekerlerin çoğunu gaz oluşturmaksızın, asit meydana getirerek, fermente ederler¹. Mannitolü ise sadece koagülaz olumlu stafilokoklar fermente edebilmektedir. Bu nedenle mannitol fermentasyonunun saptanması, *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırmada kullanılan testlerden biridir. *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, novobiosine dirençli suşlardır. *S. aureus*, mannitol ve trehalozdan asit oluşturarak *S. epidermidis*'ten; novobiosine duyarlı olması ile *S. saprophyticus*'tan ayrılabilir. *S. epidermidis* ise mannitol ve trehalozdan asit oluşturmaması ve novobiosine duyarlı olması ile *S. saprophyticus*'tan ayrılabilir¹.

S. aureus'u diğer türlerden ayırmada kullanılan en önemli test koagülaz aktivitesinin araştırılmasıdır. Bu testin gerçekleştirilmesinde lam veya tüpte koagülaz deneyleri kullanılabilir. KNS'lerin tiplendirilmesinde ise, D-Ksiloz, Sukroz, D-Trehaloz, Maltoz, Mannitol fermentasyonu, anaerobik ortamda tiyoglikolatta üreme, hemoliz varlığı, nitrat redüksiyonu, üreaz ve ornitin dekarboksilaz aktivitesi, novobiosin direnci gibi özelliklerin araştırılması kullanılacak testlerdendir¹⁷(Şekil1). Günümüzde, bu testlerin bir kısmını içeren, ticari tanımlama kitleri de mevcuttur.



Şekil 1. Stafilkok türlerinin tanımlanmasında kullanılabilecek bir şema¹⁷.

+: pozitif; -: negatif; +,-: pozitif veya negatif; ±: zayıf

1.4. Hücre Yapısı ve Virülans Faktörleri

1.4.1. Patogenezde Etkili Hücre Yüzey Yapıları

a. Biyofilm. Bakterilerin birbirine tutunarak, yapışkan bir ağ kurmasında etkili ekstrasellüler polisakkarit bir yapıdır. Stafilkoklarda biyofilm üretimi, esas olarak koagülaz negatif türlerde tanımlanmıştır. Bakterilerin kateter ve biyolojik

materyallere tutunma ve kolonizasyonunda rol alır. Kolonizasyonun iki aşamada geliştiği düşünülmektedir. İlk aşama tek tek hücrelerin materyallere nonspesifik olarak tutunmasıdır. Bunu takiben hücresel büyüme ve biyofilm üretimi gerçekleşir¹³. Biyofilm tabakasının ana maddesi N-asetil glukozamindir ve iki farklı polisakkarit yapısı oluşturur. Tip 2 polisakkarit yapısı hücreler arası agregasyondan sorumlu olup diğer adı polisakkarit interselüler adezindir (PIA). Bu yapı, hidrofilik yüzeylere fizikokimyasal bağlarla tutunma özelliğine sahip olan komponenttir¹⁸. Biyofilm yapısı, konağın bağışıklık sistemi elementlerinin ve antibiyotiklerin organizmalara ulaşmasını engelleyen bir bariyerdir^{19,20,21}.

b. Kapsül. Birçok *S. aureus* kökeninde polisakkarit yapıda bir mikrokapsül bulunmaktadır. Bakteriyi fagositozdan korur ve konak hücrelerine ve yabancı cisimlere adherensini sağlar. Şimdiye kadar tanımlanmış 11 kapsüler serotipin içinde özellikle tip 5 ve 8 insan enfeksiyonlarının %75'inden sorumludur. Bu kapsüller tiplere karşı gelişen antikorlar deneysel hayvan sepsis modellerinde koruyucu bulunmuştur. Bu antikorlar normal insan serumlarında da tespit edilmiştir. Tip 5 ve 8 kapsüllerine karşı geliştirilen konjuge aşının, hemodiyaliz hastalarında etkili olduğu gösterilmiştir. Antifagositik etkili kapsülün hedeflendiği aşı çalışmaları oldukça umut vericidir^{22,23}.

c. Yüzey Adezinleri. *S.aureus*, değişik konakçı proteinlerine bağlanmayı sağlayan birçok yüzey adezinlerine sahiptir. Bu proteinler, mikrobiyal yüzey komponentini tanıyan adezif matriks molekülleri, MSCRAMM (microbial surface component reacting with adherence matrix molecules) olarak adlandırılırlar ve çoğu hücre duvarı peptidoglikanına kovalent olarak bağlıdır. En önemlilerinin, fonksiyonları ve hastalık gelişimindeki olası etkileri Tablo 1'de gösterilmiştir¹³.

d. Teikoik asit ve Lipoteikoik asit. Teikoik asit, stafilokokların hücre duvarı kuru ağırlığının %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Mukozalarda bulunan özgül reseptörleri (fibronektin, fibrinojen, laminin, trombospondin, vitronektin, elastin vb.) ile birleşerek stafilokokların konağa adherensini sağlar. Adezin olarak net bir şekilde tanımlanmamıştır ve tek başına zayıf immünojendir, inflamasyonu tetiklemez.

Lipoteikoik asit ise, teikoik asitin sitoplazmik plazma membran lipidleriyle ilişkili formudur. Makrofajlardan sitokin salınımını tetikleyerek, inflamasyonun gelişmesinde etkilidir^{13,16}. Hücre duvarının teikoik asitleri *S.aureus*'ta N-asetilglukozamin'in ribitol fosfat üniti iken, *S.epidermidis* 'te poligliserolfosfattır¹.

e. Peptidoglikan. Bu tabaka, N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asitin glikan zincirlerinin birleşmesiyle oluşur. N-asetilmuramik asit tetrapeptid ya da pentapeptid rezidüleri ile bağlantılıdır (L-alanin-D-izoglutamin-L-lizin-D-alanin-[D-alanin]). N-asetilmuramik asite bağlı pentapeptid rezidüleri, bir zincirdeki D-alanin ile diğer zincirde 3. pozisyondaki L-lizin arasındaki pentaglisin köprüleri ile birbirlerine bağlanır. Peptidoglikan tabaka, bakterinin ozmotik stabilitesini sağlar, bakteriye şeklini verir. Betalaktam antibiyotiklerin hedeflediği hücre yapısı olan bu tabakanın sentezindeki modifikasyonlar, dirençli stafilokokların gelişimine neden olur^{13,16}.

Tablo 1. *S. aureus*'un hücre yüzey proteinleri, fonksiyonları ve hastalıklardaki olası etkileri.

Protein	Fonksiyonu	Hastalıklardaki Olası Etkisi
Protein A	Antikorların Fc fragmanına bağlanma,antifagositer.	Deneysel sepsis, Deneysel osteoartrit
Clumping faktör A,B	Fibrinojene bağlanma	Deneysel Endokardit
Kollajen Bağlayıcı Protein	Kollajene bağlanma	Deneysel osteomyelit
Fibrinojen Bağlayıcı Protein A,B	Fibrinojene bağlanma	Deneysel Endokardit, Hücre invazyonu
Serin-aspartat repeat protein	Fibrinojene bağlanma	-
Plasmin-sensitive protein	Nazal mukoza hücrelerine bağlanma	Nazal mukozada kolonizasyon
Triton X-100 varlığında metisilin direncini etkileyen faktör	Olası hücre duvarı yapımı	Metisilin direncinin ekspresyonunu etkiler

1.4.2. Enzimleri

- a. Katalaz.** Bakterilerin, fagositik hücrelerde bulunan toksik hidrojen peroksidi, oksijen ve suya ayrıştırmasını sağlar. Tüm stafilokoklar tarafından üretilir¹.
- b. Koagülaz.** Bağlı ve serbest koagülaz olarak iki tiptir. Protrombine bağlanarak enzimatik olarak aktif hale gelir ve fibrinojenin fibrine dönüşümünü sağlar²⁴.
- c. Fibrinolizin.** Fibrin pıhtılarını azaltır ve enfeksiyonun komşu dokulara yayılımını hızlandırır¹⁵.
- d. Hyaluronidaz.** Bağ dokusundaki asit mukopolisakkaritleri hidrolize eder ve dokulara bakterilerin yayılımına yardımcı olur¹⁵.
- e. Lipaz.** Yağları hidrolize eder ve lipid içeren vücut bölgelerinde stafilokokların yaşamasını sağlar. Kronik karbonkül gelişmesine neden olur^{15,16}.
- f. Nükleaz veya fosfodiesteraz.** Ekzonükleaz ve endonükleaz aktivitesine sahiptirler¹⁵.
- g. Beta-laktamazlar.** İmmünolojik ve substrat spesifik çalışmalar en az 3 çeşit beta-laktamaz olduğunu göstermiştir. Bu enzimler yapısaldır veya indüklenebilir olarak sentezlenir ve bakterileri penisilin ve ampisiline dirençli hale getirir¹⁵.

1.4.3. Hemolizinleri

S.aureus, α -, β -, γ -, δ -hemolizin olmak üzere en az dört tane hemolizine sahiptir. Bunlar, eritrositler ve diğer ökaryotik hücrelerin lizisine neden olur^{14,25}. α -ve δ -hemolizin, toksik olmayan solubl formda sekrete edilir ve ökaryotik hücre membranında multimerize olarak litik porlar oluşturur²⁶. α - hemolizinin, deneysel endokardit modelinde önemli olduğu gösterilmiştir²⁷. β -hemolizin ise sfingomyelin üzerine etkili bir sfingomyelinazdır. Beyaz küreleri lizise uğratar ve lökosidin olarak da adlandırılır¹³.

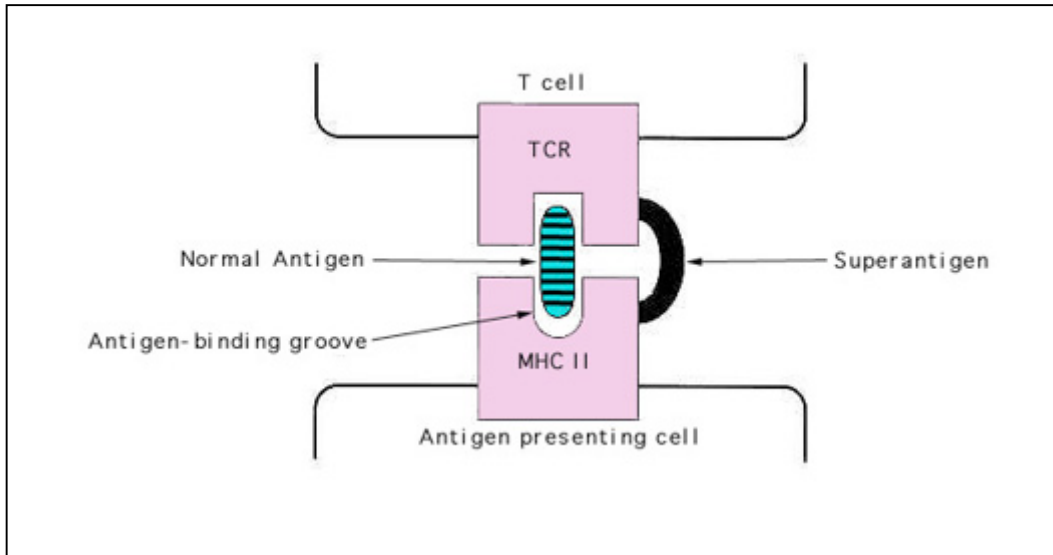
Panton-Valentine Lökosidin (PVL): Tanımlanan birkaç adet γ -hemolizin homologlarından biridir. Birbiri ile sinerjik etki gösteren iki komponentli bir toksin olup, konak lökositlerinin membranlarında porlar oluşturarak bu hücrelerin erimesine neden olmaktadır^{13,15}. Diğer hemolizinden farklı olarak PVL, mobil bir faj tarafından kodlanır ve diğer suşlara da transfer edilebilir. *S.aureus*'un klinik izolatlarının sadece %2'sinde PVL bulunur¹³. PVL üreten *S.aureus* suşları, genç

yetişkinler ve çocuklarda gelişen fronkülozis ve ciddi hemorajik pnömoniyle ilişkili görünmektedir²⁸. Deri enfeksiyonlarına neden olan, toplum kökenli MRSA'ların çoğunda bulunmaktadır²⁹.

1.4.4. Toksinleri

a. Eksfoliyatin (Epidermolitik toksinler). Stafilokoksik haşlanmış deri sendromunununa neden olur. Bazı stafilokok suşları tarafından salgılanır ve ET-A ve ET-B olmak üzere iki proteinden meydana gelirler¹⁵. İki molekül biyokimyasal ve immünolojik olarak farklı olmasına rağmen benzer biyolojik aktiviteye sahiptirler. ET-A, ısıya dayanıklı ve kromozomal kökenli iken; ET-B, ısıya dayanıksız ve plazmid kaynaklıdır¹⁵. Bu proteinler, proteolitik aktiviteye sahiptirler ve stratum granulosumdaki hücrelerin bağlarının kopmasına ve bu tabakanın, derinin alt tabakalarından ayrılmasına neden olur³⁰.

b. Süperantijenler. *S. aureus* süperantijen aktivitesine sahip iki tip toksin salgılar, bunlardan ilki Toksik şok sendromu toksini (TŞST-1) diğeri ise en az 15 değişik antijenik yapıda olabilen enterotoksinlerdir (Stafilokokal enterotoksin A, B, C_n, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O)^{31,32}. TŞST-1, sistemik olarak eksprese edildiğinde toksik şok sendromuna neden olur. Enterotoksinler ise stafilokokal besin zehirlenmelerinden sorumludurlar, ağızdan alındıklarında kusma ve ishal gelişirken, sistemik olarak yayılmaları toksik şok sendromuna neden olur¹⁵. Normal immün yanıtta, Antijen sunan hücreler (APC) antijenleri işledikten sonra MHC class II reseptörleri ile T hücrelerine sunarken, süperantijenlerin APC tarafından yakalanması ve peptidlerine parçalanmaları gerekmemektedir. Süperantijenler T hücrelerinin antijen tanıyan bölgesi dışındaki reseptörlerle etkileşerek CD4+, CD8+ T hücrelerini çok güçlü bir şekilde uyarırlar³³. Normal antijen sunumuyla toplam T hücre havuzunun 10.000'de 1'i aktive edilirken, süperantijenlerin bu nonspesifik birleşmesiyle % 20'si aktive olmaktadır (Şekil 2). Aşırı sitokin salınımı, inflamatuvar yanıtın şiddetli olmasına, endotel kaçağına, multiorgan yetmezliğine ve olası ölüme neden olabilen, endotoksin ilişkili şok durumuna benzer bir duruma yol açmaktadır¹³.



Şekil 2. Süperantijenlerin, T hücrelerinin antijen tanıyan bölgesi dışındaki reseptörlerle etkileşimi.

1.5. Epidemiyoloji ve Enfeksiyonları:

S. aureus, doğumdan sonra göbük, perine ve deriyi kolonize olur. Hayatın sonraki yıllarında ise özellikle burunda yerleşir. Genelde toplumun %33'ünün burnunda taşıyıcılık vardır². Hastane enfeksiyonlarının ikinci en sık etkeni olan *S. aureus* suşlarının büyük çoğunluğu metisiline dirençlidir. Son yıllarda toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları giderek önem kazanmaya başlamıştır. TK-MRSA enfeksiyonları sağlıklı kişilerde, özellikle çocuk ve genç erişkinlerde, deri-yumuşak doku enfeksiyonları ve pnömoniye yol açarlar^{2,5,34}. Bu suşlar, daha virulan ve betalaktam dışı antibiyotiklere daha az dirençlidir ve çoğunluğu Panton-Valentin toksini taşırlar^{34,35}.

S. aureus'un neden olduğu hastalıklar, çok geniş spektrumda ortaya çıkabilmektedir. Bunlar, toksin bağımlı hastalıklar (besin zehirlenmesi, toksik şok sendromu, haşlanmış deri sendromu gibi), cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları (folikülit, fronkül, karbonkül, selülit, impetigo, piyomyozit), kemik-eklem enfeksiyonları (osteomyelit, septik artrit), akciğer ve üriner sistem enfeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, menenjit ve çeşitli organlarda apseler şeklinde ortaya çıkabilir^{13,14}.

KNS'lerin klinik önemi, son yirmi yılda ön plana çıkmıştır³⁶. Hastanelerde prostetik ve kalıcı materyallerin kullanımındaki artış özellikle *S. epidermidis* olmak üzere KNS'lerin, nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında önemli bir yer tutmalarına neden olmuştur. Birçok bakteriyemili olguda; doğal ve prostetik kapak

endokarditleri, üriner sistem enfeksiyonları, prostetik eklem, ventriküler şant, peritoneal şant ve intravasküler katater enfeksiyonlarında *S. epidermidis* etken olarak tanımlanmıştır^{37,38}. *S. saprophyticus*, üriner sistem enfeksiyonları arasında önemli bir fırsatçı patojendir. İkinci en sık KNS enfeksiyonu etkeni *S. heamolyticus*' tur; doğal kapak endokarditi, septisemi, peritonit, üriner sistem enfeksiyonu, yara, kemik ve eklem enfeksiyonlarına neden olur^{37,39}. Diğer KNS'lerde çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler. Örneğin, *S. lugdunensis*, enfektif endokardit nedeni olarak bildirilmiştir, ayrıca Artrit ve bakteriyemiye de neden olmaktadır^{37,39,40}. *S. capitis*, *S. caprae*, *S. saccharolyticus*, *S. simulans* ve *S. warneri* endokardite; *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. schleiferi*, *S. simulans* ve *S. warneri* bakteriyemiye neden olurlar¹⁴.

