METİSİLİN RESİSTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARINDA SEFTAROLİN ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet Veysel COŞKUN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hakan USLU

Uzmanlık Tezi - 2016

TC
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

METİSİLİN RESİSTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARINDA SEFTAROLİN ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet Veysel COŞKUN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

TezDanışmanı
Prof. Dr. Hakan USLU

ERZURUM
2016

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
ÖZET ..... **v**
ABSTRACT ..... **vii**
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**
RESİMLER DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ ve AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. *Staphylococcus aureus* 2
2.1.1. Virülans Faktörleri ve Patogenez 2
2.1.1.1. Hücre Duvarı, Kapsül, Slime Faktörü 2
2.1.1.2. Ekzotoksinler 3
2.1.1.3. Diğer Ekstraselüler Komponentler 5
2.1.2. Tanısal Laboratuvar Testleri 6
2.1.2.1. Gram Boya 6
2.1.2.2.Katalaz Testi 6
2.1.2.3.Koagülaz Testi 6
2.1.2.4.Kültür 7
2.2. Antibiyotik Direnci 7
2.1.1. Beta Laktam Direnci 7
2.3. Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* 8
2.3.1. MRSA Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar 9
2.4. Sefalosporinler 11
2.4.1. I. Kuşak sefalosporinler 12
2.4.2. II. Kuşak sefalosporinler 12
2.4.3. III. Kuşak sefalosporinler 12
2.4.4. IV. Kuşak sefalosporinler 12
2.4.5. V. Kuşak sefalosporinler 13
2.4.5.1.Seftobiprol 13

2.5. Seftarolin 13
2.5.1.Biyokimyasal yapısı ve Etki Mekanizması 14
2.5.2.Etki Spektrumu 14
2.5.3. Farmakokinetik Profili 15
2.5.4. Farmakodinamik Profili 16
2.5.5. Kullanım Dozu 17
2.5.6. Güvenirliliği 17
2.5.7. İlaç Etkileşimleri 17
2.5.8. CLSI ve EUCAST'ta Seftarolin 18
3. GEREÇ ve YÖNTEM 20
3.1.Bakteri Kökenleri 20
3.2. Kullanılan Madde ve Cihazlar 20
3.3.Mikrodilüsyon Yöntemi ile Seftarolin Etkinliğinin Araştırılması 20
3.4.Diğer Antibiyotikler İçin Duyarlılık Araştırılması 21
4. BULGULAR 23
5. TARTIŞMA 29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 36
KAYNAKLAR 38

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 06.01.2014 gün 1/1 no'lu kararı ile "Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus* Suşlarında Seftarolin Etkinliğinin İn vitro Araştırılması (In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Activity of Ceftaroline Against Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*)'' başlıklı tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Mehmet Veysel COŞKUN tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Çalışma Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nca 07.01.2014 gün ve 1/1 no'lu karar ile kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşülmüş ve 25.02.2016 tarihli 2. oturumunun 12 no'lu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin çalışma aşamasında bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hakan USLU hocama sonsuz teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca eğitimime katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanı'mız sayın Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ, ve değerli hocalarım Prof. Dr. Osman AKTAŞ, Prof. Dr.Ülkü Altoparlak, Prof. Dr Halil YAZGI, ve Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK hocalarıma;

görev süresi dolduğu için aramızdan ayrılan ve görevde bulunduğu süre boyunca kıymetli yardım ve deneyimlerini benden esirgemeyen önceki bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ hocama;

yine görev yeri değişikliği nedeniyle aramızdan ayrılan ve asistanlığım boyunca değerli birikiminden yararlandığım sayın Prof. Dr. Esin AKTAŞ hocama;

birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım ve laboratuvar personeline;

özellikle ve bilhassa tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her daim yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Arş.Gör. Dr. Mehmet Veysel COŞKUN

ÖZET

Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus* Suşlarında Seftarolin Etkinliğinin İn vitro Araştırılması

Amaç: Metisilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonları çoklu ilaç direnci nedeniyle tüm dünyada ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonların tedavisinde glikopeptitler ve linezolid tercih edilen ilk ilaçlar olmalarına rağmen, son zamanlarda bu ilaçlardan özellikle vankomisine karşı MİK değerlerinde artış saptanmış ve dirençli suşlar bildirilmeye başlanmıştır.Bu durum MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif ajanlara gereksinim duyulmasına neden olmuştur.Food and Drug Administration (FDA) tarafından Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonu (CYDE) ile Toplum Kökenli Pnömoni (TK-Pnömoni) endikasyonlarında kullanım onayı alan seftarolin, bu kapsamda kullanılabilecek 5. Kuşak Sefalosporin üyesi geniş spektrumlu yeni bir antibiyotiktir. Bu çalışmada hastanemizden izole edilen MRSA suşlarında seftarolinin in vitro etkinliği araştırılmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya Ocak 2010 - Aralık 2014 tarihleri arasında, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gönderilen farklı klinik örneklerden (yara, kan, idrar) izole edilen 98 MRSA suşu dahil edilmiştir. Bunun için seftarolin toz etken maddesi kullanılarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile seftarolin MİK değerleri belirlenmiştir. Elde edilen MİK değerleri bu suşlara ait vankomisin ve linezolid MİK değerleri ile CLSI önerileri doğrultusunda kıyaslanmıştır.

Bulgular: Çalışmada seftarolin için en düşük ve en yüksek MİK değerleri 0.125-1 µg/mL iken $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 0.5 µg/mL ve 1 µg/mL olarak gözlenmiştir.Vankomisin için sırasıyla 0.75-1.5 µg/mL; 1 µg/mL ve 1.5 µg/mL olarak belirlenen bu değerler linezolid için yine sırasıyla 0.38-1.5 µg/mL; 0.75 µg/mL ve 1 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bütün MRSA suşları seftarolin, vankomisin ve linezolide duyarlı olarak bulunmuştur.

Sonuç: Gösterdiği etkin in vitro aktivite nedeniyle seftarolin, MRSA etkenli enfeksiyonların tedavisinde vankomisin ve linezolid için önemli bir alternatif olarak durmaktadır. Ancak ülkemizde halen klinik kullanımı olmayan seftarolin için ülkemizden izole edilen suşlardaki etkinliği konusunda daha güvenilir ve doğru sonuçlara ulaşmak için daha geniş kapsamlı in vivo ve in vitro çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Linezolid,MRSA, Seftarolin, Vankomisin

ABSTRACT

In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Activity of Ceftaroline Against Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*

Aim: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections continue to be a serious problem all over the world due to multi-drug resistance. Although glycopeptides and linezolid are the first preferred drugs in treatment of these infections, recently resistant strains and increasing in MIC values have been detected especially against vancomycin. Ceftarolineis a new broad spectrum V. Generation Cephalosporin approved for the treatment of acute bacterial Skin and Soft Tissue İnfection (SSTI) and Community-acquired Pneumonia (CAP) by Food and Drug Administration (FDA) which can be used in these indications. In this study, in vitro activity of ceftaroline was detected in MRSA strains isolated from our hospital.

Material and Method: Various clinical specimens (wound, blood, urine) sent from different clinical departments to Ataturk University Hospital Department of Medical Microbiology between January 2010 - December 2014 were included in the study.To determine ceftaroline MIC values, ceftaroline fosamil powder was used for broth microdilution method. The obtained MIC values for ceftaroline was compared with vancomycin and linezolid MIC values according to CLSI criteria.

Results: The lowest and the highest MIC values for ceftaroline were between 0.125-1µg/mL while the MIC_{50} and MIC_{90} values were observed as 0.5 µg/mL and 1 µg/mL. The lowest and the highest MIC values for vancomycin were 0.75-1.5 µg/mL and the MIC_{50}- MIC_{90} values were 1 µg/mL - 1.5 µg/mL. These values were determined as 0.38-1.5 µg/mL and 0.75 µg/mL-1 µg/mLfor linezolid respectively.According to these results, all MRSA strains were susceptible to ceftaroline, vancomycin and linezolid.

Conclusion : As its excellent in vitro activity, ceftaroline stands as an important alternative for vancomycin and linezolid in the treatment of infections caused by MRSA. But because of no clinical use for ceftaroline in our country to reach more reliable and accurate results on the effectiveness of ceftaroline against the strains isolated from our country, more extensive in vivo and in vitro studies are needed.

Key words: *Ceftaroline, Linezolid,MRSA, Vancomycin*

KISALTMALAR ve SİMGELERDİZİNİ

ABD : Amerika Birleşik Devletleri
MRSA : Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus*
TK-MRSA :Toplum KaynaklıMetisilin Resistant *Staphylococcus aureus*
hVISA : Hetero Dirençli Vankomisin Orta Duyarlı *Staphylococcus aureus*
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
7-ASA : 7-Aminosefalosporinik Asit
CLSI : Clinical and Laboratory StandardsInstıtute
MSSA :Metisilin Sensitive *Staphylococcus aureus*
DNA : Deoksi Ribo Nükleotid
EMB : Eozin Metilen Blue
PVL : Panton-Valentin Lökosidini
GSBL : Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
HK-MRSA : Hastane Kaynaklı Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus*
CYDE : Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları
EUCAST :European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
SCCmec : *Staphylococcal* Cassette Chromosome mec
AWARE : Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance and Evaluation
MİK : Minimal İnhibitörKonsantrasyon
TMP/SMX : Trimetoprim-Sulfametoksazol
NAMA : N-asetilmuramik asit
NAGA : N-asetilglukoz amin
PBP : Penisilin Bağlayan Protein
PNL : Polimorfonükleer Lökosit
TSST-1 :Toksik Şok Sendrom Toksin-1
RNA : Ribonükleik Asit
SspA : *Staphylococcal* serine protease A
VRSA :Vankomisin Resistant *Staphylococcus aureus*
VISA : Vankomisin İntermediate *Staphylococcus aureus*
VRE : Vankomisin Resistant Enterokok

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 4.1. Çalışılan MRSA İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı……23

Tablo 4.2.Çalışılan MRSA İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı 24

Tablo 4.3.MRSA Suşlarında Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin MİK değerleri(µg/mL)……..….…28

Tablo 4.4.. MRSA Suşlarında Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin $MİK_{min-max,}$ $MİK_{50}$ve $MİK_{90}$ değerleri (µg/mL).....30

Tablo 4.5.Çalışılan MRSA İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$değerleri (µg/mL).....31

Tablo 4.6.MRSA Suşlarının Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin MİK değerlerine göre sayısal olarak dağılımı (µg/mL)……32

Tablo 5.1.CYDE ve TK-Pnömoni olgularından elde edilen MRSA suşlarının seftaroline duyarlılık , orta duyarlılık, dirençlilik oranları.(%)…….33

Tablo 5.2. CYDE ve TK-Pnömoni olgularından elde edilen MRSA suşlarında seftarolin $MİK_{min-max}$ve $MİK_{90}$ değerleri. (µg/ml)……..…….34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No ..... **Sayfa No**

Şekil 2.1. 7-ASA Biyokimyasal Yapısı. 11

Şekil 2.2. Seftarolin fosamilin Biyokimyasal Yapısı. 15

RESİMLER DİZİNİ

Resim No **Sayfa No**

Şekil 3.1. Sefoksitin Diski ile Metisilin Direncinin Araştırılması..... 22

Şekil 3.2.Tüpte Koagülaz Testi ile Koagülaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi.. 22

Şekil 3.3.Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Seftarolin Duyarlılığının Araştırılması... 23

Şekil 3.4.E-test Yöntemi ile Vankomisin ve Linezolid Duyarlılığının Araştırılması.... 23

1. GİRİŞ veAMAÇ

Staphylococcus aureus insanlarda non invaziv Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları'ndan (CYDE) invaziv kemik-eklem enfeksiyonları, pnömoni ve sepsise kadar geniş bir yelpazede enfeksiyon yapan katalaz ve koagülazı pozitif , Gram pozitif kok şeklinde bir bakteridir. İnsanlar *S.aureus* için doğal rezervuardır. Böylece *S.aureus* geçici ya da kalıcı bir şekilde vücutta kolonize olarakve hem Hastane Kaynaklı (HK) hem de Toplum Kaynaklı (TK) enfeksiyon kaynağı olarak sık karşılaşılan bir etken haline gelmektedir. Bu nedenle *S.aureus* ilk tanımlandığı 1880'li yıllardan günümüze kadar halen ciddi bir sağlık problemi olarak yerini korumaktadır.(1) Bu durum penisilinin keşfine kadar enfeksiyon etkeni bakteriler için kullanılabilecek etkili bir ajan olmaması ile ilişkili iken penisilinin keşfinden sonra da *S.aureus* suşlarında kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimi sorunundan kaynaklanmaktadır. Penisilin dirençli *S.aureus* suşlarına ilk olarak penisilinin seri üretime girmesinden hemen sonra 1942'de penisilinaz üreten suşların izole edilmeye başlanması ile karşılaşılmıştır. Bu direnç, penisilinin seri üretimi ile neredeyse yarıya inen *S.aureus* enfeksiyonu geçiren hastalardaki mortalite oranının kısa bir süre sonra tekrar artmasına neden olmuştur.(2) Daha sonra 1950'lerin sonlarına doğru penisilinaz üreten suşlara karşı dayanıklı sentetik penisilin türevleri üretilmişse de, 1961'de İngiltere'de ilk sentetik penisilin direncine rastlanmış ve bu suşlar da metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) olarak adlandırılmıştır.(3)Bu dönemden sonra günümüze kadar özellikle hastane enfeksiyonları arasında ciddi bir önem arzeden MRSA enfeksiyonları için yeni tedavi seçenekleri geliştirilmesi amacıyla birçok çalışma yapılmış ve bu suşlar tarafından oluşturulmuş enfeksiyonlarda kullanılmak üzere çeşitli ilaçlar üretilmiştir.(4,5)Yeni antibiyotik

çalışmaları sonucu 2010 Ocak ayında Food and Drug Administration (FDA) tarafından klinik kullanımı onaylanan 5. Kuşak Sefalosporin olan seftarolin , MRSA suşlarına etki eden ilk beta-laktam antibiyotik olarak kullanıma sunulmuştur.[6, 7]MRSA ile birlikte Vankomisin dirençli *Enterococcus* (VRE) ve Vankomisin dirençli *S.aureus* (VRSA) dahil birçok dirençli Gram pozitif bakterinin yanısıra; *Enterobacter cloacae, Citrobacter freundii*, Genişlemiş Spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretmeyen *Escherichia coli*, GSBL üretmeyen *Klebsiella pneumoniae* gibi gram negatif bakterilere karşı da in vitro etkinliği ispatlanmış olan seftarolin oldukça geniş bir etki spektrumuna sahiptir.[8,9] Ülkemizde halen klinik kullanımı olmayan seftarolin için in vitro olarak yapılmış çalışma sayısı da oldukça sınırlıdır.[10,11]Yaptığımız çalışma ile çeşitli kliniklerden izole edilen MRSA izolatlarına karşı seftarolinin in vitro etkinliği araştırılmış olup, elde edilen verilerle sonraki çalışmalara ve litaratüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. GENELBİLGİLER

2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus enfeksiyon etkeni olarak ilk tanımlandığı 1880'lerden sonra geçen 100 yılı aşkın süreçte mortalitesindeki küçük değişkenlik haricinde hem TK hem de HK enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir.[12,13] Doğumdan sonra göbek, perine ve deride kolonize olan *S.aureus*, daha sonraki yıllarda özellikle buruna yerleşir ancak rektal, vaginal, faringeal, aksiller bölgelerde de taşıyıcılık bulunmaktadır.[14,15,16] Ülkemiz dahil birçok başka ülkede hastanelerde endemik durumda olan *S.aureus* taşıyıcılığı, diabetes mellitus, hemodiyaliz, sürekli ayaktan periton diyalizi, kronik dermatolojik hastalıklar, hematolojik hastalıklar, antibiyotik kullanımı, uzun süreli hospitalizasyon gibi faktörler ile artmaktadır.[17] Bu kolonizasyonu sayesinde CYDE ve cerrahi alan enfeksiyonları başta olmak üzere pnömoni, ampiyem, osteomiyelit, septik artrit, endokardit nedeni olan *S.aureus*, bakteriyemide de en sık izole edilen gram pozitif etkenlerden biridir.[18]

Micrococcaceae familyasına ait en az 35 tür barındıran *Staphylococcus* cinsinde yer alan *S.aureus* hareketsiz, sporsuz, 0,5-1,5 µm çapında, Gram pozitif, genellikle üzüm salkımı şeklinde gözlenen topluluklar oluşturmuş kok morfolojisinde bir bakteridir.[19,20,21] Diğer tüm stafilokoklar gibi oksidaz negatif, katalaz pozitif olan bu bakteri, *Staphylococcus* cinsinin en virülan türüdür ve koagülaz üretimi ile diğer türlerden ayrılır.[19,22] *S. aureus* fakültatif anaeroptur ve 15^0C-45^0C gibi geniş bir ısı aralığında yaşayabilmekle birlikte en hızlı 37^0C'de ürer. Koyun Kanlı Agar'da (KKA) ve basit besiyerlerinde kolayca üreyen *S.aureus*, KKA'da beta hemoliz yapar ve

Gliserol mono- asetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde 37^0C'de üretilirse, karotenoidlerden dolayı altın sarısı pigment oluşturur.[19,22,23]