1.6. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

S. aureus, klinik kullanımdaki antibiyotiklerden hemen hemen hepsine direnç geliştirmiştir. Hücre duvarı sentezini bozan beta-laktamlar ve glikopeptidler, makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS_B), aminoglikozidler, tetrasiklinler, fusidik asit, yeni oksazolidinonlar gibi ribozomal inhibitörler, RNA polimeraz inhibitörü rifampin, DNA girazı bloke eden kinolonlar ve antimetabolit olan trimetoprim/sulfometoksazol direnç geliştirilen antibiyotik gruplarıdır^{41,42}.

1.6.1 Penisilin Direnci

S. aureus'da betalaktamlara karşı dirençte görülen en sık mekanizma, genellikle plazmid üzerinde taşınan, *bla* geni tarafından kodlanan penisilinazlardır. Bu gen *bla_I* ve *bla_I* düzenleyici determinantları tarafından indüklenebilir. Penisilinazlar, penisilini ve diğer penisilinaz duyarlı bileşikleri inaktif penisilloik asite hidrolize eden, bakteriler tarafından sekrete edilen enzimlerdir⁴³. Penisilinaz üreten *S. aureus*, penisilinlerin 1940'ların ortasında tedavi seçeneği olarak kullanıma girmesini takiben hızlıca ortaya çıkmıştır. Günümüzde hastane ve toplum kökenli suşların ikisinde de %80-90 civarında penisilin direnci mevcuttur^{41,44}.

Tam duyarlı *S. aureus*'un penisilin G için MİK değeri yaklaşık 0,01 mg/L'dir. Nafsilin veya sefalosporinler gibi penisilinaz dirençli ilaçlarda ise MİK değerleri bunun 10 kat fazlasıdır. Bu nedenle penisilin G, penisilin duyarlı stafilokoklar için en iyi seçenektir¹³.

1.6.2. Metisilin Direnci

Metisilin, stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde 1959 yılında kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bu antibiyotiğe karşı da direnç bildirilmiştir. Metisilin direncinden sorumlu temel mekanizma, *mecA* geni tarafından kodlanan PBP2a yapımıdır⁴⁵. PBP2a, diğer PBP'lerden farklı olarak betalaktam yapısındaki antibiyotiklere karşı düşük affinite göstermektedir. Bu nedenle, ortamda betalaktam antibiyotik bulunması durumunda, diğer PBP'lerin görevini üstlenerek peptidoglikan sentezinin devam etmesini sağlar⁴⁶

PBP2a'yı kodlayan *mecA* geni, tüm MRSA suşlarında bulunan, stafilokokal kaset kromozomu *mec* (*SCCmec*) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçasıdır. Ağırlıkları 20 kb ile 68 kb arasında değişen, beş tane *SCCmec* (Tip I-V) tipi vardır. Küçük olan subtipler (I,IV ve V) sadece metisilin direnci için gerekli yapısal ve düzenleyici genleri ve rekombinaz genini kodlarken, beta laktam olmayan antibiyotiklere direnci sağlayan taşınabilir elemanları ve genleri kodlamaz^{35,47}.

1990'lı yıllara kadar MRSA, nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkili iken, 1990'ların sonundan itibaren, hastaneye hiç yatmamış, herhangi bir risk faktörü olmayan, tamamen sağlıklı bireylerde görülen, toplum kökenli suşlar tespit edilmeye başlanmıştır^{35,48}. Yapılan çalışmalarda, hastane kökenli MRSA (HK-MRSA) suşları, tipik olarak *SCCmec* subtip I-III'e sahiplerken ve nadiren PVL kodlayan gen taşırlarken, farklı olarak toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) suşlarının Tip IV ve V ile ilişkili olduğu ve sıklıkla PVL taşıdıkları gösterilmiştir⁴⁷. TK-MRSA suşları, HK-MRSA'lara göre, daha az antibiyotik sınıfına dirençli (genelde sadece betalaktamlar ve makrolidler), daha virulan ve yüksek oranda PVL kodlayan gen taşıyan bakterilerdir⁴⁸.

Metisilin direncinin saptanmasında *mecA* geninin moleküler yöntemlerle saptanması altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemlerin laboratuarlarda rutin olarak kullanımı zor ve pahalıdır⁴⁹. Disk difüzyon yöntemi (1µg oksasilin veya 30µg sefoksitin diskleri ile), sıvı mikrodilüsyon yöntemi, agar tarama (6µg/ml oksasilin ve %2 NaCl içeren Müller-Hinton Agar), E-test, PBP2a saptanmasına yönelik lateks aglutinasyon yöntemleri metisilin direnci araştırılmasında, rutinde kullanılacak yöntemlerdir. Polimeraz zincir reaksiyonu

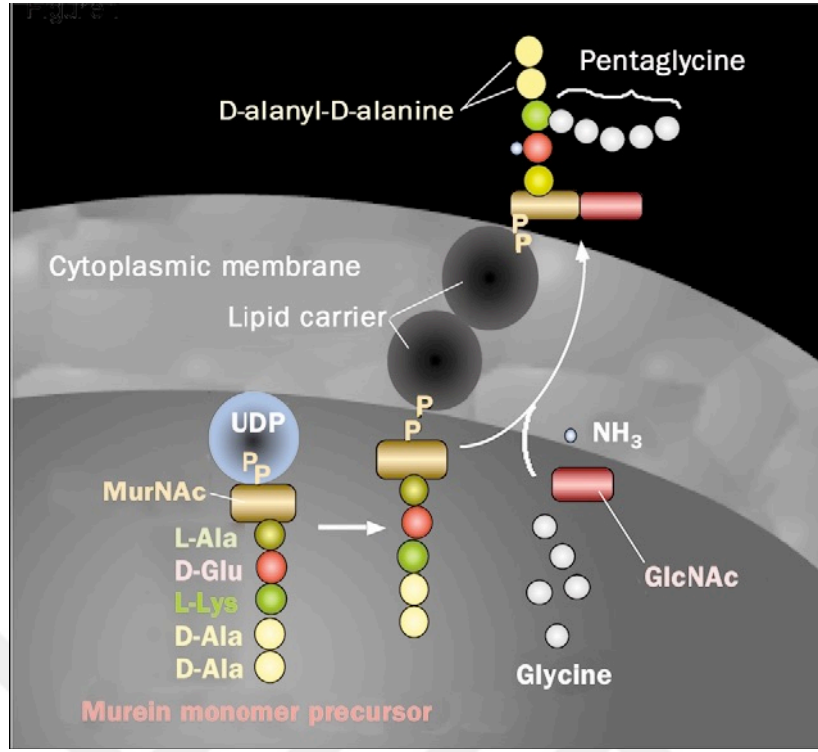
(PZR) temelli yöntemlerle, *mecA* geninin aranması ise araştırma amaçlı çalışmalarda kullanılmaktadır⁴⁹.

Günümüzde, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), stafilokoklarda disk difüzyon yöntemiyle metisilin direncinin araştırılmasında sefoksitin disk yönteminin kullanılmasını önermektedir. Bu öneriye temel teşkil eden Swenson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *S.aureus*'larda sefoksitin disk difüzyon yönteminin, *mecA*'nın aracılık ettiği oksasilin direncini tespit etmede %98 duyarlılığa ve %100 özgülüğe sahip olduğu tespit edilmiştir⁵⁰.

1.6.3. Glikopeptid Direnci

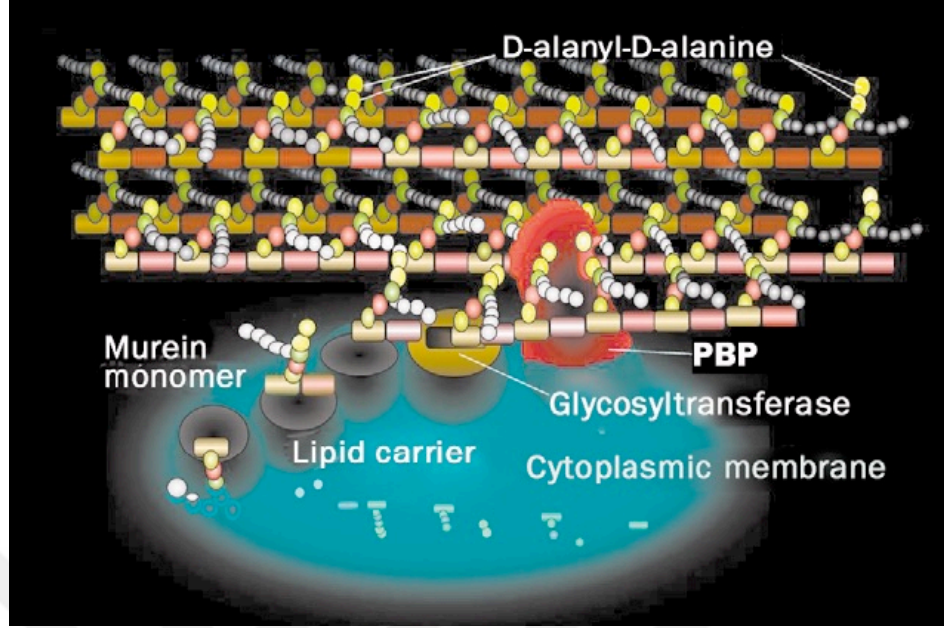
İlk kez 1996 yılında, Hiramatsu ve arkadaşları, 4 aylık bir bebeğin sternal yara kültüründe, vankomisine duyarlılığı azalmış MRSA suşunu izole etmişlerdir. Bu izolatın vankomisin MİK değeri, mikrodilüsyon yöntemiyle 8 µg/ml olarak bulunmuştur ve bakteri 'vankomisin/ glikopeptid intermediate *S. aureus*' (VISA/GISA, Mu50) olarak adlandırılmıştır⁶. Vankomisin için MİK değeri 2 µg/ml olan başka bir izolat da yine aynı yazarlar tarafından 64 yaşında bir hastanın balgamında tespit edilmiştir. Ancak bu izolatın milyonda bir (10^{-6}) hücresi için vankomisin MİK değeri yüksek tespit edilmiştir. Bu direnç paternine, heterojen direnç adı verilmiştir ve bakteri 'heterojen vankomisin/glikopeptid intermediate *S. aureus*' (hVISA/hGISA, Mu3) olarak adlandırılmıştır⁵¹. Bu bildirim takibeden yıllarda, dünyanın değişik ülkelerinden vankomisine karşı azalmış duyarlılıkta *S.aureus* suşları bildirilmiştir^{5,52,53}. CLSI kriterlerine göre vankomisin MİK değerleri, ≤ 2 µg/mL, duyarlı (VSSA); 4–8 µg/mL, orta derecede duyarlı (VISA); ≥ 16 µg/mL ise dirençli (VRSA) olarak belirlenmiştir⁵⁴.

Normal hücre duvarı sentezinde gerekli, peptidoglikan tabakanın monomerik komponenti olan murein monomerleri, 2 amino şeker (N-asetil muramik asit ve N-asetil glukozamin) ve 10 aminoasitten oluşur. N-asetil muramik asit ve ana peptiden (L-alanin, D-glutamik asit, L-lizin ve 2 tane D-alanin) oluşan murein monomer prekürsörleri sitoplazmada sentezlendikten sonra sitoplazma membranındaki lipid bir taşıyıcıya bağlanır. Sitoplazma membranının dışına taşınırken, N-asetil glukozamin ve beş tane glisin eklenir ve izoglutamik asit amidlenerek olgun murein monomeri oluşur⁵¹(Şekil 3).



Şekil 3. Murein monomerlerinin sentezi⁵¹.

Sitoplazma membranında bulunan iki enzim, glukozil transferaz ve transpeptidaz (penisilin bağlayan protein), murein monomerlerini bir araya getirerek büyük bir peptidoglikan yapı oluşturur. Glikoziltransferaz, murein monomerlerini amino şeker uçlarından polimerize ederek başlangıç peptidoglikan zincirlerini oluşturur. Daha sonra, penisilin bağlayan protein (PBP) olarak bilinen transpeptidaz yeni oluşmuş peptidoglikan zincirlerini stafilokok hcrelerinin önceden varolan peptidoglikan tabakalarına bağlar. Bu aşamada PBP murein monomerlerinin D-alanil-D-alanin rezidülerini tanıyarak, iki D-alanin arasından keser ve sondan bir önceki D-alanin'i daha önceden varolan peptidoglikan tabakadan çıkıntı yapmış pentaglisin zincirlerine bağlar. Peptidler arası köprü oluştuğundan sonra, tamamlanmış peptidoglikan tabakada murein monomerlerinin D-alanin terminalleri kaybolur. Buna rağmen, D-alanil-D-alanin rezidülerinin %20'sinin PBP tarafından işlenmeden aynen kaldığı bilinmektedir. Sonuç olarak, tek bir *S. aureus* hücresinin duvarında, 6×10^6 kadar işlenmemiş D-alanil-D-alanin rezidüsü kalır⁵¹(Şekil 4).

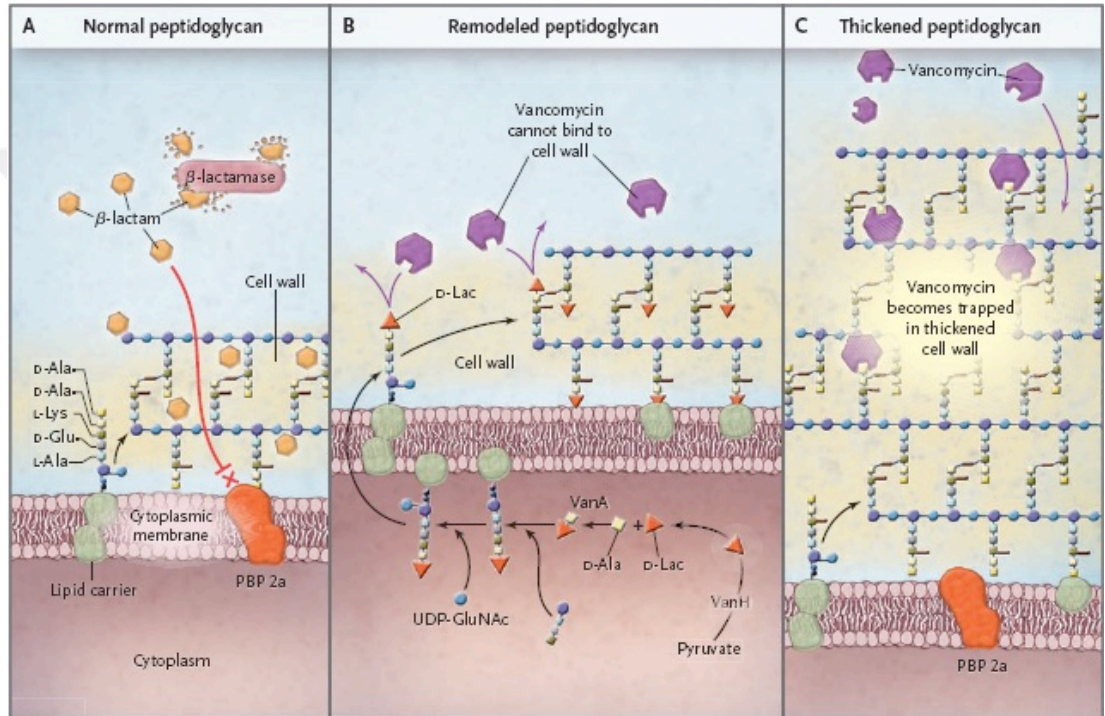


Şekil 4. Peptidoglikan tabakanın sentezi⁵¹.

Glikopeptidler, murein monomerlerinin, D-alanil-D-alanin rezidülerini bağlayarak etki gösterir. *S. aureus* hücresinde iki sınıf bağlanma hedefi vardır. Birincisi, tamamlanmış peptidoglikan tabakalarındaki veya yeni oluşmakta olan peptidoglikan zincirlerindeki D-alanil-D-alanin rezidüleri; ikincisi ise sitoplazmik membranda bulunan, glikoziltransferaz tarafından substrat olarak kullanılacak murein monomerleridir. İlk bağlanma türü, her ne kadar PBP'nin aracılık ettiği çapraz bağlanmaları inhibe etse de erken aşamadaki peptidoglikan sentezini inhibe etmez. Ancak ikinci bağlanma türünde, glikopeptidler, sitoplazmik membrandaki murein monomerlerine bağlanarak, peptidoglikan sentezini ve hücre çoğalmasını tamamen durdururlar. Ancak, glikopeptidler bu tip bağlanmayı gerçekleştirmek için, ilk hedefler tarafından tutulmadan, 20 kadar peptidoglikan tabakasını geçmek zorundadırlar. Peptidoglikan tabakada, birçok D-alanil-D-alanin molekülü hedef olduğu için, çoğu glikopeptid molekülü bu tabaka tarafından yakalanır⁵¹.