2.1.1. Virülans Faktörleri ve Patogenez

2.1.1.1.Hücre Duvarı, Kapsül, Slime Faktörü

S.aureus'un hücre duvar yapısındaki başlıca antijenik yapılar peptidoglikan, teikoik asit ve protein A'dır. Peptidoglikan, stafilokoklarda N-asetilglukoz amin (NAGA) ve N-asetilmuramik asit (NAMA) monomerlerinin çapraz bağlanması ile meydana gelen ve bakteriye şekil ve elastikiyet kazandırıp osmotik basınca karşı bakteriyi koruyan yapıdır. Bununla birlikte *S.aureus*'un peptidoglikan tabakası Gram negatif hücre duvarında bulunan endotoksine benzer etki gösterir. Teikoik asit ise Gram pozitif hücre duvarındaki peptidoglikan tabakaya kovalent olarak bağlanmış fosfat içeren polimerlerdir. *S.aureus*'ta ribitol teikoik yapısında olan bu molekül antijeniktir ve mukozal yüzeylere stafilokokların adhezyonuna aracılık eder. Peptidoglikan ve teikoik asit komplementin aktivasyonu, yangı hücrelerinin kemotaksisininin inhibisyonu ve antikor üretiminin stimulasyonu gibi virulansa katkı sağlayan çok sayıda biyolojik aktiviteye sahiptir.[21,24,25]

Protein A, *S.aureus* hücre duvarında IgG'nin Fc bölgesine bağlanıp komplemanın aktive olmasını engelleyen bir proteindir. Hücre duvarına bağlı olarak bulunabildiği gibi üreme sırasında besiyeri ortamına da salgılanabilen bu protein kompleman aktivasyonunu engelleme özelliği ile opsonizasyonu ve fagositozu önler, ve önemli bir virulans faktörü olarak fonksiyon görür.[21]

Hücre duvar bileşenlerinin yanında *Staphylococcus* cinsinin %90'dan fazlasında bulunan polisakkarit yapıdaki kapsül de virülansta önemli bir rol oynar. Bu yapı bakteriyi fagositozdan korur.[26,27,28] *S.aureus* kapsüler polisakkarit antijenlerine göre 11 serotipe klasifiye edilmiş ve bunlardan en yaygın olanlarının serotip 5 ve 8 olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte *S.epidermidis* ile birlikte bazı *S.aureus* suşları da hücrelere ve prostetik cihazlara yapışmayı sağlayan ve böylece bakteriyi antibiyotik etkisinden ve immün cevaptan koruyan slime faktörü bulundururlar.[29,30]

2.1.1.2. Ekzotoksinler

Alfa toksin: Ökaryotik hücre membranlarının geniş spektrumuna göre davranan heterojen yapıda bir proteindir. Alfa toksin eritrositleri parçalayan güçlü bir hemolizindir.Bu toksin hem hemolitik hem de dermonekrotik etki göstermektedir. Aynı zamanda potansiyel bir nörotoksindir. Özellikle tavşan eritrositleri üzerine hemolitik etkinliği belirginken, insan eritrositleri üzerine bir etkinliği bulunmamaktadır.Defibrine koyun kanı katılmış kanlı agarda *S.aureus* kolonilerin etrafındaki hemoliz zonunun oluşumundan sorumludur.[21]

Beta toksin: Hücre zarlarındaki sfingomyelininin yıkımından sorumludur. Bu yüzden insan kırmızı kan hücrelerini de içeren birçok hücre için toksiktir. Koyun ve tavşan ile birlikte insan eritrositleri üzerine de hemolitik aktivite göstermektedir.[31] "Sıcak-soğuk hemolizin" adlı fenomenden sorumlu olan bu toksin aynı zamanda B grubu streptokoklar tarafından oluşturulan CAMP faktörü ile birlikte sinerjetik hemolizisten sorumludur.[21]

Gama toksin: İlk defa 1938 yılında saf olarak elde edilen bu toksin insan,

tavşan ve koyun eritrositlerini parçalarken at eritrositlerine karşı etkisiz olarak bulunmuştur. Beta toksin ile birlikte doku irritasyonuna neden olan Gama hemolizin, 6 adet toksinden oluşur ve bu toksinler ikişerli olarak bir araya gelerek Penton-Valentin Lökosidin'i de kapsayan 2 protein ile etkileşen 3 proteini oluşturur. Bu protein toksinlerinin 6'sı, sellüler membranlarda katyon geçirgenliğini artıran por oluşumundan dolayı beyaz kan hücrelerinin parçalanmasına neden olabilmektedir.[27]

Delta toksin: *Staphylococcus* suşlarının daha çok hastalık yapan türlerinde bulunan bu toksin ilk defa 1947 yılında tespit edilmiştir.Eritrosit ve lökositlerle birlikte trombosit hücre membranı üzerinde de hasara neden olur.

Teta toksin: Heterojen yapıdadır ve biyolojik membranları parçalar. *S.aureus*'a ait diyareli hastalıklarda bir role sahip olabilir.

Lökosidin: Polimorfonükleer lökosit (PNL) hücre membranları üzerine porlar açarak permeabiliteyi bozan ve bu etkisi ile PNL degranülasyonuna, hücrenin şişmesine ve ölümüne neden olan iki bileşenli bir toksindir. PNL parçalayıcı etkisi insan ve tavşan kanında belirgindir.Bu toksin özellikle TK-MRSA suşlarında önemli bir virulans faktörüdür.[21,32]

Eksfolyatif Toksinler: *S.aureus*'un bu epidermolitik toksinleri aynı molekül ağırlığında 2 farklı proteindir. Epidermolitik toksin A kromozomal bir gen ürünüdür ve 20 dk. kaynatmaya dirençlidir. Epidermolitik toksin B plazmid kaynaklıdır.Eksfolyatif toksinler, epidermisin mukopolisakkarid kaybı ile oluşan stafilokokal haşlanmış deri sendromunun ilerlemesine yol açmaktadır.[27]

Toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1): Ateş, üşüme, hipotansiyon, kusma, başağrısı, böbrek yetmezliği ve şok ile karekterize toksik şok sendrom (TSS) olarak adlandırılan bir multisistem hastalığından sorumludur.[33] TSS'li hastalardan izole edilen çoğu *S.aureus* suşlarının enteretoksin F olarak da anılan TSST–1'i ürettikleri

gösterilmiştir. TSST–1 bir süper antijendir ve bu özelliği sayesinde T hücre stimülasyonuna yol açan MHC-II moleküllerine nonspesifik olarak bağlanarak immün sistemin poliklonal uyarılmasına neden olmaktadır.[27,33]

Stafilokokkal Enterotoksinler (SE): SE'ler insanlarda gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olmaktadır. [21] Birçok enterotoksin bulunmaktadır (A-E, G-I, K-M). Yaklaşık olarak *S.aureus* suşlarının %50'si bunların biri ya da daha fazlasını üretebilmektedir. TSST-1 gibi, enterotoksinler de bir süper antijendir. Enterotoksinler ısıya stabildir ve bağırsak enzimlerine dirençlidir. Protein ve karbonhidrat içeren besinlerde *S.aureus* ürediği zaman enterotoksinlerin üretilmesi besin zehirlenmesinin önemli sebeplerinden biridir. 25µg enterotoksin B'nin mideye alınması ile tipik olarak kısa inkubasyon süresini (2-6 saat) takiben ortaya çıkan bulantı, kusma,karın ağrısı ve diyare ile seyreden bir gastroenterit tablosu gözlenmektedir.[21,27,33]

2.1.1.3.Diğer Ekstraselüler Komponentler

S.aureus staphylococcal serine protease (V8 protease; SspA), cysteine protease (SspB), metalloprotease (aureolysin; Aur) ve staphopain (Scp) olmak üzere 4 major ekstraselüler proteaz salgılar. Bu ekstraselüler proteazlar inaktif proenzim olarak salgılanır ve insanları enfekte etmedeki roller bilinmemektedir.[34]

Bu proteazlarla birlikte *S. aureus* koagülaz, stafilokinaz, lipaz, üreaz ve hylüronidaz gibi birçok enzim de salgılar. Koagülaz Ca^{+2} yokluğunda fibrinojeni fibrine dönüştürüp plazmayı pıhtılaştıran bir enzimdir ve *S. aureus* suşlarının %98-%99'u bu enzimi bulundurur.[35] Stafilokinaz ise koagülazın aksine plazminojene bağlanarak onun fibrinolitik bir enzim olan plazmine dönüştürür. *S. aureus* suşlarının %60-%65'i bu enzimi bulundurur. Hyalürinidaz mukopolisakkarid hyaluronatı hidrolize eden glikopeptid yapıda bir enzimdir.[36] Stafilokokal lipazın sübstrat yelpazesi çok geniştir

ve *S.aureus* suşlarının %95-100'ü ısı stabil nükleaz (termonükleaz) sentezlemektedir.[29]

2.1.2. Tanısal Laboratuvar Testleri

2.1.2.1. Gram Boyama

Staphylococcus spp. Gram pozitif boyanan kok morfolojisinde bakterilerdir. Gram boyama ile stafilokoklarda tür tayini yapmak mümkün değildir.

2.1.2.2. Katalaz Testi

Staphylococcus spp. ve *Streptococcus spp.*ayrımında önemli olan bu testin amacı bakterinin ürettiği toksik serbest radikalleri parçalayan katalaz enzimini taşıyıp taşımadığını göstermektir. Bu test için bir damla %3 Hidrojen Peroksit solüsyonu lam üzerine damlatılır ve bakteri kolonisi ile karıştırılır. Köpürme oluşumu (oksijenin serbest kalması) testin pozitif sonuç verdiğini göstermektedir. *Staphylococcus spp.* katalaz pozitifken *Streptococcus spp.* katalaz negatiftir.