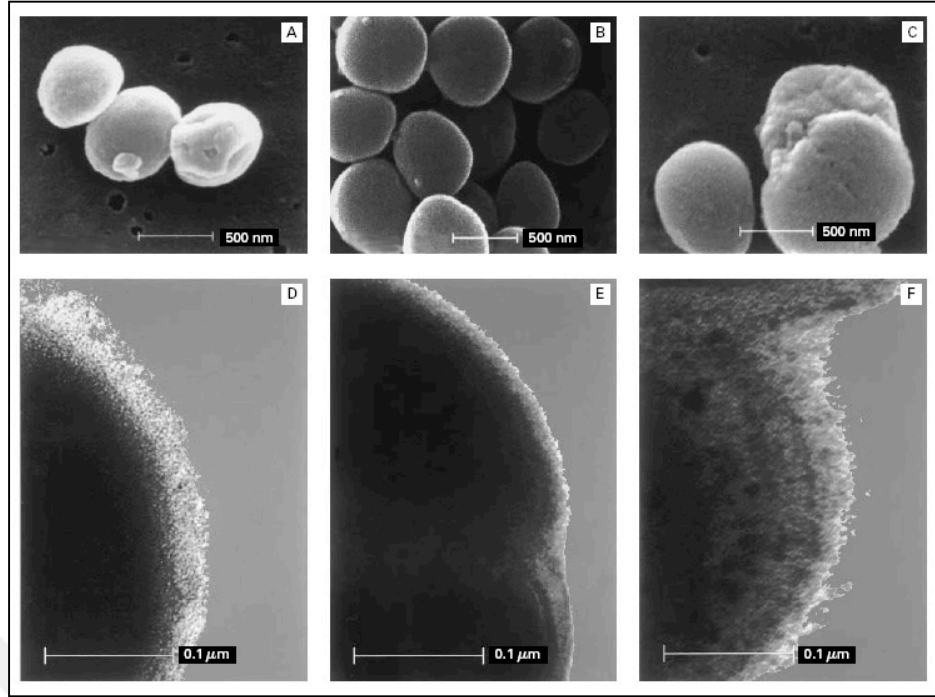
Glikopeptidlere azalmış duyarlılık, hücre duvarındaki peptidoglikanların yapısını etkileyen kromozomal mutasyonlarla ortaya çıkar^{55,56}. Değişik çalışmalarda, bu fenotipin ortaya çıkmasında, en az üç değişik mekanizmanın olduğu gösterilmiştir. Bunlar, peptidoglikan sentezinde hızlanma, glutamin non-amid murein komponenti ile birlikte hücre duvarının kalınlaşması ve çapraz bağlanmaların

azalarak, glikopeptidlerin dış tabakalarda yakalanmasıdır⁵⁷. GISA/VISA suşları artmış sayıda serbest, çapraz bağlanmamış D-ala-D-ala terminalleri içeren kalınlığı artmış bir hücre duvarına sahiptir. Bu artmış sayıdaki serbest D-ala-D-ala terminalleri, glikopeptid molekülleriyle bağlanarak hedeflerine ulaşmalarını engellemektedirler¹³(Şekil 5). Mu50 suşu ile yapılan biyokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmalarda peptidoglikan tabakanın yaklaşık 30-40 kattan oluştuğu gösterilmiştir⁵¹ (Şekil 6).



Şekil 5. A: Normal peptidoglikan tabaka. B: Vankomisine tam dirençli (VRSA) bakterilerdeki peptidoglikan tabakası. C: VISA’larda kalınlaşmış hücre duvarı¹⁰².

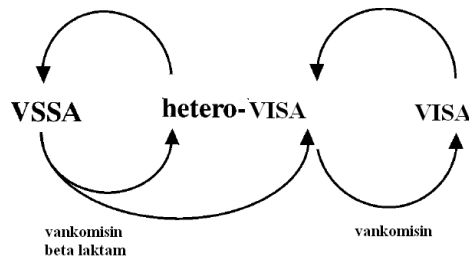
Glikopeptidlere karşı direnç gelişiminde esas mekanizmanın, hücre duvarı kalınlaşması olduğu kabul edilmektedir. Teorik olarak bu kalınlaşmaya neden olabilecek iki farklı yol vardır. Bunlardan birincisi, Mu50 suşunda görüldüğü gibi aşırı miktarda peptidoglikan üretimi; ikincisi ise peptidoglikan ‘turnover’ının azalmasıdır. Yeni peptidoglikan sentezi, daima sitoplazma membranının yüzeyinde gerçekleşir, dışarıya doğru varolan tabakalarla yer değiştirir ve diğer tabakalar hücre yüzeyinden dışarı doğru itilir. Bu tabakaların itilme aşamasında otolitik enzimlerin rolü vardır. ABD’nin Michigan eyaletinden izole edilen bir VISA suşunda belirgin olarak otolitik aktivitenin azaldığı gösterilmiştir⁵¹.



ŞEKİL 6. Elektron mikroskobu ile *S. aureus* izolatlarının, 50.000 kez (üst sıra) ve 348.000 kez (alt sıra) büyütülmüş görüntüleri. **A,D,C,F:** Hücre duvar kalınlığı artmış GISA izolatları. **B,E:** Normal hücre duvar kalınlığına sahip MRSA izolati¹¹⁵.

Hetero-VISA suşlarından bazıları uzun dönem vankomisine maruz kalmaları sonucu VISA suşlarına dönüşmektedir. Vankomisin baskısı kaldırıldığında, VISA suşları yavaş yavaş hVISA durumuna dönüşür. Ancak bu suşlar, $1/10^3$ 'den $1/10^6$ 'ya kadar yüksek sıklıkta tekrar VISA'ya dönüşebilmektedir. Bazı in vitro seçilmiş hVISA suşları kararlı değildir ve antibiyotik içermeyen kültürlerde iki hafta içinde VSSA durumuna dönüşebilir (Şekil 7). Fakat, Mu3 gibi hVISA suşları da oldukça kararlıdır ve bir kez hastanelerde yaygınlaştıklarında, VISA oluşumunda ve vankomisin tedavi başarısızlığına yol açma konusunda büyük risk taşırlar^{51,82}.

VISA/hVISA suşları, laboratuvarlarda uygulanan rutin test yöntemleriyle tespit edilemezler. Ancak vankomisin içeren (4-6mg/L) beyin-kalp infüzyon agar (BKİA) ile tarama, E-test, makro E-test ya da populasyon analiz profili gibi özel yöntemler bu suşların saptanmasında kullanılabilir^{13,58,59,60}.



Şekil 7. MRSA izolatlarında vankomisin direncinin ekspresyonundaki değişim⁵¹.

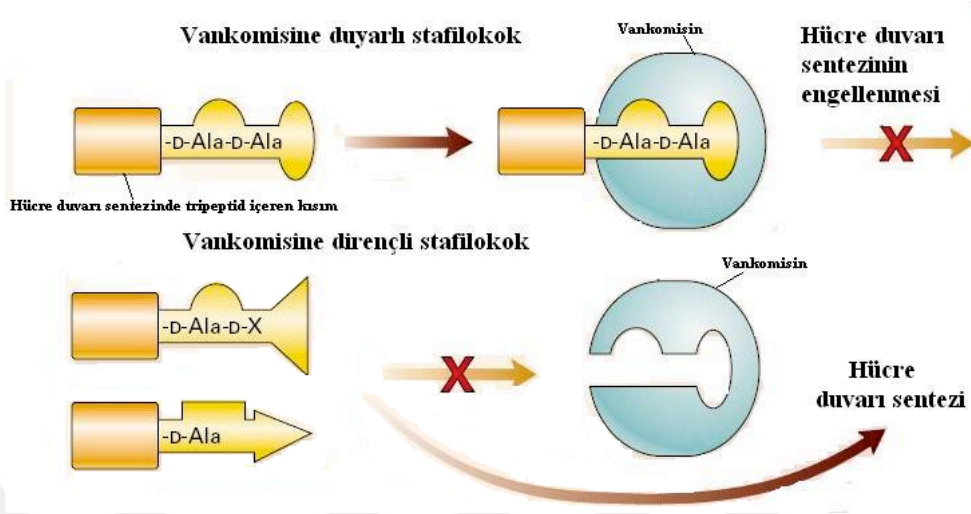
Glikopeptidlere Tam Direnç. Enterokoklarda, vankomisin direncinin ilk kez 1988 yılında gösterilmesinden sonra, bu direncin stafilokoklarda da ortaya çıkması beklenen bir durumdu. Nitekim yapılan deneysel çalışmalarla, vankomisine dirençli enterokok (VRE) izolatlarındaki, Tn1546 transpozonu ile kodlanan *vanA* direnç fenotipinin, stafilokoklara aktarılabilmesi, bu beklentiyi desteklemekteydi⁶¹.

Glikopeptidlere tam dirençli ilk klinik *S. aureus* izolatı ise ilk kez 2002 yılında ABD’de izole edilmiştir⁹. Kırk yaşında, diyabetik, kronik böbrek yetmezliği ve kronik ayak ülseri olan, daha öncesinde glikopeptid tedavisi almış, aynı zamanda VRE ile kolonize bir hastanın kateter ucu ve kateter çıkış yerinden alınan kültürde üretilen bu izolatın, vankomisin MİK değeri >128µg/mL olarak bulunmuştur. Kateter çıkarıldıktan bir hafta sonra ayak ülserinden alınan kültürde, VRE ile birlikte tekrar VRSA üretilmiştir. Bu VRSA izolatının, vankomisin MİK değeri ise 1024µg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu bildirim takibeden yıllarda ABD’nin değişik bölgelerinde, başka VRSA suşları da hastalardan izole edilmiştir⁵⁷. VRSA izole edilen bu hastalarda, diyabet, kronik böbrek yetmezliği, periferik damar hastalığı gibi altta yatan bir veya daha fazla kronik hastalıklarının olması, uzun süreli ve çok sayıda antibiyotik kullanmaları, ileri yaşta ve obez olmaları, direnç gelişiminde bu özelliklerin risk faktörü olabileceğini göstermektedir⁵.

Bugüne kadar VRSA izole edilen hastaların çoğunda, eş zamanlı olarak VRE enfeksiyonu tespit edilmiştir. VRSA’lardaki temel direnç mekanizması, enterokoklardakine benzer şekilde, transpozonlarla aktarılabilen *vanA* determinantlarının kodladığı, glikopeptid moleküllerinin hedefi olan peptidoglikan prekürsörlerindeki, D-ala-D-ala terminallerinin D-ala-D-laktat’a dönüştürülmesidir. D-ala-D-laktat şeklinde modifiye olan hücre duvarı prekürsörlerinin, glikopeptidlere karşı affinitesinin azalması sonucu direnç gelişmektedir⁶²(Şekil 8).

KNS’lerde Glikopeptid Direnci. İlk kez, 1986 yılında ABD ve İngiltere’den rapor edilmiştir. Her iki izolat da, metisilin dirençli *S. haemolyticus* suşudur^{10,11}. KNS’lerin özellikle o yıllarda, *S. aureus*’a göre enfeksiyonlara neden olmadığının düşünülmesi nedeniyle pek önemsenmemiştir. Bu bildirimden iki yıl sonra, enterokoklarda, glikopeptidlere karşı direnç gelişimi gösterilmiştir^{63,64}. Enterokokların, KNS’lere göre, daha sık nozokomiyal enfeksiyonlara neden olması

nedeniyle araştırmalar ve ilgi bu alana kaymış, enterokoklarda glikopeptid direncinin mekanizması daha iyi aydınlatılabilmıřtir⁶⁵.



Şekil 8. VRSA'lerde direnç mekanizması (103 numaralı kaynaktan değiştirilerek alınmıştır).

KNS'lerde glikopeptidlere azalmış duyarlılığın araştırıldığı 20 çalışmanın, 11'inde dirençli izolat tespit edilemezken, biri hariç diğer çalışmalarda ise direnç oranları çok dışuk tespit edilmiřtir⁶⁶. Direncin yüksek oranda bulunduğu çalışmada ise *S. haemolyticus* izolatlarının % 42' si, vankomisine orta derecede duyarlı (MİK≥6µg/ml) bulunmuřtur⁶⁷. KNS türleri arasında glikopeptidlere direncin en çok görüldüğü türler *S. haemolyticus* ve *S. epidermidis*'tir ve bu türlerde teikoplanin duyarlılığında azalma vankomisine göre daha sık görülmektedir. KNS'lerde, glikopeptidlere karşı azalmış duyarlılık ve tam direnç gelişim mekanizmaları, VISA ve VRSA suşlarındaki direnç gelişim mekanizmaları ile benzerlik gstermektedir⁶⁵.

1. GLİKOPEPTİDLER

2.1. Vankomisin

Glikopeptidler, ilk kez 1956 yılında grubun ilk üyesi olan vankomisin ile kullanıma girmiřlerdir⁶⁸. Vankomisini, preparatlarının saf olmayışı yan etkisinin fazla oluşu, metisilinin klinik kullanıma girmesi nedeniyle popülerliğini yitirse de gram pozitif bakterilerdeki artan direnç oranları nedeniyle son 15 yılda tekrar yaygın olarak kullanılmaya bařlanmıřtır⁶⁹.

a. Yapısı ve Etki Mekanizması. Vankomisin, ilk kez *Streptomyces orientalis*' ten izole edilmiş, moleküler ağırlığı yaklaşık 1450 Da olan trisiklik bir polipeptiddir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidlerin, D-ala-D-ala terminallerine bağlanarak transglikozilasyon ve transpeptidasyonu inhibe ederek peptidoglikan oluşumunu engeller. Bu mekanizmaya ek olarak, vankomisin RNA sentezini bozabilir ve sitoplazmik membranların permeabilitesini değiştirerek protoplastları hasara uğratar. Çoğalmakta olan bakteriler üzerinde bakterisidal etki gösterir⁶⁸. Büyük polar bir molekül olduğu için, gram negatif bakterilerin lipid membranından penetre olamaz ve bu mikroorganizmalara karşı etkili değildir⁶⁹.

b. Etki Spektrumu. Vankomisin, metisiline duyarlı ve dirençli stafilokoklara, streptokoklara, enterokoklara, *Corynebacterium jeikeum* dahil olmak üzere difteroid basillere, *Listeria monocytogenes*'e, *Clostridium* türlerine, *Bacillus anthracis*, *Actinomyces*, laktobasiller, anaerob gram-pozitif koklara karşı etkilidir. Ancak vankomisine dirençli *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşları saptanmıştır^{68,69,70}.

c. Farmakokinetik/Farmakodinamik. İntravenöz yol dışında, sadece *C. difficile*'ye bağlı enterokolitlerde oral yoldan kullanılabilir. İntramusküler kullanımı çok ağrılıdır ve emilimi güvenilir değildir⁷⁰. Vankomisinin tamamına yakını glomeruler filtrasyonla atılır. Yarı ömrü böbrek fonksiyonları normal olan kişilerde altı-sekiz saattir. Anürik hastalarda dokuz güne kadar uzayabilir. %10-15 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Menenjitli olmayan hastalarda beyin omurilik sıvısına (BOS) geçmez. Ancak menenjitli hastaların çoğunda BOS'ta bakterisidal düzeylere ulaşır. İntravenöz kullanım sonrası, plevra, perikard, sinovya ve asit sıvılarında yeterli konsantrasyonlara ulaşır. Safra düzeyi düşüktür⁶⁹. Vankomisinin bakterisidal aktivitesi, MİK değerlerinin dört-beş katına ulaştıktan sonra artmaz. Bu nedenle konsantrasyon bağımsız etki gösterdiği bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Etkinliğini en iyi gösteren farmakodinamik parametreler, konsantrasyonun MİK değerleri üzerindeki kaldığı süre (T>MİK) ve AUC/MİK oranıdır⁷¹.

d. Yan Etki. Kullanıma girdiği ilk yıllardaki yüksek toksisite oranlarına, daha sonra preparatın saflaştırılması nedeniyle daha seyrek rastlanmaktadır⁷². En sık görülen yan etki “red man” sendromudur. İnfüzyon kesildikten sonra hızla gerileyen reaksiyon, çoğunlukla ilacın hızlı infüzyonuna bağlıdır⁷¹. Geri dönüşümlü nötropeni, eozinofili veya trombositopeni nadir görülen hematolojik yan etkilerdir⁷². Diğer önemli yan etkisi ise ototoksisitedir. Tinnitus ve yüksek frekanslarda işitme kaybı ilk bulgulardır. İşitme kaybı genellikle ilerleyici ve kalıcıdır⁶⁹. Nefrotoksisite ise yeni vankomisin preparatlarıyla daha az görülmektedir. Yüksek dozda ve aminoglikozidlerle kombine kullanılmadığı sürece genelde geri dönüşümlüdür⁷¹.

e. Klinik Kullanım ve Doz. Vankomisinin başlıca kullanım alanları; stafilokoksik enfeksiyonlar, psödomembranöz enterokolit, streptokok enfeksiyonları ve difteroidlerin neden olduğu enfeksiyonlardır. En önemli kullanım alanı MRSA’ların neden olduğu enfeksiyonlar ve beta laktamlara alerjisi olan hastalarda gelişen stafilokoksik enfeksiyonlardır. *S. aureus*’un neden olduğu sepsis, endokardit, pnömoni, selülit gibi enfeksiyonlarda etkinliği gösterilmiştir. Dirençli pnömokok oranlarının yüksek olduğu bölgelerde, bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda duyarlılık çalışmaları sonuçlanana kadar üçüncü kuşak bir sefalosporinin (seftriakson veya sefotaksim) yanına vankomisin eklenmesi önerilmektedir. Ayrıca *Clostridium difficile*’nin neden olduğu psödomembranöz enterokolitte, oral yoldan kullanılmaktadır. Böbrek fonksiyonu normal olan bireylerde doz, 12 saat arayla 1g veya her 6 saatte bir 500mg şeklindedir^{68,69,71}.

2.2. Teikoplanin

Vankomisinden daha sonra klinik kullanıma girmiş bir glikopeptiddir. Teikoplanin *Actinoplanes teichomyceticus*’un fermentasyondan ürünlerinden elde edilmiştir⁶⁸.

a. Yapısı ve Etki Mekanizması. Kimyasal yapısı genel olarak vankomisinle benzerlik gösterir. Yaklaşık 2000 dalton molekül ağırlığında ve kompleks bir yapıya sahiptir. Yapısındaki yağ asidi nedeniyle, diğer glikopeptidlerden daha lipofiliktir, bu nedenle dokulara ve intrasellüler fagositlere hızlı ve mükemmel penetre olur. Etkisini,

peptidoglikan polimerizasyonunu ve dolayısı ile hücre duvar sentezini engelleyerek gösterir^{68,71}.

b. Etki Spektrumu. Teikoplanin, etki mekanizması ve antibakteriyel spektrumu açısından vankomisinle benzerlik gösterir. Sadece gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Metisilin dirençli suşlar dahil stafilokoklar, pnömokoklar, streptokoklar, *Clostridium* türleri, *Corynebacterium jeikeium*, *Propionibacterium acnes* ve *Listeria monocytogenes* suşlarına bakterisidal etkilidir. Bazı *S.epidermidis* ve *S. heamoliticus* suşları teikoplanine kısmen dirençli olabilir fakat bu suşlar vankomisine duyarlıdır. Teikoplanin, duyarlı suşlar üzerine vankomisinden daha etkilidir⁶⁸.

c. Farmakokinetik/Farmakodinamik. Oral yolla alındığında tıpkı vankomisin gibi emilmez. Fizyolojik pH'da çözünübilirliği nedeni ile kas içine uygulanabilir ve intravenöz uygulamadakine benzer oranda kan düzeyleri sağlanır. Kanda %90 oranında proteine bağlanır. Kemik konsantrasyonları vankomisinden daha iyidir. Kalp, perikard, sinovyal sıvı, akciğer ve plevral sıvıya geçişi yeterlidir. Meningeal inflamasyonda dahi BOS'a geçişi yoktur. Yüksek protein bağlanma oranları, eliminasyon yarı ömrünün çok uzun olmasını sağlar (83-168 saat). Bundan dolayı 24 saat gibi uzun aralıklarla kullanılabilir. Teikoplaninin %80'i idrar ile aktif formda atılmaktadır^{68,71}.

d. Yan Etki. En sık görülen yan etkiler, enjeksiyon yerinde ağrı ve cilt döküntüleridir. Nadiren "red man" sendromu, nötropeni, eozinofili, karaciğer enzimlerinde artış, aminoglikozitlerle birlikte kullanımda nefrotoksisite izlenebilir. Ototoksisite oldukça nadirdir⁷¹.

e. Klinik Kullanım ve Doz. Teikoplanin, vankomisinle benzer etki spektrumuna sahip olmasına rağmen, günde tek doz kullanım kolaylığı ve yan etkilerinin daha az olması bu ilacı avantajlı hale getirmektedir. Kullanım alanları, başta metisilin dirençli *S.aureus* ve *S.epidermidis* olmak üzere dirençli gram pozitif bakterilerin etken olduğu, endokardit, pnömoni, sepsis, yumuşak doku enfeksiyonu, osteomyelit gibi enfeksiyonlardır. Yarılanma ömrü uzun olması nedeniyle günde tek doz

intravenöz ya da kas içine uygulama yapılabilir. Tüm enfeksiyonlarda hastanın renal fonksiyonundan bağımsız olarak, 12 saat arayla 6mg/kg dozda üç kez yükleme dozu uygulanmalıdır. Daha sonra aynı doz 24 saat arayla uygulanarak tedavi devam edilir⁶⁸⁻⁷¹.

2. LİNEZOLİD

Oksazolidinonlar, tamamen organik sentez ile oluşturulan yeni bir antibiyotik grubudur ve linezolid bu grubun ilk üyesidir⁷³. 1970 yılında bitkilerdeki çeşitli bakteriyel ve fungal enfeksiyonları tedavi etmek üzere geliştirilmiş öncül bileşiklerin oksazolidinon çekirdeğinden çeşitli yeni bileşikler geliştirilmiştir. Biyoyararlanım ve serum düzeylerinin daha iyi olması nedeniyle sonraki klinik çalışmalar bu bileşiklerden Linezolid ile devam etmiştir⁷⁴.

a. Yapısı ve Etki Mekanizması. Kimyasal formülü, {U-100766 (S)-N-[[3-(3-fluoro - 4 - morpholinylphenyl) - 2-oxo-5-oxazolidinyl] methyl] acetamide} olan linezolidin etki mekanizması ribozomal protein sentezini inhibe etmesidir. Bu etkisini, ribozomların 50S birimine bağlanarak, 70S başlangıç kompleksinin oluşumunu engelleyerek yapar. Etki mekanizmalarının farklı olması nedeniyle genellikle diğer antibiyotiklerle çapraz direnç göstermezler⁷⁴.

b. Etki Spektrumu. Linezolid, önemli gram pozitif bakterilere karşı etkili iken, gram negatif bakterilere karşı etkisi sınırlıdır⁷³. Penisiline dirençli olanlar dahil olmak üzere *Streptococcus pneumoniae*, MRSA, *E. faecalis*, *E. faecium* (fenotip A,B ve C), *Bacillus spp*, *Corynebacterium spp*, *Listeria monocytogenes*, linezolide duyarlı mikroorganizmalardır⁷⁴.

c. Farmakokinetik/Farmakodinamik. Oral ve intravenöz formu vardır. Oral biyoyararlanımı %100'dür. Oral dozdan 12 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşılmaktadır. Linezolid, düşük (% 31) plazma protein bağlanmasına sahiptir. Bu nedenle, dokulara dağılımı çok iyidir. İnflamatuvar sıvılara geçişi iyidir. İlacın % 30-35'i idrarla atılır, dışkıda bulunmaz. Oksidasyon yolu ile iki

ana metabolite dönüşür. Renal ve hepatik yetmezlikte doz ayarlamasına gerek yoktur⁷⁴.

d. Yan Etki. En sık gözlenen yan etki gastrointestinal rahatsızlıktır (%9,8). Trombositopeni ve anemi gibi geri dönüşümlü kemik iliği supresyonunun, 4-6 haftalık tedavi sürelerinden sonra gelişebildiği rapor edilmiştir⁷³. FDA onayında, linezolid kullanımına başlamadan önce ve kullanım boyunca haftalık tam kan sayımı önerilmiştir⁷⁴.

e. Klinik Kullanım ve Doz. Linezolid, FDA tarafından MRSA'ların neden olduğu komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, nozokomiyal pnömoni, VRE bakteriyemisi ve penisilin dirençli *S. pneumonia*'nın etken olduğu, bakteriyeminin eşlik ettiği toplum kökenli pnömonilerde kullanım onayı almıştır⁷³. Hastalığın ciddiyetine göre, klinik kullanımda 2x600 mg iv veya oral tablet kullanılabilir⁷⁴.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmaya, Kasım 2007 – Mayıs 2009 tarihleri arasında, SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, değişik klinik örneklerden izole edilen 148 metisiline dirençli stafilocok suşu alındı. Bakteriler, stok besiyerlerine alınarak 24 saat 35°C’ de inkübe edildikten sonra -20°C’de çalışma anına kadar saklandı.

1. Bakterilerin Tanımlanması

Çalışma sırasında stoklanmış bakteriler, kanlı agar besiyerine ekilerek 35 C°’de normal atmosfer koşullarında 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda morfolojik olarak stafilocok cinsine ait olduğundan şüphelenilen kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram pozitif, üzüm salkımı görünümdeki kolonilere Katalaz testi uygulandı. Özeyle alınan kolonilere, bir lam üzerinde %3’lük hidrojen peroksit damlatıldığında gaz kabarcıkları oluşturan bakteriler stafilocok cinsi olarak değerlendirildi. Katalaz testi pozitif olan suşlara lamda ve tüpte koagülaz testi uygulandı. Temiz bir lam üzerinde, bakteri süspansiyonu üzerine bir damla plazma damlatıldıktan 10-30 saniye sonra gözle görülen aglütinasyon olması durumunda test pozitif olarak değerlendirildi. Tüpte koagülaz testi için ise, bir deney tüpü içerisine 1 ml fizyolojik tuzlu su ile 1/5 oranında sulandırılmış plazma ile bakteri kolonisi karıştırıldı ve 35°C’de inkübe edildi. Dördüncü ve 24. saatlerde pıhtının oluşması pozitif, pıhtı oluşmaması ise negatif sonuç olarak değerlendirildi. Ayrıca, alt türlerin tiplendirilmesi için çalışmaya alınan bütün suşlar, bakterilerin değişik biyokimyasal özelliklerini değerlendiren API Staph (bioMerieux, SA) ticari kitleri ile test edildi.

2. Duyarlılık Testleri

Bakterilerdeki metisilin direnci, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda, Mueller Hinton Agar (Oxoid, England) besiyerinde, 1µg oksasilin (Bioanalyse, Türkiye) ve 30µg sefoksitin (Bioanalyse, Türkiye) diskleri ile test edildi⁵⁴.

Metisilin direnci tespit edilen bütün stafilocok suşlarında, vankomisin (0.016-256µg/ml), teikoplanin (0.016-256µg/ml) ve linezolid (0.016-256µg/ml) E-test

stripleriyle (AB Biodisk, Sweeden) MİK değerleri çalışıldı. Bu yöntemde, McFarland türbidometrisi (DENSIMAT, bioMerieux sa, France) ile 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanmış bakteri süspansiyonundan, Mueller-Hinton Agar besiyerine yüzey ekimi yapıldı. Plak yüzeyinin kuruması için 10 dakika beklendikten sonra, E-test stripleri yerleştirilerek 35°C’ de inkübasyona bırakıldı. *S. aureus* suşlarında 24. saatte, KNS’lerde 48.saatteki MİK değerleri kaydedildi. CLSI önerileri doğrultusunda vankomisin MİK değerleri, *S. aureus* için $\leq 2\mu\text{g/mL}$ duyarlı, 4-8 $\mu\text{g/mL}$ orta duyarlı, $\geq 8\mu\text{g/mL}$ dirençli; KNS’ler için $\leq 4\mu\text{g/mL}$ duyarlı, 8-16 $\mu\text{g/mL}$ orta duyarlı, $\geq 32\mu\text{g/mL}$ dirençli kabul edildi. Teikoplanin için MİK değerleri, $\leq 8\mu\text{g/mL}$ duyarlı, 16 $\mu\text{g/mL}$ orta duyarlı, $\geq 32\mu\text{g/mL}$ dirençli; linezolid için ise $\leq 4\mu\text{g/mL}$ duyarlı olarak değerlendirildi.

3. Agar tarama

Bu yöntem, “Centers for Disease Control (CDC)” önerileri doğrultusunda 6 $\mu\text{g/mL}$ vankomisin içeren Brain-Heart infüzyon agar (BHI-V6) (Oxoid) besiyerinde yapıldı. Kanlı agar plaklarından alınıp, serum fizyolojik içinde 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonu, standart 10 μl ’lik özeler ile BHI-V6 besiyerine ekilerek, 35°C’de normal atmosfer koşullarında toplam 48 saat inkübe edildi. Tarama besiyerlerinde 24. saatte üreyebilen bakteriler, kuşkulu vankomisine duyarlılığı azalmış stafilokok suşu (VIS), 48. saatte üreyebilen bakteriler ise kuşkulu heterojen vankomisine duyarlılığı azalmış stafilokok suşu (hVIS) olarak değerlendirildi.

4. Makro E-test

Walsh ve arkadaşları tarafından tarif edildiği şekilde, önce kanlı agar besiyerindeki bir gecelik kolonilerden rastgele seçilen bir koloni Mueller-Hinton broth içinde inkübe edildi. Daha sonra, McFarland türbidometrisi (DENSIMAT, bioMerieux sa, France) ile 2 McFarland bulanıklığına ayarlandıktan sonra alınan 200 μl ’lik bakteri süspansiyonları, BHI agar (Oxoid) besiyerlerinin yüzeyine ekildi. Besiyeri yüzeyinin kuruması için 10 dakika beklendikten sonra, vankomisin (0.016-256 $\mu\text{g/ml}$) ve teikoplanin (0.016-256 $\mu\text{g/ml}$) E-test stripleri yerleştirildi ve 35°C’de 48 saat inkübe edildi. Sonuçlar yorumlanırken, vankomisin ve teikoplanin MİK

değerleri ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$ olan ya da sadece teikoplanin MİK değeri ≥ 12 $\mu\text{g/ml}$ olan izolatlar hVIS olarak yorumlandı⁹⁵.

5. Populasyon Analiz Profili

Populasyon analiz profili (PAP), BHI-V6 besiyerinde üreyen ya da makro E-test yöntemiyle hVIS olarak şüphelenilen izolatların, duyarlılık düzeylerini doğrulamak amacıyla yapıldı. Şüpheli izolatların, 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanmış süspansiyonları ve 10 kat seri dilüsyonlarından alınan 50 μL 'lik bakteri süspansiyonları, 1, 2, 4, 5, 6, 8, 10 mg/L'lik konsantrasyonlarda vankomisin içeren BHI agar besiyeri yüzeylerine yayıldı. Bakteriler, 35°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra, plaklarda her konsantrasyondaki üreyen kolonilerin sayıları, y eksenine, antibiyotik konsantrasyonları ise x eksenine yerleştirilerek grafikleri çizildi. Her bir suş için eğri altındaki alan (AUC) Microsoft Excel programıyla hesaplandı ve bulunan değer, Mu3 izolatı için hesaplanan AUC değerine bölünerek, oran hesaplandı. Vankomisin direncinin saptanması için PAP-AUC oranları, glikopeptid intermediate *Staphylococcus spp.*(GIS) ve hetero-GIS (hGIS) için sırasıyla; ≤ 0.90 =Metisilin dirençli *Staphylococcus spp.*(MRS), 0.90-1.3=hGIS ve ≥ 1.3 =GIS olarak kabul edildi^{80,95,96}.

Çalışmada, Mu3 (hVISA), Mu50 (VISA), SADU1 (VRSA kökeni), ATCC 29213 (oksasilin ve vankomisine duyarlı) ve ATCC 43300 (oksasiline dirençli vankomisine duyarlı) suşları kontrol suşu olarak kullanıldılar.

BULGULAR

Hastanemizde Kasım 2007 – Mayıs 2009 tarihleri arasında, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları laboratuvarlarında izole edilen 148 metisiline dirençli stafilokok suşuna, azalmış vankomisin duyarlılığının araştırılması amacıyla, agar tarama testi yapıldı. Aynı zamanda, metisiline dirençli stafilokok suşlarının tedavisinde tercih edilebilecek güncel antibiyotiklerden olan vankomisin, teikoplanin ve linezolidin hastanemizde izole edilen suşlardaki MİK değerlerinin tespit edilmesi amacıyla E-test yöntemi uygulandı.

Toplam 148 stafilokok suşunun 34'ü Anesteziyoloji ve Reanimasyon, 23'ü Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ), 20'si Beyin Cerrahi YBÜ, 14'ü Nöroloji YBÜ, 11'i Dahiliye, 11'i Ortopedi ve Travmatoloji, dokuzu Enfeksiyon Hastalıkları, altısı Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, beşi Genel Cerrahi, beşi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (FTR), dördü Cerrahi YBÜ, dördü Kalp Damar Cerrahisi, ikisi ise Üroloji servislerinden gönderilen örneklerden izole edildi (Tablo 2).

Tablo2. İzole edilen bakterilerin kliniklere göre dağılımı.

<i>Klinik</i>	<i>Örnek Sayısı (n=148)</i>	<i>%</i>
Anestezi ve Reanimasyon	34	23,0
Dahiliye YBÜ	23	15,5
Beyin Cerrahi YBÜ	20	13,5
Nöroloji YBÜ	14	9,5
Dahiliye	11	7,4
Ortopedi ve Travmatoloji	11	7,4
Enfeksiyon Hastalıkları	9	6,1
Plastik Cerrahi	6	4,1
Genel Cerrahi	5	3,4
Fiziksel Tıp ve Rehab.	5	3,4
Cerrahi YBÜ	4	2,7
Kalp Damar Cerrahisi	4	2,7
Üroloji	2	1,4

Bakterilerin 48'i trakeal aspirat, 48'i kan, 39'u yara sürüntüsü, sekizi idrar, ikisi BOS, ikisi plevra sıvısı ve bir tanesi de kateter ucundan izole edildi (Tablo 3).

Tablo 3. Bakterilerin izole edildikleri klinik örnekler.

Örnekler	Örnek Sayısı(n=148)	%
Trakeal Aspirat	48	32,4
Kan	48	32,4
Yara Sürüntüsü	39	26,4
İdrar	8	5,4
BOS	2	1,4
Plevra Sıvısı	2	1,4
Kateter Ucu	1	0,7

Örneklerden izole edilen suşların, API Staph (bioMerieux,SA) ticari kitleri ile test edilmesinden sonra 107'si *S.aureus*, 41'i KNS olarak tiplendirildi. KNS'lerin dağılımı ise şu şekildeydi: 23'ü *S.epidermidis*, altısı *S.haemolyticus*, beşi *S.chromogenes*, üçü *S.hominis*, biri *S.sciuri*, biri *S.capitis*, biri *S.cohnii spp. urealyticum*, biri de *S.saprophyticus* olarak isimlendirildi (Tablo 4).

Tablo 4. Stafilokok suşlarının türlere göre dağılımı.

Tür	Sayı(n=148)	%
<i>S.aureus</i>	107	72,3
<i>S.epidermidis</i>	23	15,5
<i>S.haemolyticus</i>	6	4,1
<i>S.chromogenes</i>	5	3,4
<i>S.hominis</i>	3	2,0
<i>S.sciuri</i>	1	0,7
<i>S.capitis</i>	1	0,7
<i>S.cohnii spp.urealyticum</i>	1	0,7
<i>S.saprophyticus</i>	1	0,7

Standart E-test metoduyla *S.aureus* ve KNS'ler için vankomisin, teikoplanin ve linezolid MİK değerleri tablo 5, 6, 7'de verilmiştir. Standart E-test yöntemiyle KNS'lerde ve *S.aureus*'larda vankomisine ve linezolide dirençli suş tespit edilmezken, ikisi *S.aureus* bir tanesi *S.epidermidis* olmak üzere üç tane bakteri teikoplanine orta derecede duyarlıydı.