2.1.2.3. Koagülaz Testi

S.aureus'u diğer *Staphylococcus* türlerinden ayırmak için yapılan testtir. Her ne kadar *S.aureus* ile birlikte *S.intermedius* ve *S.delphini* türlerinde de koagülaz pozitifliğine rastlanabilmekte ise de bu türler insanlarda nadiren hastalık etkenidirler. Kogülaz testi için 1\5 oranında disitile su ile seyreltilmiş sitratlı tavşan veya insan

plazmasından 3 ml steril tüpün içerisine konulur ve üzerine et suyu kültürü ya da agar üzerindeki kolonilerden eşit oranda alınarak karıştırılır ve 37˚C'de inkübasyona bırakılır. Tüp saat başı incelenerek 4 saate kadar inkübe edilir. Tüp içinde gevşek bir fibrin ağı oluşumu ya da tam bir pıhtılaşma olup olmadığı gözlenir. Eğer pıhtılar 1–4 saat içinde toplanırsa test pozitif olarak değerlendirilir.

2.1.2.4. Kültür

Staphylococcus spp. çoğu besiyerinde rahatlıkla ve hızlıca üreyebilen bakterilerdir. *S.aureus*'un beta hemoliz yapan ve sarı pigment oluşturan tipik kolonilerinin gözlenebilmesi için örnekler %5 KKA plaklarına ekilir ve 37˚C'de 18-24 saat inkübe edilir. Bununla birlikte kültürde *S.aureus*'u diğer *Staphylococcus* türlerinden ayıran önemli özellikler mannitolü fermente etmesi ve % 6.5-7.5 NaCl içeren besiyerlerinde üreyebilmesidir. Bu özellikleri sayesinde geliştirilen Mannitollü tuz agar veya birtakım ticari kromojenik besiyerleri, *S.aureus*'un hızlı tanısında kullanılabilmektedir.

2.2. Antibiyotik Direnci

S.aureus tarihindeki en önemli ve en çarpıcı özelliklerden biri de hiç şüphesiz antibiyotiklere karşı geliştirdiği dirençtir. İlk üretilen antibiyotik olan penisilin ile başlayan bu süreç daha sonraları yarı sentetik penisilinlerden olan metisilin direnci ile çoklu antibiyotik direncine neden olmuş nihayet günümüzde metisilin dirençli *S.aureus* suşlarında (MRSA) yaygın kullanılan glikopeptidlere direnç aşamasına ulaşmış ve

vankomisin intermediate *S.aureus* (VISA) ile vankomisin resistant *S.aureus* (VRSA) suşlarına rastlanmıştır.[37]

2.2.1. Beta Laktam Direnci

S.aureus'un penisiline direnci penisilinin seri üretime girdiği 1940'lı yılların hemen sonrasında başlar.[37] Bu direnç mekanizması penisilinin peptidoglikan sentezi aşamasında kullanılan enzimlere bağlanarak etki göstermesi özelliğine dayanır. Bakterideki hücre duvarı yapısının en önemli bileşeni olan peptidoglikan sentezi aşamasında gerçekleşen transpeptidasyon reaksiyonu penisilin bağlayan proteinler (PBP) tarafından gerçekleştirilir. PBP'lerin biri çapraz köprülerin yapımında rol alan transpeptidasyonda, diğeri glikan zincirinin uzamasını sağlayan transglikozilasyonda rol oynayan iki farklı protein domaini içermektedir. Penisilin ve diğer beta-laktam halkası taşıyan antibiyotikler, peptidoglikan sentezinde kullanılan kök peptidin terminalindeki D-alanil-D-alanin ucunun analoğudur ve bu özellikleri sayesinde transpeptidazın aktif bölgesine bağlanmak için kök peptidlerle yarışarak PBP'lerin transpeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitesini inhibe edip, çapraz bağlanmayı önlerler.[38,39,40] *S.aureus* kökenlerindeki ilk penisilin direnci 1944'te bildirilmiştir. Bu direnç bir beta laktamaz olan penisilinaz enzimi üretimi ile oluşmuştur. Penislinaz enzimi plazmid kaynaklıdır ve indüklenebilir bir gen olan bla tarafından kodlanarak penisilini inaktif bir bileşiğe parçalayıp etkisiz kılmaktadır. Bla geninin blaRI ve blaI olmak üzere iki komponenti bulunmaktadır. Bunlardan blaRI membran reseptörünü kodlar ve penisilin varlığında bu reseptör aktifleşerek gendeki blaI reseptörünü uyarır ve penisilinaz salgılanmasını sağlar. Başlangıçta sadece HK suşlarda ve nadir görülen penisilinaz salgılanması

günümüzde *S.aureus*'larda %95'in üzerinde gözlenmektedir.[38,27,41]

Bir beta laktamaz olan penisilinaz sentezleyen *S.aureus* suşlarına karşı 1960'larda geliştirilen yarı sentetik penislinler (metisilin, nafsilin, oksasilin) penisilinaza dayanıklıydı ve başlangıçta penisilinaz üreten suşlara karşı oldukça etkili oldukları görüldü. Ancak bu antibiyotiklerin kullanıma girmelerinden çok kısa bir süre sonra da "Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) olarak adlandırılacak suşlar ortaya çıkmaya başladı. MRSA olarak adlandırılan bu bakterilerin metisiline duyarlı suşlarda bulunmayan başka bir tür PBP ürettiği görüldü.PBP2a olarak adlandırılan bu enzim stafilokokların hücre duvarı sentezinde kullanılan PBP'in yapısından çok daha farklı bir morfolojide olup karbepenemler ve sefalosporinler de dahil tüm beta laktam antibiyotiklere karşı oldukça düşük bir afiniteye sahiptir. PBP2a kodlayan gen MRSA ya da MRSE kromozomuna entegre olan ve günümüzde A'dan E'ye kadar beş farklı kompleks şeklinde tanımlanan mec genidir. mec geni bakteri kromozomundaki 15-60 kb büyüklüğünde *staphylococcal* cassette chromosome mec (SCCmec) adlı mobil genin bir parçasıdır. Günümüzde SCCmec geninin sekiz tipi olduğu bilinmektedir. Bunlardan SCC tip 1,2,3 HK- MRSA suşlarında görülürken SCC tip 4, tip 5 bazen de tip 7 TK-MRSA suşlarında rastlanmaktadır.[42] SCCmec mobil gen bölgesinde PBP2a sentezinden sorumlu mec geni ile birlikte ccrA, ccrB ve ccrC genleri de bulunmaktadır.[29,42,43] ccrA, ccrB ve ccrC rekombinaz özelliği taşıyarak SCCmec gen bölgesine mobilizasyon kazandırmakta böylece bu gen bölgesinin kromozoma entegrasyonuna ya da kromozomdan ayrılmasına olanak sağlamaktadır.[37]

PBP2a'nın ekspresyonu penisilinaz geninin (bla), blaRI ve blaI regülatörlerinin homoloğu olan mecRI ve mecI regülatör determinantları aracılığıyla düzenlenmektedir. mecRI, membrana bağlı sinyal transdüksiyon proteini mecR1'i kodlarken, mecI ise mecA'yı baskılayan protein olan mecI adlı gen represörünü kodlamaktadır. Beta-

laktamaz sentezinin aksine metisilin direncinde PBP2a'nın sentezi için gereken indüksiyon daha zayıftır ve ve daha yavaş gerçekleşmektedir. Bu süre beta-laktamaz ekspresyonu için 5 dakika iken, PBP2a sentezi için 48 saate kadar uzayabilmektedir. Bunun nedeni, mecI adlı gen reseptörünün mecA geni için sıkı bir regülatör olması ve çoğu beta-laktam antibiyotiğin membrandaki mecR1 reseptörünü etkin bir biçimde aktive edememeleridir. Bu durum mecA geni taşımasına rağmen *S. aureus* suşlarının bazılarının metisiline duyarlı olmasına neden olur.[43,44]MRSA suşlarının beta laktamlar dışında eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim sulfametoksazol (TMP/SMX), kinolonlar ve aminoglikozidlere de direnç gösterdiği saptanmıştır.[27,45]

2.3. Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus*

1961 yılında ilk olarak İngiltere'de Colindale Hastanesi'nde izole edilen MRSA daha sonraları tüm dünyada HK olarak tanımlanmış ve 1990'lardan sonra TK olarak da izole edilmeye başlanmıştır.[46,47] Günümüzde özellikle ABD'de HK-MRSA ile TK-MRSA sıklığı birbirine yakın oranlarda seyretmekte ve TK-MRSA ile HK-MRSA ayrımı yapmak giderek zorlaşmaktadır. Yapılan çalışmalar TK-MRSA ile HK-MRSA suşları arasında epidemiyolojik, genotipik, fenotipik ve antimikrobial direnç açısından fark olduğunu ortaya koymuştur.[47,48]

TK-MRSA enfekisyonları son bir ay içinde evde, rehabilitasyon merkezinde ya da hastanede intravenöz tedavi ya da sağlık hizmeti almamış; üç ay içinde iki ya da üç günden fazla hastanede yatmamış; rehabilitasyon merkezi veya bakım evlerinde kalmayanlarda görülen enfeksiyonlar şeklinde tanımlanabilir.[46,47,48]

İlk TK-MRSA suşu Batı Avustralya'da yaşayan ve daha önce sağlık bakım sistemiyle hiç teması olmayan yerli Avustralyalı hastalardan izole edilmiştir. 1993 yılında TK-

MRSA olarak adlandırılan bu yeni MRSA suşları gittikçe artan oranlarda görülmeye başlanmış günümüzde sık görülen ve ciddi bir problem haline gelmiştir.[48,49]

TK-MRSA birçok non beta laktam antibiyotiğe duyarlı olması, CYDE başta olmak üzere kronik osteomiyelit, nekrotizan pnömoni ve ampiyemle birliktelik gösteren pnömoni olgularında sık karşılaşılması ve içerdiği SCCmec tipleri açısından HK-MRSA'dan birtakım farklılıklar taşımaktadır.Bununla birlikte TK-MRSA suşlarının birçoğu faj tarafından kodlanan ve insan PNL için yüksek spesifitesi nedeniyle lökositleri parçalayan, epitelyal hücre ve doku nekrozuna yol açan sitolitik bir toksin olan Panton-Valentin lökosidini (PVL) taşımaktadır.Yapılan çalışmalarda *S.aureus* suşlarının %5'inden daha azı tarafından üretilen PVL toksin geninin TK-MRSA suşlarının %40-90'ında bulunduğu gösterilmiştir. Bu durum özellikle influenza enfeksiyonlarına sekonder gelişen TK-MRSA suşları tarfından oluşturulmuş pnömonilerde mortalite ve morbiditenin yüksek olması ile ilişkilidir.[50-54]

2.3.1. MRSA Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Özellikle TK-MRSA suşları için folik asit sentezini bozup bakterisidal aktivite gösteren TMP-SMX ile birlikte bakteri 30S ribozom alt birimine bağlanıp tRNA-mRNA arasında kodon-antikodon etkileşiminin bozan tetrasiklin ve DNA giraz enzimini inhibe edip DNA replikasyonunu bozan florokinolonlar tedavi amaçlı kullanılabilmektedir.[55,56]Ayrıca PVL dahil çeşitli MRSA virülans faktörlerini ve ekzotoksin üretimini baskılayan klindamisin de HK-MRSA için yüksek direnç profilleri nedeniyle tercih edilmemekle birlikte TK-MRSA enfeksiyonlarında kullanılabilmektedir.[19,57]

Ancak özellikle HK-MRSA kökenlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi direnç açısından son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli sorunlar ortaya çıkarmaktadır.[58]Bu tür enfeksiyonların tedavisi için kullanılmakta olan başlıca antibiyotikler şunlardır;

Vankomisin: Glikopeptid yapıda olan ve MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde çok yaygın bir klinik kullanımı olan bakterisidal etkili bir antibiyotiktir. Halen MRSA enfeksiyonlarının tedavisi için hayati bir önem taşımakla birlikte son yıllarda özellikle HK-MRSA kökenlerinde MIC değerlerinin artması ile ortaya çıkan vankomisin intermediate resistant *S.aureus* (VISA) ve vankomisin resistant *S.aureus* (VRSA) suşları,vankomisin bakterisidal aktivitesinin beta-laktam antibiyotiklere göre daha geç ortaya çıkması, aminoglikozidlerle kombine edildiğinde nefrotoksisiteye neden olması açısından bir takım önemli sorunlar ortaya çıkmış ve MRSA enfeksiyonlarının tedavisi için klinik kullanıma başka antibiyotikler sunulmuştur.[58,59]

Linezolid: Oksazolidinon grubunun ilk ilacı olan linezolid etkisini protein sentezini inhibe ederek gösteren bakteriyostatik veya bakterisidal özellikte bir ilaçtır. Metisilin duyarlı *S.aureus* (MSSA), çoklu ilaç direnci gösteren *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus agalactiae* gibi birçok Gram pozitif mikroorganizmaya karşı etkin olan linezolide karşı VRE ve MRSA suşlarında direnç bildirilmişse de MRSA'ya karşı etkinliği halen yüksektir.[60,61] FDA tarafından 2000 yılında diyabetik ayak infeksiyonlarının da dahil olduğu komplike CYDE, TK ve HK pnömonilerde, VRE etkenli bakteriyemilerin de dahil olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır.[62,63] Bununla birlikte *Nocardia* ve *Mycobacterium* türlerine karşı da etkinliği bildirilmiştir.[64,65]Biyoyararlanımının yüksek olması ve hem oral hem de intravenöz kullanımının mümkün olması uzun süreli tedavi gerektiren infeksiyonlar için linezolidi uygun bir alternatif kılmaktadır. Linezolidin en sık yan etkileri ishal, bulantı ve baş ağrısı olmakla birlikte *Clostridium difficile* artışına bağlı olarak psödomembranöz enterokolit, kemik iliğinin baskılanması (anemi, lökopeni ve trombositopeni) laktik asidoz, periferal nöropati, optik nöropati bildirilen diğer yan etkilerdir.[66]

Daptomisin: Siklik lipopeptit yapıda semisentetik bir antibiyotiktir. Bakteri hücre membranı depolarizasyonu ile bakterisidal aktiviteye neden olur.[67] Komplike CYDE, kemik ve eklem enfeksiyonlarında etkin olan daptomisin sürfaktan tarafından antagonize edildiği için pnömoni tedavisinde kullanılmaz.[61,68,69] Günlük tek doz kullanımı ve düşük yan etki profili nedeniyle gram pozitif enfeksiyonların tedavisi için çekici bir seçenek olarak görülmektedir.[61,69,70]

Tigesiklin: Minosiklin türevi geniş etki spektrumlu sentetik bir antibiyotiktir.

Tetrasiklin gibi 30S ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini engeller.Tüm hayvan çalışmalarında dokulara dağılımının iyi olduğu gösterilmiştir. Özellikle CYDE ve karın içi enfeksiyonlarda etkilidir. Direnç gelişim potansiyelinin düşük olması ve geniş etki spektrumu çoklu direnç gösteren ve karışık türde mikroorganizmalarla ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde tigesiklini önemli bir yere taşımaktadır.[61,68,69]

Kinupristin-dalfopristin: Semisentetik streptogramin türevleridir. Difüzyon yoluyla bakteri hücrelerine girip, bakteriyel protein sentezini geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler. İki ajanın sinerjistik etkisi protein sentezinin hem erken hem de geç fazlarını durdurur. MRSA'ya karşı bakterisidal etkilidirler.[61,69]Makrolid ve linkozamidlerle bağlanma bölgelerinin yakın olması ve etki mekanizmalarının benzerliği nedeniyle MLS_B direnci görülme sıklığı yüksektir. Yan etkilerinden dolayı MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak tercih edilmezler.[61,69,70]

Oritavansin, dalbavansin ve telavansin: Semisentetik lipoglikopeptid yapıda olan bu antibiyotikler hücre duvarı biyosentezini inhibe ederek bakterisidal aktivite gösterirler. Oritavansinin etki spektrumu vankomisin ile benzerlik gösterir ancak bakterisidal etkinliği vankomisine göre daha hızlıdır. *S.aureus*'a bağlı bakteremide orivatansinin 10-14 gün 5-10 mg/kg dozunda vankomisin kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Telavansinin *S.pneumoniae* ve stafilokoklara karşı lipid sentezini bozarak ve membran hasarı yaparak etki ettiği bilinmektedir.Dalbavansin ise farmakokinetik profili açısından Gram pozitif etkenler tarafından oluşturulmuş komplike CYDE'nin tedavisinde linezolid kadar etkin bulunmuştur.[61,67,68,69]

Seftabiprol, seftarolin: Geniş spektrumlu beta laktamazlara dirençli parenteral

5. Kuşak Sefalosporinlerdir.[74] PBP-2a'ya karşı yüksek afinite gösteren bu antibiyotikler bu özellikleri sayesinde MRSA etkenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilen ilk beta laktam antibiyotiklerdir.MRSA ile birlikte Gram pozitif ve Gram negatif pek çok etkene karşı da etkili olan bu bu geniş spektrumlu ajanlar klinik enfeksiyonlarda da umut verici bir tablo çizmektedirler.[56,61,69,70,71]