Çalışmaya alınan *S.aureus* izolatlarının vankomisin, teikoplanin ve linezolid için MİK50 değerleri sırasıyla, 1, 2 ve 0,5 µg/ml; MİK90 değerleri ise, 1,5, 4 ve 0,75µg/ml olarak tespit edildi. KNS suşlarında ise vankomisin, teikoplanin ve linezolid için MİK50 değerleri sırasıyla, 1, 2 ve 0,38 µg/ml; MİK90 değerleri ise, 1,5, 4 ve 0,5µg/ml bulundu.

Tablo 5. Standart E-test metoduyla izolatların vankomisin MİK değerlerinin dağılımı.

BAKTERİ TÜRÜ	MİK (µg/ml)								Toplam
	0,25	0,38	0,50	0,75	1	1,5	2	3	
<i>S. aureus</i>	1	4	17	20	38	24	3	-	107
KNS	-	-	7	8	16	6	2	2	41
Toplam	1	4	24	28	54	30	5	2	148

Tablo 6. Standart E-test metoduyla izolatların teikoplanin MİK değerlerinin dağılımı.

BAKTERİ TÜRÜ	MİK (µg/ml)											Toplam
	0,13	0,19	0,25	0,38	0,75	1	1,5	2	3	4	6	
<i>S. aureus</i>	-	1	1	1	5	3	9	35	37	13	2	107
KNS	1	1	-	-	5	2	6	10	11	4	1	41
Toplam	1	2	1	1	10	5	15	45	48	17	3	148

Tablo 7. Standart E-test metoduyla izolatların linezolid MİK değerlerinin dağılımı.

BAKTERİ TÜRÜ	MİK (µg/ml)							Toplam
	0,05	0,075	0,125	0,25	0,38	0,5	0,75	
<i>S. aureus</i>	2	1	-	1	26	34	43	107
KNS	-	-	1	9	14	13	4	41
Toplam	2	1	1	10	40	47	47	148

Agar tarama yöntemiyle BHI-V6 besiyerlerine ekilen 148 stafilokok suşundan ilk 24 saatte sadece beş tanesinde üreme gözlemlendi. Bu izolatlardan üçü *S.haemolyticus*, biri *S.epidermidis*, bir tanesi de *S.hominis*'di. Bakterilerin inkübasyonu 48 saate uzatıldığında ise beş adet suşun daha ürediği tespit edildi. Bu izolatların ise üç tanesi *S.aureus*, bir tanesi *S.epidermidis*, bir tanesi ise *S. hominis* idi (Tablo 8).

Agar tarama yöntemiyle üreme tespit edilen 10 stafilokok izolatına ileri inceleme olarak, vankomisin (0.016-256 µg/ml) ve teikoplanin (0.016-256 µg/ml) stripleriyle Makro E-test yöntemi uygulandı. Bu yöntemle 1, 3,4 ve 7 numaralı izolatlar vankomisine duyarlı bulunurken, diğer izolatların vankomisin duyarlılığında azalma tespit edilmiştir (Tablo 8).

BHI-V6 agar tarama plağında üreme tespit edilen 10 izolata aynı zamanda PAP'da yapıldı. Değişik konsantrasyonlarda vankomisin içeren plaklardaki koloni sayıları x,y grafiğine çizildi ve eğri altında kalan alanları hesaplandı (Şekil 9-11). Her bir suş için bulunan değer, referans suş olan Mu3 izolatının eğri altında kalan alanına oranlandı (Tablo 9). Bu oranlara göre, üç *S. aureus* izolatından bir tanesi (No.3) VSSA, bir tanesi (No.10) hVISA, bir tanesi de (No.9) VISA izolatı olarak tespit edildi. KNS'lerden ise iki tanesi (No.2 ve No.4) vankomisine duyarlıydı, bir tanesinde (No.5) heterojen direnç (hVIS/hGIS), dört tanesinde (No. 1, 6, 7, 8) ise vankomisine intermediate direnç (VIS/GIS) gözlemlendi.

İzolatlardan 1 ve 7 numaralı suşlar makro E-test ile vankomisine duyarlı bulunurken, PAP-AUC oranı ile VIS olarak; 2 numaralı suş ise makro E-test yöntemiyle hVISA, PAP-AUC oranıyla ise VSSA olarak tespit edildi.

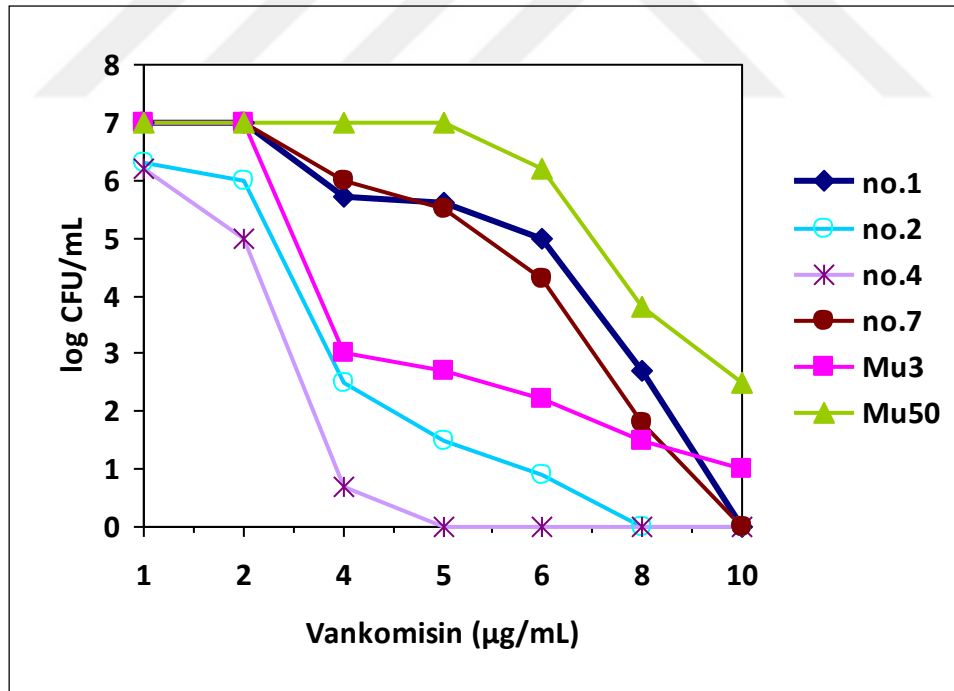
Bu çalışmada, 148 stafilokok suşundan toplam 5 tane VIS/GIS, 2 tane de hVIS/hGIS izole edildi, prevelansları ise sırasıyla %3,37 ve %1,35 olarak bulundu. Sadece *S. aureus*'lar değerlendirildiğinde, 107 izolat içinde, bir tane VISA, bir tane de hVISA bulundu ve prevelansları, % 0,93 olarak hesaplandı.

Tablo 8. BHI-V6'da üreyen bakterilerin, üreme zamanları ve standart E-test, Makro E-test yöntemleriyle bulunan MİK değerleri.

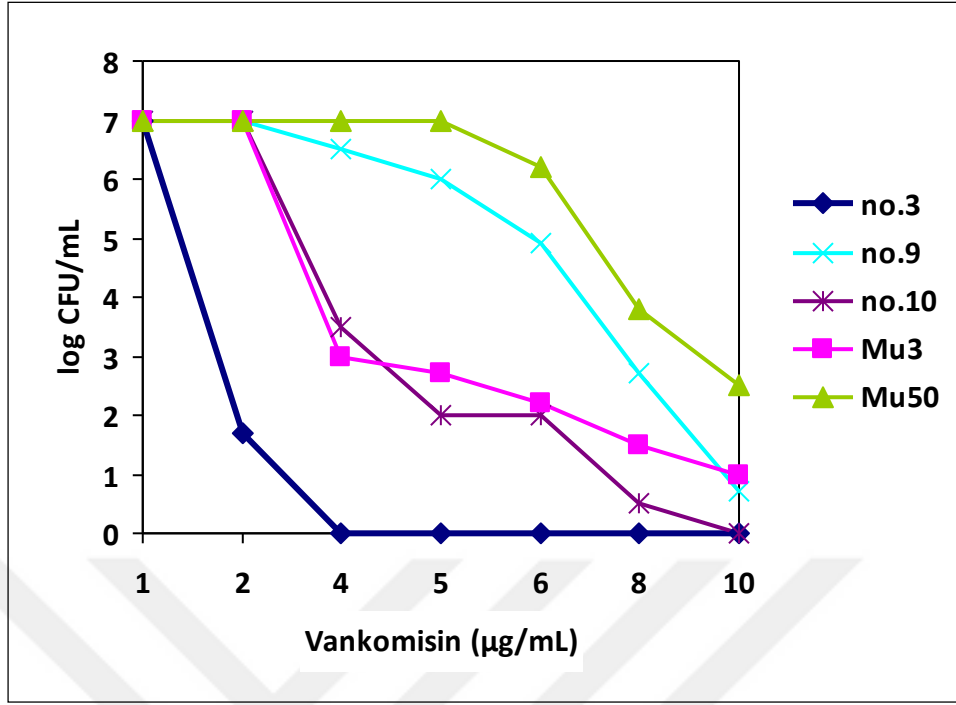
NO	BAKTERİ TÜRÜ	Agar tarama		Vankomisin / Teikoplanin Standart E-test MİK (µg/ml)		Makro E-test MİK (µg/ml)	
		24 s.	48 s.	24 s.	48 s.	Vankomisin 48 saat	Teikoplanin 48 saat
		1	<i>S.epidermidis</i>	(-)	(+)	3/3	4/4
2	<i>S.hominis</i>	(+)	(+)	2/2	3/3	3	24
3	<i>S.aureus</i>	(-)	(+)	1/3	1/3	2	8
4	<i>S.epidermidis</i>	(+)	(+)	1.5/6	2/4	2	6
5	<i>S.haemolyticus</i>	(+)	(+)	0,75/3	1/ 4	1,5	24
6	<i>S.haemolyticus</i>	(+)	(+)	3/3	3/ 4	6	32
7	<i>S.hominis</i>	(-)	(+)	1,5/1,5	2/2	3	6
8	<i>S.haemolyticus</i>	(+)	(+)	2/3	2/4	3	96
9	<i>S. aureus</i>	(-)	(+)	2/4	2/4	4	16
10	<i>S. aureus</i>	(-)	(+)	2/4	2/4	3	16

Tablo 9. İzolatların PAP-AUC değerleri ve Mu3'e oranları.

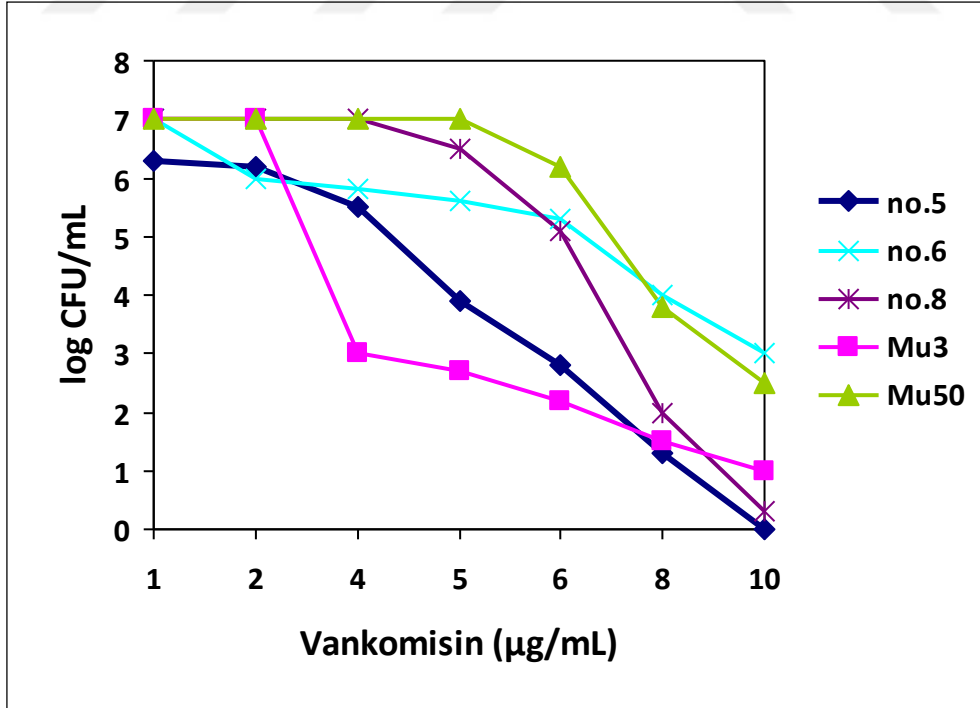
Bakteri no	PAP-AUC	PAP-AUC Oranı	Bakteri no	PAP-AUC	PAP-AUC Oranı
1	41,5	1,45	7	38,55	1,35
2	18,75	0,65	8	42,95	1,5
3	6,05	0,21	9	43,2	1,51
4	11,65	0,4	10	25,95	0,91
5	31,4	1,10	Mu3	28,5	1
6	45,75	1,60	Mu50	49,4	1,73



Şekil 9. *S.epidermidis* ve *S.hominis* izolatlarının PAP-AUC grafiği.



Şekil 10. *S.aureus* izolatlarının PAP-AUC grafiği.



Şekil 11. *S. haemolyticus* izolatlarının PAP-AUC grafiği.

VIS ve hVIS tespit edilen hastaların klinik verileri gözden geçirildiğinde, bir hasta hariç hepsinde daha önce glikopeptid antibiyotik kullanımı olduğu gözlemlendi. Enfekte diz protezi olan hasta dışında, diğer hastalar YBÜ’de takip edilmiş hastalardı. VIS veya hVIS üretilen hastaların klinik özellikleri Tablo 10’da özetlenmiştir.

Tablo 10. VIS veya hVIS üretilen hastaların klinik özellikleri.

No	Bakteri Türü	Yaş	Kaynak	Tam ve altta yatan hastalıklar	Yatış süresi (gün)	GP maruziyeti (gün)	Rx	Sonuç
1	<i>S.epidermidis</i>	70	BOS	Hidrocefali nedeniyle iki kez VP Şant operasyonu.	20	14	VA	Exitus
5	<i>S.haemolyticus</i>	33	Yara	Trafik kazası sonrası laparotomi.	99	17	TE, VA	Sağ
6	<i>S.haemolyticus</i>	53	Yara	Fournier gangreni nedeniyle debridman, açılan kolostominin ikinci ameliyatla kapatılması, ÜSİ, DM.	61	21	TE	Sağ
7	<i>S.hominis</i>	59	Kan	Solunum Yetmezliği, mekanik ventilasyon.	9	-	-	Exitus
8	<i>S.haemolyticus</i>	58	Kan	Solunum Yetmezliği, mekanik ventilasyon.	78	30	TE	Exitus
9	<i>S. aureus</i>	71	Yara	SVO, HT, Nefrektomi, Beyin anevrizması nedeniyle stent yerleştirme operasyonu.	15	4*	TE	Exitus
10	<i>S. aureus</i>	78	Yara	Diz protezi enfeksiyonu, üç kez diz artroplastisi, HT.	86	49	FA, TS	Sağ

GP: Glikopeptid, VA: Vankomisin, TE: Teikoplanin, FA: Fusidik asit, TS: Trimetoprim/sulfametoksazol, Rx: Tedavi.

SVO: Serebrovasküler olay, DM: Diabetes Mellitus, HT: Hipertansiyon, ÜSİ: Üriner sistem enfeksiyonu.

* Hastanın anevrizma stenti başka bir hastanede yerleştirildiğinden, o hastanede yatış süresi ve GP kullanıp, kullanmadığı verilerine ulaşamadı.

TARTIŞMA

MRSA, dünya genelinde yaygın olarak bulunan, önemli bir nozokomiyal enfeksiyon etkenidir. Neden olduğu enfeksiyonlar, diğer stafilokok enfeksiyonlarına göre yüksek morbidite ve mortaliteyle ilişkilidir³⁵. Avrupa’da stafilokok izolatlarının yaklaşık %20’si metisilin dirençli iken, Amerika’da ise prevelansın %50’leri geçtiği bildirilmiştir⁷⁵. Ayrıca günümüzde hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları dışında toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının sıklığında da önemli bir artış görülmektedir⁵. Son veriler, MRSA izolatları arasında, zamanla antibiyotik direnç paternlerinde önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir⁷⁵. Araştırmacılar, hastanelerde kullanılan antibiyotiklerin seçici baskısına ve yanlış kullanımına bağlı olarak MRSA sorununun ortaya çıktığına inanmaktadırlar. Antibiyotik kullanımındaki sorunlar, yetersiz enfeksiyon kontrol önlemleri, yatan hastaların hastalıklarının ciddiyeti, MRSA prevelansındaki artışa katkıda bulunmaktadır⁷⁶. MRSA, pnömoniden, bakteriyemiye kadar neredeyse her türlü nozokomiyal enfeksiyona neden olabilecek birkaç bakteriden biridir. Özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda, biyofilm oluşumu, MRSA’ların üremesi için korunmuş bir ortam yaratmaktadır⁷⁷. Bu yüzden, biyofilmle kaplı endotrakeal tüpler ve trakeostomi tüpleri, akciğerler için önemli bir MRSA rezervuarı olmaktadır. Yine kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarında, kateterleri hızlıca biyofilmle kaplaması nedeniyle, MRSA önde gelen patojenlerden biridir⁷⁶.

Bir çok çalışmanın sonucuna göre, herhangi bir nedenle yatarak antibiyotik tedavisi alan hastalarda, daha sonra MRSA ile enfeksiyon gelişmesi arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Özellikle kinolon kullanımı, seçici baskıyla, MRSA oranlarında artışa neden olabilmektedir⁷⁶.