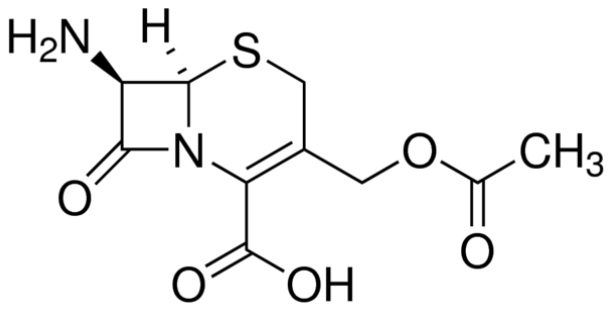
2.4. Sefalosporinler

Penisilinin antimikrobiyal etkisinin keşfinden sonra, 1945'te İtalya Cagliari Üniversitesi hijyen kürsüsü profesörü Giuseppe Brotzou kendi yaşadığı kentte tifoid ateşin diğer İtalyan kentlerine göre daha hafif seyretmesini sorgulaması ile sefalosporinlerin keşfine ışık tutulmuş oldu. Giuseppe Brotzou'nun bu durumun nedenine yönelik olarak yaptığı hipotezlerden biri de Sardunya Adası kıyılarına, şehrin lağım sularının döküldüğü yerlere yakın bölgeye yüzmeye giden gençlerin tifoid ateşi daha hafif geçirdiği üzerine idi. Bunun üzerine Sardunya Adası kıyılarından aldığı suyun *Salmonella* üzerine antibakteriyel etkisini araştıran Brotzou, bu sudan *Salmonella* ile birlikte birçok Gram negatif bakteriye karşı antibakteriyel etki gösteren bir mantar isole etti. *Cephalosporium acremonium* adlı bu mantarın örneklerini ve kendi bulgularını Oxford Üniversitesi'nden Brown ve Abraham'a sunan Brotzou sayesinde ilk kristalize sefalosporin molekülleri olan sefalosporin P, sefalosporin N ve sefalosporin C elde edildi. Bundan sonra 1964'de E. Lilly adlı ilaç firması "sefalotin"i ilk ruhsatlı sefalosporin olarak piyasaya sürdü. Bu yıldan itibaren penisilinin önemli bir alternatifi olarak kullanıma giren sefalosporinler günümüze kadar geliştirilerek halen etkili bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadırlar. Özellikle parenteral kullanılan

penisilinlere oral alım üstünlüğü olan üyeleri ile 70'in üzerinde alt bileşiği olan bu ilaç grubu, antibiyotikler içinde çok ciddi bir oranı kapsamaktadırlar.[72,73,74]

β-laktam grubu içinde yer alan sefalosporinler, ana biyokimyasal yapısında ortak yapı olarak 7-Amino Sefalosporinik Asit (7-ASA) taşırlar.(Şekil2.1.) Bu yapı 6-Amino Penisilinik Asit yapısına benzeyen ancak iki uç kısmında R1 ve R2 kısımları taşıyan ve bu sayede sentetik olarak yeni ilaç geliştirmeye daha uygun olan bir yapıdır.Bu özellik sayesinde günümüze kadar 5 farklı kuşakta birçok sefalosporin grubu antibiyotik sentezlenmiştir.[72,75,76]

Resim 2.1. 7-ASA Biyokimyasal Yapısı.



2.4.1. Birinci kuşak sefalosporinler

İlk bilinen ve Gram pozitif bakterilere etkinliği sonraki kuşaklardan daha fazla olan sefalosporinlerdir.Bu grup içinde başlıca sefalotin, sefazolin, sefaleksin, sefadroksil bulunmaktadır.İlk kullanıma giren sefalotin yan etkilerinden dolayı ilerleyen yıllarda yerini sefazoline bırakmıştır. Sefazolin günümüzde özellikle cerrahi profilakside ve cerrahi enfeksiyonlarda yaygın olarak tercih edilirken, sefaleksin daha çok pediyatrik

yaş grubu için A grubu beta-hemolitik streptokokların neden olduğu akut tonsillofarenjitlerde ve CYDE oral olarak kullanılanılabilmektedir.[75]

2.4.2. İkinci kuşak sefalosporinler

Bu grup hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere etkinlik gösteren üyere sahiptir. Diğerlerine göre nisbi olarak BOS'a geçiş üstünlüğü olan sefuroksimle beraber sefaklor, sefamendol, sefonisid, sefprozil de bu grupta bulunmaktadır.Özellikle alt ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, otit, sinüzit ve tonsillit tedavisinde etkin olan bu grup üriner sistem enfeksiyonlarında daha çok profilaktik amaçlı tercih edilmektedir.

2.4.3. Üçüncü kuşak sefalosporinler

Beta-laktamazlara daha dayanıklı üyelere sahip olan bu grup geniş etki spektrumları ile keşfedildikleri 1980'lerde antibiyoterapide yeni bir dönem başlatmışlardır. Hem Gram negatif hem de Gram pozitif etkinliği yüksek olan bu grup içinde ülkemizde ve dünyada en sık kullanılan seftriakson; antipsödomonal etkinliği en fazla olan seftazidim; oral kullanılabilen sefiksim ve sefdinir ile birlikte sefotaksim bulunmaktadır.[75,77]

Seftriakson yarı ömrü en uzun olan, paranteral kullanılan ancak kas içi de uygulanabildiği için ayaktan parenteral antibiyotik tedavisi uygulamasına uygun olan, BOS'a, eklem sıvılarına ve seröz boşluklara geçişi yeterli olan önemli bir antibiyotiktir.[78] En sık makülopapüler döküntü yapmasının yanısıra diğer sefalosporinlere oranla daha fazla diyareye neden olur. Bununla birlikte hepatotoksisite, safra koyulaşması, safra çamuru, hemolitik anemi, hematüri, anaflaksi görülebilen diğer

yan etkileridir.[79]

2.4.4. IV. kuşak sefalosporinler

Daha çok gram negatif bakterilere karşı etkin olan bu grubun başlıca üyesi sefepimdir. Sefepimin Gram pozitif etkinliği birinci kuşaktan azdır. Bununla birlikte bir üçüncü kuşak olan sefotaksim kadar Gram pozitif etkinliği olması ve antipsödomonal etkinliğinin seftazidime benzerliği, sefepimin bazı kaynaklarda geniş spektrumlu 3. Kuşak Sefalosporin olarak kabul edilmesine sebep olmaktadır.[80] Sefepim yalnızca parenteral olarak kullanılabilir. BOS'a geçişi iyidir. Menenjitte ve özellikle febril nötropenin ampirik tedavisinde halen tercih edilen bir antibiyotiktir. Ancak son yıllarda yapılan bazı meta analizlerde sefepim kullanan febril nötropenili hastalarda mortalitenin, diğer antipsödomonal beta-laktam kullanan hastalara oranla daha yüksek olduğunun gösterilmiş olması sefepimin etkinlik ve güvenliğinin sorgulanmasına yol açmıştır.[81,82]

2.4.5. V. kuşak sefalosporinler

Diğer beta-laktamların aksine MRSA dahil Gram pozitif patojenlere, birçok Gram negatif bakteriye etki eden yeni bir grub sefalosporin üyeleridir.Bu grupta seftarolin, seftobiprol yer alır.

2.4.5.1.Seftobiprol

İntravenöz uygulanan yeni bir sefalosporin olan seftobiprol, MRSA'daki PBP-2a

ile birlikte penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*'nin PBP-2x, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'nın PBP-3'üne de bağlanabilmektedir.[83] AmpC beta-laktamaz ile inaktivasyona seftarolinden daha dirençli olmakla birlikte GSBL, karbapenemaz ve OXA-10 beta-laktamazlar tarafından parçalanır.[84] GSBL üreten bakteriler ile *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Acinetobacte*r türleri etki spektrumunun dışında kalır. Ancak sefepim ve seftazidim gibi anti-psödomonal etkinliği vardır.*Enterococcus faecali*s'e etkilidir ama *Enterococcus faecium*'a etkisizdir.[77,83] Seftobiprol, seftobiprol-medokaril adlı ön ilaç olarak kullanılır. Plazma esterazları tarafından parçalanarak aktif hale dönüştürülen seftobiprolün büyük kısmı metabolize edilmeden böbrek yoluyla atılır. Böbrek fonksiyonları normal olanlarda önerilen günlük doz 8-12 saat arayla 500 mg olup 2 saatlik i.v. infüzyon seklinde uygulanır. Böbrek yetmezliğinde doz azaltımına gidilmelidir. Karaciğerde metabolize edilmediği için karaciğer yetmezliğinde doz değişimi gerekmez.[83,84]Komplike CYDE veTK-Pnömoni etkenlerine karşı etkili bulunmuştur. İlk olarak Kanada ve İsviçre'de onay alan settobiprol daha sonra geri çekilmiştir. Amerika ve Avrupa'da onay süreci devam etmektedir.[85,86]