Vankomisin, 1950’li yıllarda stafilokoksik enfeksiyonların tedavisinde klinik kullanıma girmiştir. Ancak üretilen ilk preparatların nefrotoksik ve ototoksik yan etkilerinin fazla olması nedeniyle metisilin ve sefalotin gibi yeni üretilen antistafilokoksik ajanların gölgesinde kalmıştır⁶⁵. Ancak 1970’li yılların sonunda, sık olarak çoğul dirençli, ancak vankomisin duyarlı gram pozitif mikroorganizmalarla (metisilin dirençli stafilokoklar, enterokoklar vb.) hastane kökenli enfeksiyonların oranlarında artış olması; yeni formülasyonlarıyla yan etki insidansının azaltılmış

olması, vankomisini yeniden gündeme getirmiştir. Benzer nedenlerden dolayı, ilaç endüstrisi yeni glikopeptidlerin arayışına girmiş ve 1980'li yıllarda teikoplanin kullanıma girmiştir.⁶⁵

Glikopeptid antibiyotiklere karşı, edinilmiş direnç ilk kez 1986 yılında KNS'lerde bildirilmiştir^{10,11}. Bundan iki yıl sonra enterokoklarda vankomisin direnci tespit edilmiştir. Klinik pratikte, KNS'lerde glikopeptid direncinin görece daha nadir olması; enterokoklarda direncin biyokimyasal ve genetik mekanizmalarının hızlıca ve ayrıntılı olarak aydınlatılması; enterokokların önemli nozokomiyal patojenlerden biri olması; ilginin vankomisin dirençli enterokoklara kaymasına neden olmuştur^{63,64}. Ancak ilk kez 1996 yılında, Hiramatsu ve arkadaşlarının pulmoner atrezi nedeniyle opere edilen 4 aylık bir bebeğin sternal yara kültüründe, vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* suşunu (VISA, Mu50) izole etmeleri ve bunu takip eden yıllarda dünyanın değişik yerlerinden benzer izolatların rapor edilmesi, stafilokoklarda glikopeptid direnci konusuna, ilgilerin yeniden odaklanmasını sağlamıştır^{6,52,53}.

Günümüze kadar, glikopeptid direnci olan izolatların hepsinde, aynı zamanda metisilin direncinin de olduğu gösterilmiştir⁷⁶. Bildirilen VISA olgularının ortak noktası, direnç gelişiminden altı ay önceki dönemde, uzun süreli ve bir çok kez olmak üzere vankomisin ya da teikoplanin tedavisi almalarıdır⁴⁹. Farklı duyarlılık paternleri olan bu izolatların, vankomisine uzun süre maruziyet sonrası ortaya çıktığı ileri sürülmüştür⁷⁸. "Amerikan İnfeksiyon Hastalıkları Derneğinin (IDSA)" 2009 yılında yayınlanan "Vankomisin Tedavi Kılavuzunda", vankomisinin serum konsantrasyonunun 10 mg/L'nin altında olmasının, suşların VISA benzeri karakteristik kazanmalarına neden olabileceği ve direnç gelişiminden kaçınmak için serum konsantrasyonunun 10 mg/L'nin üstünde tutulması gerektiği belirtilmektedir⁷⁹. VISA izolatlarındaki temel direnç mekanizmasının hücre duvarı kalınlaşması olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, bu suşların genetik orijinleri halen bilinmemektedir⁷⁶.

VISA bildirimlerinden kısa bir süre sonra yine Hiramatsu ve arkadaşları, heterojen VISA (hVISA, Mu3) olarak adlandırılan yeni bir direnç tipi tanımlamışlardır. Vankomisine karşı parsiyel dirence sahip bu ilk hVISA suşu, 64 yaşında, akciğer kanseri nedeniyle ameliyat edilen, pnömoni tanısıyla vankomisin tedavisi alan ve bu tedaviye yanıt alınamayan, bir hastanın balgamından izole edilmiştir. Vankomisin MİK değeri 2µg/ml olarak saptanan bu izolat, rutin duyarlılık

yöntemlerine göre, vankomisine duyarlı olmasına rağmen, tedavi başarısızlığı yaşanmasına neden olmuştur. Ancak yapılan incelemeler sonucunda bu bakteri popülasyonu içinde 10^{-6} 'da bir hücrenin vankomisine karşı duyarlılığının azaldığı tespit edilmiştir⁸⁰. Heterojen VISA olarak isimlendirilen bu suşların, gerçek insidansları rutin laboratuvar uygulamaları ile tespit edilemedikleri için bilinmemektedir. ABD'de prevalans hızının, %0–5 arasında olduğu tahmin edilmektedir⁷⁶.

Noble ve arkadaşlarının, 1992 yılında deneysel olarak VRE'lerden, konjugal transferle *vanA* genini MRSA'lara aktararak, VRSA oluşturmaları, bu olayın in vivo olarak VRE ve MRSA'yı aynı anda taşıyan hastalarda gerçekleşebileceği konusunda ciddi endişe yaratmaktaydı⁶¹. Bu endişeler vankomisine tam dirençli ilk klinik izolata, 2002 yılında ABD'nin Michigan eyaletinden bildirilmesiyle gerçeğe dönüşmüştür. Kronik böbrek yetmezliği nedeniyle diyalize giren, diyabet ve periferik damar hastalığı olan, 40 yaşındaki hastanın, kateter çıkış yerinden alınan kültürde üretilen izolata, oksasilin MİK değeri $>16 \mu\text{g/mL}$, vankomisin MİK değeri ise $>128 \mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Bu bildirim takiben, CDC tarafından konfirme edilmiş, başka VRSA izolatları da rapor edilmiştir^{9,81}.

VRSA suşlarında, vankomisin direnç mekanizması, *vanA* geni varlığında vankomisinin hedefi olan D-alanin-D-alanin molekülünün, D-alanin-D-laktat'a dönüşmesidir. VISA suşlarındaki direnç mekanizması ise *vanA* geni olmaksızın, genetik mutasyonların ve belirli genlerin farklı şekilde ifade edilmesi sonucu hücre fizyolojisindeki değişiklik ve vankomisin molekülünün hedefine ulaşmasını engelleyecek şekilde hücre duvarının kalınlaşmasıdır⁵¹. Cui ve arkadaşları tarafından yedi değişik ülkeden 16 VISA (BSC kriterlerine göre VRSA) izolatıyla yapılan bir çalışmada, bu izolatların 10 ile 84 gün arasında antibiyotiksiz ortamda pasajlanmaları sonrası vankomisin MİK değerlerinin düştüğü gözlenmiştir (MİK $< 4\text{mg/L}$). Ancak, 16 suştan biri hariç hepsinde popülasyon analizi ile vankomisine dirençli subpopülasyonların hala bulunduğu gösterilmiştir. Bu bulgular vankomisinin seçici baskısı kaldırıldıktan sonra bile, pasajlanmış suşlarda vankomisin dirençli hücrelerin sıklıkla oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca, bütün izolatlarda kalınlaşmış hücre duvarının olduğu ve antibiyotiksiz seri pasajlar sonrası duvar kalınlığının azaldığı ve dirençli mutant suşlarda hücre duvarının tekrar kalınlaştığı gözlenmiştir. Bu

çalışmada, hücre duvar kalınlığı ile vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri arasında anlamlı derecede korelasyon olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, hücre duvarı kalınlaşmasının, klinik VISA suşlarında yaygın bir fenotipik özellik olduğu ve *S. aureus* suşlarında fenotipik bir belirleyici faktör olabileceği belirtilmektedir⁸². Ayrıca Hanaki ve arkadaşları, hVISA izolatlarında, VSSA suşlarına oranla 3 ila 5 kat daha fazla PBP2 ve PBP2a yapımı olduğunu göstermişlerdir⁸³.

Cui ve arkadaşlarının aynı çalışmasında VISA izolatlarının belirgin olarak yarılanma ömrünün uzadığı belirlenmiştir. VSSA ile karşılaştırıldığında, Mu50 suşunun, hücre duvarı peptidoglikanında 2,3 kat daha fazla glukoz içerdiği belirtilmektedir. Bu uzamış yarılanma ömrü, neden VISA suşlarının hastane kökenli enfeksiyonlarda, yaygınlaşmadığını ve uzun dönem vankomisin tedavisi alan MRSA'lı hastalarda, çoğunlukla tespit edilme olasılığının sınırlı olduğunu açıklamaktadır. Olasılıkla VISA izolatları, vankomisin tedavisi esnasında oluşmaktadır ve vankomisin tedavisi almayan diğer bir hastada kolonize olması (kolonize olabilecek diğer mikroorganizmalara göre daha düşük seviyede üreme hızına sahip olması nedeniyle) kolay görünmemektedir. Ayrıca VISA suşlarının antibiyotiksiz besiyerlerinde in vitro pasajlanmaları sonucu vankomisin direnç fenotipini kayb ettikleri gözlenmiştir. Yavaş üremeleri nedeniyle, VISA suşlarının, antibiyotiksiz pasajlar sonrasında daha yüksek üreme hızına sahip, kendiliğinden ortaya çıkan vankomisin duyarlı izolatlarla yer değiştirdiği düşünülmektedir⁸².

Hetero-VISA suşları ilk kez Japonya'dan rapor edildikten sonra birçok ülkeden değişik araştırmacı, bu bakterilerin kendi ülkelerindeki prevalansını saptamak için epidemiyolojik çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmaların çoğu retrospektiftir ve daha çok hastanelerdeki kültür koleksiyonları kullanılarak yapılmıştır. Çalışmalar da kullanılan tekniklerin farklılığı, hVISA suşlarının prevalanslarının karşılaştırılmasında zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır⁸⁴. Hiramatsu ve arkadaşları sekizi üniversite hastanesi olmak üzere, 203 hastaneden, 1149 MRSA izolatında yaptıkları çalışmada, üniversite hastanelerinde hVISA prevalansını %9,3 üniversite dışı hastanelerdeki prevalansı ise %1,3 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada, Mu50 suşuna ek olarak başka VISA suşu saptanmamıştır⁸⁰. Song ve arkadaşları tarafından, 12 Asya ülkesindeki merkezlerden toplanan 1357 MRSA izolatıyla yapılan çalışmada ise 347 izolat (%25,6), 4µg/ml vankomisin içeren BHI agar

plaklarında ürerken, bunlardan 58'i (%4,3) hVISA olarak saptanmıştır. Bu suşlar, Hindistan, Güney Kore, Japonya, Filipinler, Singapur, Tayland ve Vietnam'dan izole edilmişlerdir⁸⁵. Fransa'da yapılan bir çalışmada 30 izolattan hiç birinde VISA suşu tespit edilemezken, yine aynı ülkeden yapılan başka bir çalışmada ise, 1983- 2002 arası biriktirilen 1445 MRSA izolatından sadece bir tane VISA tespit edilmiştir^{86,87}. Avrupa genelinde, 20 üniversite hastanesinden, 302 MRSA izolatında yapılan prevelans araştırmasında ise hVISA ya da VISA suşu saptanmamıştır⁸⁸. Bierbaum ve arkadaşları, Almanya'daki ulusal stafilyokok referans laboratuvarındaki kültür koleksiyonunda, 457 izolatla yaptıkları çalışmada sadece iki tane (%0,54) hVISA tespit etmişlerdir. İtalya'dan bir çalışmada, 179 MRSA suşundan iki tanesi (%1,1); Tayland'da ise 155 MRSA izolatından sadece üç tanesi hVISA olarak bulunmuştur^{89,90}.

Çin'de 2005-2007 yılları arasında, 200'ü kandan olmak üzere, değişik klinik örneklerden izole edilen toplam 1012 MRSA izolatında yapılan çalışmada, kan izolatlarından, bir tane VISA ve 26 tane (%13,1) hVISA izole edilmiştir⁹¹. Amerika'da 1996-2006 yılları arasında toplanmış, bakteriyemi yapan 489 MRSA izolatıyla, vankomisin MİK değerleri ve heterojen direncin sıklığının araştırıldığı çalışmada ise 71 adet hVISA tespit edilmiştir. Yıllara göre veriler değerlendirildiğinde MİK dağılımında ve heterojen dirençli suş sıklığının sabit kaldığı tespit edilmiştir⁹².

Türkiye'de de değişik hastanelerde, hVISA/VISA prevelansının araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Bu konudaki ilk çalışma 2004 yılında Sancak ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Ocak 1998 ve Ocak 2002 yılları arasında klinik örneklerden izole edilmiş, 256 MRSA çalışmaya alınmıştır. Makro E-test ve 4mg/L vankomisin içeren BHI agar (BHI-V4) tarama yöntemleriyle 46 (%17,97) hVISA izolatı tespit edilmiş ve bu suşlar populasyon analizi ile doğrulanmıştır⁵³. İstanbul'dan Nakipoğlu ve arkadaşları, 81'i *S. aureus* ve 54'ü KNS toplam 135 stafilyokok suşunda yaptıkları çalışmada, *S. aureus* suşlarından sadece bir tanesinde teikoplanine azalmış duyarlılık tespit etmişken, KNS'lerin altı tanesinde hem vankomisin hem teikoplanine, bir tanesinde de sadece vankomisine heterojen direnç tespit etmişlerdir. Bu çalışmada hVISA suşu izole edilmemiştir⁹³. Hoşgör ve arkadaşları ise, 92'si MRSA, 28'i MRKNS toplam 120 izolatla, BHI-V6 besiyeri ile

agar tarama, standart ve makro E-test ile yaptıkları araştırmada hVISA veya VISA izolatu saptamamıřlardır⁹⁴. Bizim alışmamızda ise, 5 tane VIS/GIS, 2 tane de hVIS/hGIS izole edilmiş, prevelansları ise sırasıyla %3,37 ve %1,35 olarak bulunmuştur. Sadece *S. aureus*'lar değerlendirildiğinde 107 izolat içinde, bir tane VISA (%0,93) ve bir tane de hVISA (%0,93) tespit edilmiştir.

Yayınlanan çalışmalardaki prevelans oranlarının büyük farklılıklar göstermesi, hVIS/GIS tespit edilmesinde kullanılan laboratuvar yöntemlerinin özgüllük ve duyarlılıklarının birbirinden farklı olmasına bağlanabilir. Standart laboratuvar metotlarıyla MİK değerleri araştırılarak VIS/GIS suşlarının tespit edilmesi mümkünken, bu yöntemlerle hVIS/hGIS izolatlarının tespiti oldukça zordur⁸⁰. Populasyon analizi metodu hVIS tespitinde günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak, oldukça zaman alıcı ve rutin laboratuvarlarda uygulanmayacak derecede iş yoğunluğu gerektirmesi nedeniyle pratik değildir. Hiramatsu ve arkadaşlarının tariflediği, 4μg/ml vankomisin içeren plakların kullanıldığı basitleştirilmiş populasyon analizi, bugüne kadar çoğu çalışmada kullanılmıştır. Ancak yöntemi tarif eden çalışmacılar, bu yöntemin teorik olarak kısıtlamalarının olduğunu da belirtmektedirler. Bu kısıtlama, düşük heterojeniteye sahip (bakteri populasyonu içinde çok az sayıda VISA hcreti içeren) hVISA suşlarının bu yöntemle yakalanamayabileceęidir⁸⁰.

Walsh ve arkadaşları, 284 MRSA ve vankomisine duyarlılığı azalmış 45 stafilokok izolatuyla yaptıkları çift-kör çalışmada, agar dilüsyon, broth mikrodilüsyon, standart E-test, makro E-test, agar tarama yöntemi ve populasyon analiz çalışmaları gibi farklı yöntemlerin, duyarlılık ve özgüllüğünü karşılaştırmışlardır. Bu yöntemlerin sonuçlarını Wootton ve arkadaşlarının tariflediği PAP-AUC oranı metodu ile karşılaştırmışlardır. BHI-V6 ile agar tarama yönteminin duyarlılığı %22, özgüllüğü %97 bulunmuştur. Benzer yöntemle, 5 μg/ml vankomisin içeren Mueller-Hinton agar tarama yönteminin ise duyarlılığını %20, özgüllüğünü ise %99 olarak tespit etmişlerdir. Basitleştirilmiş populasyon analizi metoduyla ise 34 yalancı pozitiflik (%12) görülürken, duyarlılığı %71, özgüllüğü ise %88 olarak bulmuşlardır. Standart E-test için duyarlılık ve özgüllük %82-%93; makro E-test için ise %96-%97 olarak belirtmişlerdir. Vankomisin duyarlılık sınırları, NCCLS (CLSI) kriterlerine göre değerlendirildiğinde, agar dilüsyon yönteminin duyarlılığı ve

özgüllüğü %20'ye %100, broth mikrodilüsyon yönteminde ise %11'e %100 olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada, makro E-test yöntemi için en uygun besiyerinin Brain-Heart infüzyon agar olduğu vurgulanmaktadır⁹⁵.

VRSA ve GISA tespitiyle ilgili kılavuzlar basılmış olmasına rağmen, hGISA tespiti için kullanılacak bir kılavuz bulmak oldukça zordur. Standart disk difüzyon, broth mikrodilüsyon ve standart E-test ile MİK ölçümü gibi yöntemlerin, hGISA tespitinde yetersiz oluşu, kullanılan başlangıç inokulum yoğunluğunun, dirençli subpopulasyonların yakalanmasını zorlaştıracak kadar az olmasına bağlanabileceği ileri sürülmektedir⁹⁷.

Günümüze kadar, değişik besiyerleriyle (BHI, MH vb.), farklı inokulum yoğunluklarında, glikopeptid seçimine (vankomisin veya teikoplanin) ve konsantrasyonuna göre bir çok agar tarama yöntemi tarif edilmiştir^{80,98-100}. Hiramatsu ve arkadaşları BHI-V4 agarı ve inokulumu 10^6 CFU/ml yoğunluğunda kullanmışlar ve populasyon analiziyle doğrulama yapmışlardır⁸⁰. “European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)” ise tarama için, duraklama fazındaki bakterilerden alınan inokulumun, MH-T5 besiyerini yayılmasını ve 48 saat inkübe edilmesini önermektedir¹⁰¹.

Fitzgibbon ve arkadaşları 3189 MRSA izolatında glikopeptid duyarlılığının ve agar tarama yöntemlerinin hGISA tespit etmedeki özgüllük ve duyarlılığının değerlendirildiği bir çalışma yayınlamışlardır. Bu çalışmada bütün izolatlar agar tarama yöntemiyle birlikte makro E-test yöntemi de uygulamışlardır. VRSA veya GISA izolatlarına rastlanmamış ancak vankomisin ve teikoplaninle yapılan PAP-AUC oranları ile doğrulanmış 178 izolat hGISA olarak tanımlanmıştır. İzolatların 139'u Makro E-test yöntemiyle tespit edilmiş, bunların 73'ü vankomisinle yapılan PAP-AUC ile 95 tanesi teikoplaninle yapılan PAP-AUC ile 108 tanesi de her iki metotla da doğrulanmıştır. BHI-V6 ve 8 mg/L teikoplanin içeren Mueller-Hinton (MH-T8) besiyerinin kullanıldığı agar tarama yöntemleri, hGISA tespitinde yetersiz bulunmuşlardır. MH-T5 ve BHI-T5 besiyerlerine, 10 μ l miktarda ve 3 değişik inokulum konsantrasyonunda (McFarland 0,5, McFarland 2 ve duraklama fazındaki BHI broth subkültürleri [MH-T5_{0,5}, MH-T5_{2,0}, MH-T5_S, BHI-T5_{0,5}, BHI-T5_{2,0} ve BHI-T5_S]) yapılan agar tarama yöntemlerinin karşılaştırılmasında, MH-T5_{0,5} ve MH-T5_{2,0} agar hariç tüm metotların duyarlılığı %100 olarak bulunmuştur. Özgüllüklerinin

ise %4 ila %82 arasında değişmekte olduğu tespit edilmiştir. BHI-T5_{0.5} agar tarama yönteminin ise en iyi performansa sahip olduğu ve pozitif çıkan izolatların makro E-test yöntemiyle araştırılıp, PAP-AUC ile doğrulandığı durumlarda kullanışlı bir tarama yöntemi olabileceğini belirtmektedirler⁹⁷.

Biz ise çalışmamızda, hastanemizdeki hVIS ve VIS varlığını araştırmak için, ilk olarak, CDC önerileri doğrultusunda BHI-V6 besiyeriyle agar tarama yöntemini uyguladık. Bu yöntemle tespit ettiğimiz 10 stafilokok suşundan yedi tanesi PAP-AUC oranı ile doğrulanmış, üç tane yalancı pozitif sonuç olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, PAP yöntemi, yoğun bir iş gücü ve maliyet getirdiği için bütün stafilokok izolatlarına yapılamadığından, aslında hVIS ve VIS suşlarının sayısının tespit edilenden daha fazla olması gerektiği öngörülmelidir. VIS ve hVIS tespitinde, diğer yöntemlere göre duyarlılık ve özgüllüğü daha az olsa da, uygulamasının kolay ve maliyetinin düşük olması, tarama testi olarak BHI-V6 agar plaklarının kullanılabilmesini göstermektedir. Makro E-test yöntemi ise agar tarama yönteminden daha üstün olmasına rağmen, iki yöntem arasında belirgin derecede maliyet farkı vardır. Bizim çalışmamızda PAP-AUC ile karşılaştırıldığında makro E-test yöntemiyle iki bakteride yalancı negatiflik, bir bakteride de yalancı pozitiflik bulunmuştur. Yüksek maliyet oranları nedeniyle, makro E-test'in rutin laboratuvar uygulamalarında kullanılması mümkün görünmemektedir. Populasyon analiz profili ise, altın standart yöntem olmasına rağmen, çok yüksek oranda iş gücüne ihtiyaç duyulması ve zaman alıcı olması nedeniyle, araştırma çalışmaları dışında uygulanması pek mümkün olmayan bir yöntem gibi durmaktadır.

VISA ve hVISA izolatlarının, epidemiyolojik ve klinik ilişkilerini aydınlatmak, esas olarak terminolojideki kafa karışıklıkları ve standardize edilmiş laboratuvar test protokollerinin yetersizliği nedeniyle zordur. Bu zorluklara rağmen, keşfedildiklerinden beri yayınlanan değişik çalışmalarda, hVISA ve VISA izolatlarının vankomisin tedavisinde başarısızlıklara yol açtığı belirtilmektedir¹⁰⁴. Ortopedik cerrahi geçiren hastalarla yapılan bir çalışma bu hipotezi desteklemektedir, fakat bu çalışmadaki hastalarda, tedavi başarısızlığına yol açabilecek bir diğer faktör de hastaların protez gibi ortopedik bir alete sahip olmalarıdır¹⁰⁵. Bu hipotezi destekleyen önemli bir diğer çalışma ise Moore ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. *S. aureus* endokarditi nedeniyle vankomisin

tedavisi alan ve tedavi başarısızlığı görülen bir hastanın, tedavi öncesi ve sonrasında üretilen *S. aureus* izolatlarının genotipik araştırmalar sonucunda aynı izolat olduğu gösterilmiştir. İkinci izolatın ileri incelemeleri sonrasında vankomisine heterojen direnç gösterdiği bulunmuştur. Bu iki izolatla yapılan deneysel tavşan endokardit modelinde de birinci suşla enfekte edilen tavşanlarda bakterinin vankomisinle eradike edildiği ancak ikinci izolatın vankomisin tedavisine rağmen üremeye devam ettiği gösterilmiřtir¹⁰⁶.

Neoh ve arkadaşları tarafından yapılan bir retrospektif çalışmada da MRSA'ya bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarında, azalmış vankomisin duyarlılığının tedavi sonuçlarına etkisi araştırılmıştır. Toplam 209 MRSA bakteriyemili hastadan, vankomisin ile en az beş gün tedavi almış 20 tanesi çalışmaya alınmış ve bu hastalardan izole edilen 22 bakteriden, iki tanesi hVISA, iki tanesi de VISA olarak tespit edilmiştir. Etken MRSA'ların PAP-AUC değerleri karşılaştırıldığında vankomisine iyi yanıt veren (10.81 ± 1.66) ve vermeyen (16.09 ± 5.09) gruplar arasında anlamlı derecede fark bulunmuřtur¹⁰⁷. Fong ve arkadaşları tarafından yapılan retrospektif, vaka-kontrol çalışmasında da hVISA ve VISA izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların klinik özellikleri ve sonuca etkisi incelenmiştir. VSSA ile karşılaştırıldığında hVISA ve VISA suşlarının; hastalık öncesi daha uzun glikopeptid kullanımıyla, kemik-eklem ve protez enfeksiyonlarıyla, tedavi başarısızlığıyla, daha uzun bakteriyemi süresi ve kültür pozitiflik periyoduyla anlamlı derecede ilişkili oldukları gösterilmiştir. Ancak iki grup arasında, mortalite ve hastane maliyetleri arasında fark bulunmamıřtır¹⁰⁸. Charles ve arkadaşları da 12 ay boyunca, hastanelerinde tespit ettikleri bütün MRSA bakteriyemilerini dahil ettikleri çalışmalarında hVISA ve vankomisin duyarlı MRSA bakteriyemilerini karşılaştırmışlardır. Sonuçta hVISA bakteriyemisi olan hastaların daha yüksek bakteriyel yükü enfeksiyona ve vankomisin tedavi başarısızlığına (tedavi başlandıktan yedi gün sonrasına kadar düşmeyen ateş ve devam eden bakteriyemi olması) sahip oldukları görülmüřtür¹⁰⁹.

MRSA'lara benzer şekilde kolonize olmalarıyla birlikte, hVISA ve VISA suşları ayrıca bakteriyemi, endokardit, yara enfeksiyonları, kemik-eklem enfeksiyonları ve derin dokulardaki apseler gibi ciddi enfeksiyonlara da neden olmaktadır. Çoğu vakada bu suşlarla görülen enfeksiyonlar prostetik materyal

(prostatik kalp kapağı, eklem protezi, iv alet) varlığıyla ilişkilidir. Glikopeptid tedavisine rağmen MRSA kültür pozitifliğinin devam etmesi, tedavinin tamamlanmasından sonra erken aşamada relaps olması, enfeksiyonun hVISA veya VISA ile ilişkili olabileceğini destekleyen bulgulardır. Endokardit, drene edilmemiş apseler veya protez eklem enfeksiyonları gibi yüksek bakteriyel yüke sahip enfeksiyonlarda, hVISA veya VISA'ya bağlı tedavi başarısızlıkları daha olasıyken, bu tip enfeksiyonlarda hVISA veya VISA olmadan, uygun debridman sağlanamamasına bağlı tedavi başarısızlığı da yařanabilmektedir¹¹⁰. Bu tip bakterilerin rutin laboratuvar testleriyle tespit edilmesinin zor olması nedeniyle, klinisyenler hVISA ve VISA suşlarının neden olabileceği enfeksiyonlar açısından dikkatli olmalıdırlar.

VISA ve hVISA suşlarının neden olduğu enfeksiyonların gelişiminde, bazı risk faktörleri değişik çalışmalarla tespit edilmiştir. Glikopeptidlerin yaygın kullanımıyla seçici baskı, vankomisinini düşük doku konsantrasyonlarının olması, vankomisin tedavi başarısızlıkları; diyabet, immünsüpresyon, malignite, son dönem böbrek yetmezliği gibi altta yatan hastalıklar; hVISA tespit edilmeden önceki sekiz hafta içinde cerrahi geçirmiş olmak; endokardit, derin apseler ve ortopedik alet ilişkili enfeksiyonlar gibi yüksek bakteriyel yk barındıran enfeksiyonlar, tanımlanmış risk faktrlerindendir^{51, 105, 109, 111}. Bizim alışmamızda da bu risk faktörlerini destekleyici veriler elde edilmiştir. VIS ve hVIS olarak bulduğumuz izolatların retildeği hastalar incelendiğinde, yedi hastanın altısında daha önce glikopeptid kullanımı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca enfekte diz protezi nedeniyle  kez ameliyat edilen bir hasta ve yakın zamanda büyük bir cerrahi operasyon geçiren dört hastanın olduğu grlmştir.

VISA ve hVISA suşları ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek optimal tedavi seçeneklerine dair veriler oldukça kısıtlıdır. Bu suşlarla enfekte hastaların çoğu yüksek bakteriyel yüklü (endokardit, ortopedik protezler, apseler vb.) enfeksiyonlara sahiptir. Dolayısıyla cerrahi debridman tedavide önemli bir rol oynamaktadır¹¹⁰. Tedavide seçilecek antibiyotiklerle ilgili ise farklı öneriler vardır. Enfeksiyon bölgesine bağlı olmakla birlikte, VISA izolatlarının vankomisin tedavisine duyarlı olabileceğini, ancak tedavinin yüksek dozlarda ve uzun srelerde verilmesi gerektiğini belirten yazılar mevcuttur¹¹². VISA ve hVISA izolatları in vitro

olarak rifampisin, fusidik asit, linezolid ve quinopristin/dalfopristin gibi bazı antibiyotiklere duyarlılıklarını sürdürse de ciddi enfeksiyonların tedavisindeki etkinlikleri ile ilgili klinik veriler sınırlıdır¹¹⁰. Howden ve arkadaşları vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* izolatları ile enfekte 25 hastada, glikopeptidler ile tedavi başarısızlığını %76 gibi yüksek oranlarda bulmuşlardır. Buna karşın linezolidin etkinliğini %78 olarak tespit etmişler ve cerrahi girişime ek olarak, özellikle rifampisin veya fusidik asitle birlikte veya tek başına linezolid tedavisinin, vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* izolatlarının neden olduğu, endokardit dahil, ciddi enfeksiyonlarda, etkili bir tedavi seçeneği olduğunu belirtmişlerdir¹¹¹. Wong ve arkadaşları da hVISA ile enfekte dört hastayı sundukları çalışmada, bir hastaya vankomisinle birlikte fusidik asit tedavisi vermişler ve olumlu sonuç almışlardır. Ayrıca yaptıkları in vitro testlerle, ampisilin ile vankomisin arasında sinerji tespit etmişler ve ampisilin PBP2a'ya karşı yüksek affinite göstermesi nedeniyle, vankomisinle birlikte ampisilin/sulbaktam verilmesinin, ciddi hVISA enfeksiyonlarında uygun bir seçenek olabileceğini belirtmişlerdir¹¹³. Vankomisin ve teikoplanine azalmış duyarlılığı olan, ancak linezolide duyarlı bir suşla pnömoni oluşturulan, deneysel bir hayvan modelinde, 10 gün linezolid verilen farelerin, vankomisin ve teikoplanine göre, hayatta kalma oranlarının anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir¹¹⁴. VIS veya hVIS suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisiyle ilgili randomize, kontrollü klinik çalışmalar yapılmamış olmasına rağmen, mevcut veriler linezolidin, bu tip enfeksiyonlarda vankomisin ve teikoplanine iyi bir alternatif olduğunu desteklemektedir. Türkiye'de henüz bulunmayan ancak yurtdışında kullanıma girmiş, daptomisin ve quinopristin/dalfopristin gibi gram pozitif bakterilere etkili antibiyotiklerin de hVIS ve VIS'ların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımıyla ilgili klinik ve laboratuvar çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Vankomisine duyarlılığı azalmış stafilokoklarla gelişen enfeksiyonların sayısı, ilk keşfedildikleri tarihten itibaren dünya genelinde giderek artmaktadır. VISA ve hVISA izolatlarının, MRSA suşlarından köken aldığı ve yoğun glikopeptid kullanımıyla, altta yatan bazı faktörlerin birlikteliğinden ortaya çıktıkları düşünülmektedir. Bu izolatların tespit edilmesi için, özel bazı laboratuvar yöntemlerine ihtiyaç vardır. Vankomisin veya teikoplaninin farklı konsantrasyonlarını içeren, agar tarama yöntemleri tariflenmiştir. Bunlardan en sık kullanılanı ve CDC'nin önerdiği BHI-V6 besiyeri ile agar tarama yöntemidir. VIS ve hVIS tespiti için agar tarama yöntemi dışında kullanılan diğer yöntemler ise maliyet fazlalığı, yoğun iş gücü ve zaman gerekliliği nedeniyle rutin uygulamada kullanılabilecek yöntemler değildir. Bu yöntemlerden, makro E-test, agar tarama yöntemi ile üreme tespit edilen izolatların doğrulanması için kullanılabilir. Populasyon analiz yöntemi ise hVISA tespitinde, altın standart yöntemdir.

Hastanelerin, VIS ve hVIS prevalanslarını araştırmaları, bu bakterilerin o merkezler için bir tehdit oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması açısından oldukça önemlidir. Klinisyenler de rutin laboratuvarlarda yapılan duyarlılık testleriyle, hVIS ve VIS izolatlarının tespit edilmesinin mümkün olmaması nedeniyle, glikopeptid tedavisi verilmesine rağmen, yanıt alınamayan hastalarda, bu suşlarla gelişmiş bir enfeksiyonun olabileceği konusunda dikkatli olmalıdırlar.

VIS ve hVIS izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde aday olarak görünen, linezolid, daptomisin, quinopristin/dalfopristin gibi yeni ajanlarla ilgili daha fazla laboratuvar ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Stafilokoklarda, glikopeptidlere duyarlılığın azalmasındaki temel mekanizma, hücre duvarı kalınlaşmasıdır. Genetik temelleri tam olarak aydınlatılamasa da bu fenotipik özelliğin, glikopeptidlere maruziyetle bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında, glikopeptid antibiyotiklerin akılcı kullanımının, hVIS ve VIS izolatlarının ortaya çıkmasını engellemede en önemli yol olduğu görülmektedir. Ayrıca enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliği de bu bakterilerin hastane içi yayılımını engelleyecek bir diğer önemli faktördür.

ÖZET

Kuşcu, F. Metisiline Dirençli Stafilokok Suşlarında Azalmış Vankomisin Duyarlılığının Araştırılması. S. B. Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009. Metisiline dirençli stafilokok suşları ile gelişen enfeksiyonlar, hastane kökenli enfeksiyonlar arasında önemli bir yere sahiptir. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan glikopeptid antibiyotiklere gelişen direnç ilk kez 1996'da Japonya'dan bildirilmiştir. Vankomisine azalmış duyarlılığa sahip bu izolata vankomisin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) ismi verilmiştir. Heterojen VISA (hVISA) suşlarının bildiriimi de VISA izolatlarını takip etmiştir. Bu çalışmada, rutin laboratuvar testleri ile tespit edilmesi mümkün olmayan, vankomisin intermediate stafilokok (VIS) ve heterojen VIS (hVIS) izolatlarının hastanemizdeki sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Değişik klinik örneklerden izole edilen 148 metisilin dirençli stafilokok suşunda, VIS ve hVIS tespiti için tarama yöntemi olarak 6 µg/ml vankomisin içeren Brain-Heart infüzyon agar (BHI-V6) kullanıldı. Bu yöntemle VIS/hVIS şüpheli izolatları ileri inceleme olarak, standart E-test, Makro E-test ve populasyon analiz profili eğri altında kalan alan (PAP-AUC) yöntemleri uygulandı. Ayrıca izole edilen bütün suşların vankomin, teikoplanin ve linezolid MİK değerleri E-test yöntemiyle belirlendi. Bu çalışmada, 148 stafilokok suşundan toplam 5 tane VIS/GIS, 2 tane de hVIS/hGIS izole edildi, prevalansları ise sırasıyla % 3,37 ve % 1,35 olarak bulundu. Sadece *S. aureus*'lar değerlendirildiğinde, 107 izolat içinde, bir tane VISA, bir tane de hVISA bulundu ve prevalansları, % 0,93 olarak hesaplandı. Hastanelerde VIS ve hVIS prevalanslarının artması, glikopeptid antibiyotikler ile tedavi başarısızlığı yaşanmasına neden olabilir. Dolayısıyla bu izolatların o merkezler için bir tehdit oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Stafilokok, vankomisin, VISA, hVISA.