2.5. Seftarolin

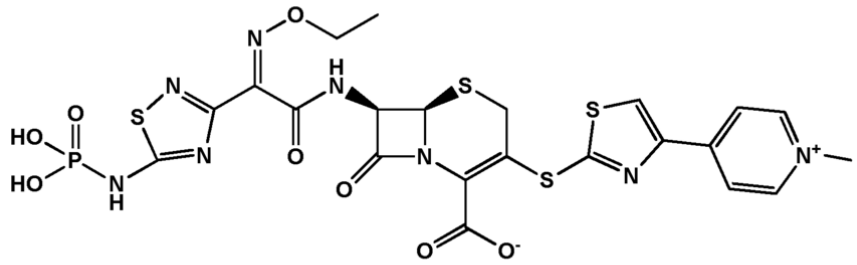
Seftarolin fosamil (TAK-599 ya da PPI-0903), Takeda Pharmaceutical şirketi tarafından sentezlenip Cerexa ve Forest şirketleri tarafından geliştirilen seftarolinin ön ilaç formudur.[87] CLSI moderatörleri tarafından MRSA'lara etkili yeni kuşak sefalosporin grubu üyesi şeklinde tanımlanan seftarolin literatürde 5. Kuşak Sefalosporin grubu üyesi olarak da bilinmektedir.[88] FDA onayı almak için ikisi CYDE ikisi Tk-Pnömoni için yapılan dört adet Faz 3 klinik çalışması tamamlanan seftarolin için FDA 29 Ekim 2010'da CYDE ve TK-Pnömoni endikasyonlarında kullanım onayı

vermiştir.[89-93]

2.51. Biyokimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

Seftarolin bir 4.Kuşak Sefalosporin olan sefozopranın biyokimyasal yapısı üzerinde değişiklikler yapılarak üretilmiştir.[94] Ön ilaç olarak vücuda alınan seftarolin fosamil sudaki çözünürlüğünü artırmak amacı ile eklenmiş fosfat grubunu plazmada çözündüğü zaman kaybederek seftarolin aktif formuna dönüşür.(Şekil 2.2) Biyokimyasal kapalı formülü ve moleküler ağırlığı sırasıyla $C_{22}H_{21}N_8O_8PS_4 \cdot C_2H_4O_2 \cdot H_2O$ ve 762.75 dalton olan seftarolinin MRSA'lara etkinlik kazandıran özelliklerinden sefalosporin iskeletinin 3. pozisyondaki karbonuna 1,3-tiazol halkasının eklenmesi ve 7. karbonundaki açil grubuna bağlı olan oksim grubu sorumludur.[94] Seftarolin bu biyokimyasal yapısı sayesinde diğer beta laktam antibiyotikler gibi PBP'lere bağlanarak baktesidal etki göstermekle birlikte PBP'lerin farklı bölgelerindeki zincirlere bağlanarak MRSA ve penisilin dirençli *S.pneumoniae* etkinliği kazanmaktadır.[93,95] Böylece farklı yapıda olan PBP 1, PBP 2, PBP 3 ve MRSA'larda bulunan PBP 2a'ya karşı yüksek afinite gösteren seftarolinin etkinliği artmaktadır.[93,95,96,97] Seftarolinin diğer beta laktamların aksine PBP 2a'ya olan afinitesinin yüksek olmasının nedenleri arasında protenin aktif bölgesine bağlanmak için PBP 2a'da yapısal bir değişimi tetiklediği de sayılmaktadır.[98]

Şekil 2.2. Seftarolin fosamilin Biyokimyasal Yapısı.



2.5.2. Etki Spektrumu

CLSI önerileri doğrultusunda seftarolinin in vitro altivitesi dünya çapında agar dilüsyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak test edilmiştir.[99-102]Yapılan bu çalışmalarla seftarolinin aerop Gram pozitif etkenlere, solunum yolu patojeni olan aerop Gram negatif patojenlere ve anaerop Gram pozitif bakterilere etkili olduğu gösterilmiştir.[8,99,103,104,105] Seftarolin PBP-2a'ya bağlanarak MRSA'ya etki ettiği gibi VISA, hetero dirençli vankomisin orta duyarlı *S.aureus* (hVISA) ve VRSA'ya da etkili bulunmuştur. Vankomisine orta duyarlı *S.aureus* suşları için $MİK_{90}$ değeri linezolide benzer bulunan seftarolin, aynı zamanda streptokok ve Gram negatif bakteri infeksiyonlarında da kullanılabilmektedir.Ancak seftarolinin *E.faecalis* üzerine etkisi zayıftır ve *E.faecium*'a etkisizdir. Gram negatif etki spektrumu seftobiprole göre biraz daha dardır. Bütün *Enterobacteriaceae* içerisinde GSBL üretmeyen *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* ve *Proteus mirabilis*'e olan etkinliği diğer geniş spektrumlu sefalosporinlerden seftriaksona benzemektedir.[8,85,104,105,106] Özellikle AmpC beta laktamaza karşı dayanıksız olan seftarolin MİK değerleri duyarlılık sınırlarında dahi görülse AmpC beta laktamaz üreten bakterlerce oluşturulmuş enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamalıdır.[106,107] GSBL üreten *E.coli,*

K.pneumoniae, Proteus mirabilis seftaroline dirençli olmakla birlikte amikasin ile kombine tedavilerde seftarolinin GSBL üreten suşlara karşı sinerjistik etki ettiği ve bu kombinasyonun *P.aeruginosa*'ya da etkili olduğu gösterilmiştir.[18,19,21]Seftarolinin *A.baumannii* ve *S.maltophilia* suşlarına karşı etkinliği yoktur.[18] Buna karşılık *Neisseria meningitidis, Moraxella catarrhalis, H.influenzae* üzerine etkinliği yüksektir.[18,19,20] *Clostridium difficile* haricine anaerop gram pozitif bakterilere karşı etkili olan seftarolin, *Bacteroides fragilis* gibi anaerop gram negatif bakterilere karşı zayıf etkildir.[108,109]

2.5.3. Farmakokinetik Profili

Farmakokinetik araştırmalarda seftarolinin etkisinin doz bağımlı olduğu ve diğer sefalosporinler gibi böbrek yoluyla atıldığı belirlenmiştir.[110] Tek doz 500 mg i.v. infüzyon şeklindeki seftarolin fosamil uygulanmasından sonra maksimum plazma kontsantrasyonunun (C_{max}) 16.6mg/L ve eğri altında kalan sıfırdan sonsuza alanın ($EAA_{0-\infty}$) 44.8 sa.mg/L olduğu tespit edilmiştir.[110] Multipl dozda 14 gün boyunca günde 600 mg i.v. seftarolin fosamil uygulamasını takiben ise C_{max} 21.3 mg/L ve kararlı durum konsantrasyonunda eğri altında kalan alanının (EAA_{ss}) 56.2 sa.mg/L olduğu gözlenmiştir.[110] Seftarolinin santral ve periferal kompartmanlardaki dağılım hacmi sırasıyla 17.3 L ve 4.89 L şeklinde bulunmuştur.[7,111] Proteinlere bağlanma oranı %20 olarak tespit edilen seftarolin 500 mg'lık tek doz uygulama sonrası plazma yarılanma ömrü 2.53 saat iken 14 gün boyunca günde 600 mg'lık multipl dozda uygulamayı takiben bu değer 2.66 saat olarak hesaplanmıştır.[110,112] Renal klirensinin ise tek doz uygulamada 93.5 mL/dk ve multipl doz uygulamada 118.9 mL/dk olduğu belirlenmiştir.[110] Renal kreatin klirensi >50–80 mL/dk olan kişilerde seftarolinin EAA ve yarı ömür değerleri sırasıyla % 25 daha fazla ve %14 daha uzun olduğu görülmüştür.

Ancak bu tür hafif böbrek yetmezlikli hastalarda seftarolin doz kısıtlamasına gerek yoktur. Renal kreatin klirensi >30–50 mL/dk olan orta derecede böbrek yetmezliği olan kişilerde ise EAA %50 daha yüksek saptanmıştır. Bu hastalarla birlikte renal kreatin klirensi 15–30 mL/dk olan ağır böbrek yetmezlikli kişilerde seftarolin doz kısıtlamasına gidilmesi gerekmektedir.[113-117]

2.5.4. Farmakodinamik Profili

Farelerde oluşturulan femur enfeksiyonları ve tavşanlarda oluşturulan akciğer enfeksiyonlarında in vivo olarak kullanılan seftarolinin bu dokulara geçişinin başarılı olduğu tespit edilmiştir.[118,119,120] Fare ve tavşanlarda *S.pneumoniae, S.aureus* ve *E.coli* suşları ile yapılan femur ve akciğer enfeksiyonu modellerindeki çalışmalar seftarolinin farmakokinetik/farmakodinamik indeksini (PK/PD) belirlemek için efikasite ile çok iyi korelasyon gösteren 24 saatte antibiyotik konsantrasyonunun MİK değeri üzerinde kaldığı toplam sürenin oranının (%T>MİK) daha güvenilir olduğunu göstermiştir.[118] Bu değer bir farmakolojik parametre ile mikrobiyolojik parametrenin kombinasyonunu sağlamakta ve seftarolinin etkinliğini ölçmek için tek başına bir mikrobiyolojik parametre olarak kullanılan MİK'ten de daha anlamlı bir sonuç veremektedir. Buna göre *S. pneumonia* için 1 log ve 2 log'luk bir öldürme sağlamak amacıyla ulaşılması gereken % T>MIC değerleri sırasıyla 1 log azaltma için 39, 2 log azaltma için 43 ve 50 şeklinde iken *S.aureus* için bu değreler 26, 33 ve 45 şeklinde gözlenmiştir.Bir tavşan modelinde tek doz uygulama ile seftarolinin akciğer dokusuna geçiş oranının % 42 olduğu tespit edilmiştir.[119] Femur ve akciğer enfeksiyonu oluşturulmuş fare modellerinde ise *S.pneumoniae* ve *E.Coli* için az oranda bir post antibiyotik etki (PAE) gözlenirken *S.aureus* için bu etki daha uzun bulunmuştur.[118] Doz yükseldikçe *S.pneumoniae* ve

E.Coli için PAE değerleri sırasıyla 21.9-1.5 saat ve 20.33-5.7 iken bu değer *S.aureus* için 0.8-7.2 saat olarak tespit edilmiştir. Bir in vitro çalışmaya göre seftarolinin PAE'si gram pozitif koklar için sub-MİK değerlerinde de devam etmektedir.[121] Bakteriostatik etki seftarolin ilaç miktarı 0.4× MİK seviyesinin altına inene kadar devam eder. Bu süpresyon seftarolin plazma MİK değerine ulaştıktan sonra Pnömokoklar için 2.5–8.4 saat, Stafilokoklar için 2.9–10.8 h saat ve Enterokoklar için 7.9–10.6 saat olarak gözlenmiştir.