ABSTRACT

Kuşcu, F. Investigation of Reduced Vancomycin Susceptibility in Methicillin Resistant Staphylococcus Strains. Health Ministry, Ankara Diskapi YB Training And Research Hospital Dept. of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Md Thesis, Ankara, Turkey, 2009. The infections that are caused by the vancomycin resistant staphylococcus strains have an important place among the hospital acquired infections. The resistance that was developed against the glycopeptides that are used in the treatment of infections caused by these bacteria was firstly defined in Japan in 1996. This isolate that had decreased susceptibility to vancomycin was called as vancomycin intermediate Staphylococcus aureus (VISA). The declaration of heterogeneous VISA strains followed the VISA isolates. In this study, it was aimed to investigate the frequency of vancomycin intermediate Staphylococcus (VIS) and heterogeneous intermediate Staphylococcus isolates (hVIS); that are not likely to be determined by routine laboratory tests; in our hospital. Brain-Heart infusion agar that contains 6 µg/ml of vancomycin was used as the scanning method for the determination of VIS and hVIS in 148 methicillin resistant Staphylococcus strains that were isolated from several clinical samples. By this method, standart E-test, Macro E-test, and population analysis profile area *under the curve* ratio PAP-AUC) were used as the advanced methods for these VIS/hVIS suspected isolates. Therefore, MIC values of vancomycin, teichoplanin and linosolide of all the isolated strains were determined by E-test method. In this study, from 148 staphylococcus strains, total of 5 VIS/GIS, and 2 hVIS/hGIS were isolated, and the prevalences were determined as 3,37 % and 1,35 %; respectively. When only the S.Aureus strains were evaluated, in 107 isolates, 1 VISA and 1 hVISA were found, and their prevalences were 0,93%. Increase in the prevalence of VIS and hVIS in hospitals may cause failure in the treatments with glycopeptide antibiotics. So, it is quite important to determine if these microorganisms are important threats for these centres or not, and to provide necessary preventions.

Key words: Staphylococcus, vancomycin, VISA, hVISA

KAYNAKLAR

1. Cengiz AT. *Staphylococcus*. Editör: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999:339-47.
2. Dündar V, Dündar DÖ. Stafilocok İnfeksiyonları. Editörler: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008: 2065-77.
3. Ünal S. *Staphylococcus aureus*: Direnç Mekanizmaları. Editörler: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004:23-38.
4. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. 2003; 111(9): 1265-73.
5. Appelbaum PC. MRSA- the tip of the iceberg. Clin Microbiol Infect. 2006; 12 Suppl.2:3-10.
6. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemoter. 1997; 40(1): 135-6.
7. Moreira B, Boyle-Vavra S, de Jonge BL, Daum RS. Increased production of penicillin-binding protein 2, increased detection of other penicillin-binding proteins, and decreased coagulase activity associated with glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemoter 1997; 41: 1788–93.
8. Finan JE, Archer GL, Pucci MJ, Climo MW. Role of penicillin-binding protein 4 in expression of vancomycin resistance among clinical isolates of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemoter 2001; 45:3070–75.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002; 51(26): 565-7.

10. Del Bene VE, John JF Jr, Twitty JA, Lewis JW: Antistaphylococcal activity of teicoplanin, vancomycin, and other antimicrobial agents: the significance of methicillin resistance. *J Infect Dis.* 1986; 154(2): 349–52.
11. Wilson APR, O’Hare MD, Felmingham D, Grüneberg RN: Teicoplanin-resistant coagulase-negative staphylococcus. *Lancet.* 1986;2(8513):973.
12. Gülay Z. Koagülaz-Negatif Stafilokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. Editörler: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004:105-20.
13. Moreillon P, Que Y, Glauser MP. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock) In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice of Infectious Disease.* 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005:2321-51.
14. Bannerman TL, Peacock SJ. *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase-positive cocci. In: Murray PR, Baron EJ, et al. *Manual of Clinical Microbiology.* 9th ed. Washington DC: ASM Press, 2007: 392-411.
15. Winn WC, Allen SD, Janda WM, et al. Gram-positive cocci: Part 1. In *Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2006:623–71.
16. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Editörler: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004:9-22.
17. Cunha Mde L, Sinzato YK, Silveira LV. Comparison of methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99(8):855-60.
18. Gotz F. Staphylococcus and biofilms. *Mol Microbiol* 2002;43(6):1367-78.
19. Baselga R, Albizu I, De La Cruz M, Del Cacho E, Barberan M, Amorena B: Phase variation of slime production in *Staphylococcus aureus*: implications in colonization and virulence. *Infect Immun* 1993, 61(11):4857-62.

20. Gracia E, Lacleriga A, Monzon M, Leiva J, Oteiza C, Amorena B: Application of a rat osteomyelitis model to compare in vivo and in vitro the antibiotic efficacy against bacteria with high capacity to form biofilms. *J Surg Res.* 1998, 79(2):146-53.
21. Amorena B, Gracia E, Monzon M, Leiva J, Oteiza C, Perez M, Alabart JL, Hernandez-Yago J: Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1999, 44(1):43-55.
22. Thakker M, Park JS, Carey V, et al. *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infect Immun.* 1998;66(11):5183-9.
23. Shinefield H, Black S, Fattom A, et al. Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med.* 2002;346(7):491-6.
24. Kawabata S, Morita T, Iwanaga S, Igarashi H. J Biochem. Enzymatic properties of staphylothrombin, an active molecular complex formed between staphylocoagulase and human prothrombin. *J Biochem.* 1985;98(6):1603-14.
25. Kloos WE, Schleifer K-H, Götz F. The genus *Staphylococcus*. In: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, et al, eds. *The prokaryotes, a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, application.* 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 1992:1369–420.
26. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(1):16-34.
27. Bayer AS, Ramos MD, Menzies BE, et al. Hyperproduction of alpha-toxin by *Staphylococcus aureus* results in paradoxically reduced virulence in experimental endocarditis: a host defense role for platelet microbicidal proteins. *Infect Immun.* 1997;65(11):4652-60.
28. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999;29(5):1128-32.

29. Dufour P, Gillet Y, Bes M, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis*. 2002;35(7):819-24.
30. Takagi Y, Futamura S, Asada Y. Action site of exfoliative toxin on keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 1990;94:582.
31. Williams RJ, Ward JM, Henderson B, et al. Identification of a novel gene cluster encoding staphylococcal exotoxin-like proteins: characterization of the prototypic gene and its protein product, SET1. *Infect Immun*. 2000;68(8):4407-15.
32. Fitzgerald JR, Reid SD, Ruotsalainen E, et al. Genome diversification in *Staphylococcus aureus*: Molecular evolution of a highly variable chromosomal region encoding the Staphylococcal exotoxin-like family of proteins. *Infect Immun*. 2003;71(5):2827-38.
33. Davis MM, Bjorkman PJ. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature*. 1988;334(6181):395-402.
34. Maltezou HC, Giamarellou H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2006 Feb;27(2):87-96.
35. Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2007;45 Suppl 3:S165-70.
36. Pfaller MA, Herwaldt LA. Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1988;1(3):281-99.
37. Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clin Infect Dis*. 1994;19(2):231-43;
38. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis*. 2002;2(11):677-85.
39. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7(1):117-40

40. Vandenesch F, Etienne J, Reverdy ME, Eykyn SJ. Endocarditis due to *Staphylococcus lugdunensis*: report of 11 cases and review. Clin Infect Dis. 1993;17(5):871-6.
41. Nimmo GR, Bell JM, Mitchell D, et al. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in Australian teaching hospitals, 1989-1999. Microb Drug Resist. 2003;9(2):155-60
42. Kesah C, Ben Redjeb S, Odugbemi TO, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. Clin Microbiol Infect. 2003;9(2):153-6.
43. Ghuysen JM. Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol. 1994;2(10):372-80.
44. Gillespie MT, May JW, Skurray RA. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated at an Australian hospital between 1946 and 1981. J Med Microbiol. 1985;19(2):137-47.
45. Chambers HF, Hartman BJ, Tomasz A. Increased amounts of a novel penicillin-binding protein in a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to nafcillin. J Clin Invest. 1985;76(1):325-31.
46. de Jonge BL, Tomasz A. Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of methicillin: functional role for penicillin-binding protein 2A in cell wall synthesis. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37(2):342-6.
47. Deresinski S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. Clin Infect Dis. 2005;40(4):562-73.
48. Healy CM, Hulten KG, Palazzi DL. Emergence of new strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. Clin Infect Dis. 2004;39(10):1460-6.
49. Sancak B. *Staphylococcus aureus*'ta metisilin ve vankomisin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi. 2007;38:127-34.

50. Swenson JM, Tenover FC, Cefoxitin Disk Study Group. Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus spp.* J Clin Microbiol. 2005;43(8):3818-23.
51. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. Lancet Infect Dis. 2001;1(3):147-55.
52. de Lassence A, Hidri N, Timsit JF, et al. Control and outcome of a large outbreak of colonization and infection with glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. Clin Infect Dis. 2006;42(2):170-8.
53. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Colakoglu S, Haşçelik G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. J Antimicrob Chemother. 2005;56(3):519-23.
54. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Gür D: Çeviri editörü): Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayını, İstanbul (2008).
55. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med. 1999;340(7):517-23.
56. Hanaki H, Labischinski H, Inaba Y, et al. Increase in glutamine-non-amidated mucopeptides in the peptidoglycan of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain Mu50. J Antimicrob Chemother. 1998;42(3):315-20.
57. Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Int J Antimicrob Agents. 2007;30(5):398-408.
58. Guerin F, Buu-Hoi A, Mainardi JL et al. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to glycopeptides in a Parisian hospital. J Clin Microbiol 2000; 38: 2985–88.
59. Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. Clin Infect Dis 2001;32:108–15.

60. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001;7:327–32.
61. Noble WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett*. 1992;72(2):195-8.
62. Appelbaum PC, Bozdogan B. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Lab Med*. 2004;24(2):381-402.
63. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*.1988;57–88.
64. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*. 1988;319:157-61.
65. Biavasco F, Vignaroli C, Varaldo PE. Glycopeptide resistance in coagulase-negative staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000;19(6):403-17.
66. Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(3):430-8.
67. Froggatt JW, Johnston JL, Galetto DW, Archer GL. Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989;33(4):460-6.
68. Murray BE, Nannini EC. Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), streptogramins (quinopristin-dalfopristin), and lipopeptides (daptomycin). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005: 417-34.
69. Şardan Y, Aksoy DY, Ünal S. Glikopeptidler. Editörler: Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008:331-64.
70. Cunha BA, Vancomycin. *Med Clin North Am*.1995;817–31.

71. Arman D. Glikopeptidler, streptograminler ve lipopeptidler. Editörler: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008:326-37.
72. Farber BF, Moellering RC Jr. Retrospective study of the toxicity of preparations of vancomycin from 1974 to 1981. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983; 23: 138-41.
73. Bozdogan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2004;23(2):113-9.
74. Usluer G. Oksazolidinonlar. Editörler: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008:337-41.
75. Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999– 2002. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1627–34.
76. Shorr AF. Epidemiology of Staphylococcal Resistance. *Clin Infect Dis.* 2007;15;45 Suppl 3:171-6.
77. Edmiston CE Jr, Gohen MP, Seabrook GR, et al. Impact of selective antimicrobial agents on staphylococcal adherence to biomedical devices. *Am J Surg.* 2006;192:344-54.
78. Rahman M. Alternatives to vancomycin in treating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Antimicrob Chemother.* 1998; 41: 325-8.
79. Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschahferr JC, et al. Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary of Consensus Recommendations from the Infectious Diseases Society of America, the American Society of Health-System Pharmacists, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Clin Infect Dis.* 2009;49(3):325-7.
80. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogenously resistant to vancomycin. *Lancet.* 1997; 350: 1670-3.

81. Finks J, Wells E, Dyke TL, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, Michigan, USA, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(6):943-5.
82. Cui L, Ma X, Sato K, et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2003;41(1):5-14.
83. Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, et al. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. *J Antimicrob Chemother.* 1998; 42(2):199–209.
84. Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(10):3040-5.
85. Song JH, Hiramatsu K, Suh JY, et al. Emergence in Asian countries of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(12):4926-8.
86. Bobin-Dubreux S, Reverdy ME, Nervi C, et al. Clinical isolate of vancomycin-heterointermediate *Staphylococcus aureus* susceptible to methicillin and in vitro selection of a vancomycin-resistant derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(1):349–52.
87. Robert J, Bismuth R, Jarlier V. Decreased susceptibility to glycopeptides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a 20 year study in a large French teaching hospital, 1983-2002. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57(3):506-10.
88. Schmitz FJ, Krey A, Geisel R, Verhoef J, Heinz HP, Fluit AC. Susceptibility of 302 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 20 European university hospitals to vancomycin and alternative antistaphylococcal compounds. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;18(7):528-30.
89. Marchese A, Balistreri G, Tonoli E, Debbia EA, Schito GC. Heterogeneous vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in a large Italian hospital. *J Clin Microbiol.* 2000;38:866–9.

90. Trakulsomboon S, Danchaivijitr S, Rongrungruang Y, et al. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Thailand. *J Clin Microbiol.* 2001;39(2):591-5.
91. Sun W, Chen H, Liu Y, et al. Prevalence and characterization of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) from 14 cities in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Jun 22. [Epub ahead of print].
92. Musta AC, Riederer K, Shemes S, et al. Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: trends over 11 years. *J Clin Microbiol.* 2009;47(6):1640-4.
93. Nakipoglu Y, Derbentli S, Cagatay AA, Katranci H. Investigation of *Staphylococcus* strains with heterogeneous resistance to glycopeptides in a Turkish university hospital. *BMC Infect Dis.* 2005;5(1):31.
94. Hoşgör Limoncu M, Ermertcan S, Taşlı H, Kurutepe S. Investigation of glycopeptide resistance in methicillin resistant staphylococcal isolates. *Mikrobiyol Bul.* 2007;41(4):511-6.
95. Walsh TR, Bolmström A, Qvarnström A, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2439–44.
96. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect heteroresistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2001;47(4):399-403.
97. Fitzgibbon MM, Rossney AS, O'Connell B. Investigation of reduced susceptibility to glycopeptides among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients in Ireland and evaluation of agar screening methods for detection of heterogeneously glycopeptide-intermediate *S. aureus*. *J Clin Microbiol.* 2007;45(10):3263-9.

98. Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, et al.. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother. 2005;56:1000–18.
99. Guerin F, Buu-Hoï A, Mainardi JL. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to glycopeptides in a Parisian hospital. J Clin Microbiol. 2000;38(8):2985-8.
100. Park YJ, Kim M, Oh EJ, Lee SO, Kim BK, Kim SM. Screening method for detecting staphylococci with reduced susceptibility to teicoplanin. J Microbiol Methods. 2000;40(2):193-8.
101. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. EARSS Manual 2005: EARSS protocol for testing *Staphylococcus aureus*: new and updated protocols for AST 2005. EARSS RIVM, Bilthoven, The Netherlands. <http://www.rivm.nl/earss/tools/>. Erişim Tarihi, 15 Ağustos 2009.
102. Arias CA, Murray BE. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century--a clinical super-challenge. N Engl J Med. 2009;29;360(5):439-43.
103. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med. 2000;9;342(10):710-21.
104. Gemmell CG. Glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*: is it a real threat? J Infect Chemother. 2004;10(2):69-75.
105. Ariza J, Pujol M, Cabo J, Peña C, et al. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. Lancet. 1999;353(9164):1587-8.
106. Moore MR, Perdreau-Remington F, Chambers HF. Vancomycin treatment failure associated with heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a patient with endocarditis and in the rabbit model of endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(4):1262-6.
107. Neoh HM, Hori S, Komatsu M, et al. Impact of reduced vancomycin susceptibility on the therapeutic outcome of MRSA bloodstream infections. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2007;6:13.
108. Fong RK, Low J, Koh TH, Kurup A. Clinical features and treatment outcomes of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) in a

- tertiary care institution in Singapore. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(8):983-7.
109. Charles PG, Ward PB, Johnson PD, Howden BP, Grayson ML. Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2004;38(3):448-51.
110. Howden BP. Recognition and management of infections caused by vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogenous VISA (hVISA). *Intern Med J*. 2005;35 Suppl 2:S136-40.
111. Howden BP, Ward PB, Charles PG, et al. Treatment outcomes for serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced vancomycin susceptibility. *Clin Infect Dis*. 2004 Feb 15;38(4):521-8.
112. Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 108–15.
113. Wong SS, Ng TK, Yam WC, et al. Bacteremia due to *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;36(4):261-8.
114. Yanagihara K, Kaneko Y, Sawai T, Miyazaki Y, Tsukamoto K, Hirakata Y, et al. Efficacy of linezolid against methicillin-resistant or vancomycin-insensitive *Staphylococcus aureus* in a model of haematogenous pulmonary infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:3288–91.
115. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR et.al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group. *N Engl J Med*. 1999;340(7):493-501.

EK-1

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ferit Kuşcu

Doğum Tarihi ve Yeri: 14.11.1979-ANKARA

Medeni Durumu: Evli

Adres: Ata Mahallesi Selin Sokak 37. Cadde 20/12 Öveçler/ANKARA

Telefon: 0 312 478 23 10

E-posta: feritkuscu@gmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi ve Yılı: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2003.

Görev Yerleri:

- 2004-2009: SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği.

Yabancı Diller: İngilizce