Seftarolinin normal bağırsak florası üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı sağlıklı denekler üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.[122] Seftarolinin gastrointestinal flora üzerinde anlamlı bir ekolojik etkiye sahip değildir. Bu etkilerin başlıcaları *E.coli*, Bifidobakteriler ve Laktobasil sayısında hafif düşme ve *Clostridium spp.* sayısında hafif artış olarak gösterilebilir. Enterokok , *Bacteroides spp.*ve *Candida albicans* sayısında bir değişim gözlenmemiştir. Seftarolin için yapılan Faz 3 çalışmaları boyunca CYDE tedavisi amacıyla seftarolin verilen 693 hastanın sadece 2'sinde *Clostridium difficile* toksini tespit edilmiştir.(123) TK-Pnömoni amacıyla Faz 3 çalışmasına alınan hiçbir hastada *Clostridium difficile* toksini gözlenmemiştir.[124]

2.5.5. Kullanım Dozu

Seftarolin fosamil 18 yaşından büyükler için her 12 saate bir 600 mg i.v. olarak 1 saatlik infüzyon şeklinde uygulanır. Böbrek yoluyla atıldığı için orta ve ağır derecede böbrek yetmezliği olan hastalarda doz kısıtlamasına gidilmesi gerekmektedir. Özellikle renal kreatin klirensi 30–50 mL/dk olan olan hastalarda günlük doz her 12 saatte bir 400 mg'a düşürülmelidir.Bununla birlikte ileri düzeyde renal yetmezliği olan renal kreatin klirensi 15–30 mL/dk olan hastalarda günlük doz 12 satte bir 300 mg'a, hemodiyaliz

ihtiyacı olan son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda ise 12 satte bir 200 mg'a düşürülmelidir.Seftarolin tek kullanımlık 600 mg ve 400 mg steril toz şeklindeki ambalajlarla kullanıma sunulmaktadır. Steril toz halindeki etken madde 20 ml steril su ile sulandırıldıktan sonra 250 ml %0.9'lik Serum Fizyolojik, %5'lik Dekstroz, %2.5'lik Dekstroz, % 0.45'likSerum Fizyolojik ya da Ringer Laktat ile dilüe edilerek 1 saatlik infüzyon şeklinde kullanılır. Çözülen etken madde oda ısısında ise 6 saat içerisinde, buzdolabında bekletilirse 24 saat içerisinde kullanılmalıdır. Sağlıklı yetişkinlerde 600 mg'lık seftarolin fosamil etken maddesinin intramusküler enjeksiyonunun birtakım sistemik yanıtlara neden olduğu görülmüştür.[125]

2.5.6. Güvenirliliği

TK-Pnömoni ve CYDE enfeksiyonları tedavisi için kullanılan seftarolin için en sık belirtilen yan etkiler karın ağrısı, baş ağrısı ve diyaredir.[123,124] Şiddetli yan etkiler görülen hasta oranı %8 iken tedaviye devam edilemeyecek şiddette ağır yan etki görülen hasta oranı %4 olarak bulunmuştur. Tedaviye devam etmeyi engelleyecek en sık yan etki ise hastaların % 0.3-0.5 kadarında görülen hipersensitivite olarak tespit edilmiştir. Bütün hasta grubunun %8'sinde ciddi yan etkiler gözlenmiştir. Gebelik kategorisi B olarak sınıflandırılan seftarolin için halen pediatrik yaş grubundaki popülasyonu kapsayan bir çalışma yapılmamıştır.

2.5.7. İlaç Etkileşimleri

Seftarolin fosamile yönelik olarak ilaç etkileşimleri hakkında litatürde yapılmış klinik çalışma bulunmamaktadır. Seftarolin fosamil için yapılan Faz 2 ve Faz 3

çalışmalarında seftarolinin etkinliği konusunda (EAA veya C_{max}) CYP450 aktivatörü ya da inhibitörü olan ya da böbrek yoluyla atılan veya böbrek kan akımını değiştiren ilaçlar kullanan hastalarla kullanmayan hastalar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte seftarolin in vitro olarak karaciğer mikrozomlarının olduğu ortamda inkübe edildiğinde CYP450 enzimlerinin aktivisinde bir değişime sebep olmadığı görülmüştür. Bütün bu veriler seftarolinin ilaç etkileşimi için düşük bir eğileme sahip olduğunu düşündürmektedir.[94]

2.5.8 CLSI ve EUCAST'ta Seftarolin

Hem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) hem deEuropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2014 ve sonraki basımlarında seftarolin için duyarlılık sınır değerlerini içermektedir. CLSI *Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp.,Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus parainfluenzae, Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus spp. β-Hemolitik Grup* için seftarolin duyarlılık sınır değerlerini belirtmektedir. Buna göre *Staphlococcus spp.* için 30 µg'lık seftarolin emdirilmiş diskler kullanıldığında ≥24mm duyarlı, 21–23mm orta duyarlı ve ≤20mm dirençli olarak bildirilmiştir. MİK değerlerine göre ise ≤1µg/mL duyarlı, 2µg/mL orta duyarlı ve ≥ 4µg/mL dirençli şeklinde belirtilmiştir.[126]

EUCAST ise seftarolin için *Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp.,Streptococcus pneumonia* ve *Haemophilus influenza* için duyarlılık sınır değerleri belirtirken Grup A,B, C ve G Streptokoklar için benzilpenisillin duyarlılığı için belirtilen kriterlerin kullanılmasını önermektedir. Bu değerlere göre *Staphylococcus spp.* için 5 µg'lık seftarolin emdirilmiş diskler kullanılarak duyarlılık

sınır değerleri ≥ 20 mm duyarlı, <20 mm dirençli olarak belirtilmektedir. MİK değerlerine göre ise ≤1 µg/mL duyarlı ve >1µg/mL dirençli şeklinde bildirilmesi önerilmektedir. Ayrıca *Staphylococcus spp*. için metisilin duyarlı suşların test edilmeksizin seftarolin duyarlı olarak rapor edilebileceği vurgulanmıştır.[127]

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Madde ve Cihazlar

1. Kanlı Agar (Blood Agar Base) (Oxoid)
2. Mueller-Hinton Broth (MHB) (Merck)
3. Mueller-Hinton Agar (MHA) (Merck)
4. Dimetil Sülfo Oksit (DMSO)
5. Hassas Terazi
6. Ceftaroline Fosamil Powder (Astra Zeneca)
9. McFarland Densitometre (Biosan)
10. Büyüteç
11. Linezolid E-test Strip (BioMerioux)
12. Vankomisin E-test Strip (BioMerioux)
13. U Tabanlı ELISA Mikroplate

3.2. Bakteri Kökenleri

Ocak 2010 - Aralık 2014 tarihleri arasında, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gönderilen farklı klinik örneklerden (yara, kan, idrar) izole edilen 98 MRSA suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Bütün suşlar için hem konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, katalaz testi, koagülaz testi, sefoksitin duyarlılığı..) hem de VİTEK 2 otomatize sistemi (BioMerieux) kullanılarak bakteri tiplendirmesi yapılmıştır. Tiplendirme yapılan MRSA suşları çalışma zamanına kadar -70^{0}C de % 10'luk gliserinli buyyon besiyerinde

saklanmıştır.

Çalışmada *S.aureus* (American Type Culture Collection) ATCC 43300 ve ATCC 29213 suşu kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

3.3. Mikrodilüsyon Yöntemi ile Seftarolin Etkinliğinin Araştırılması

Dondurulmuş olarak %10'luk gliserinli buyyon besiyerinde -70^{0}C'de saklanan 98 MRSA suşu kontrol suşu ile birlikte %5 Koyun Kanlı Agar (KKA) besiyerine ekilmiş ve etüvde aerobik ortamda, normal atmosferde, 37°C'de, 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında saf olarak elde edilen bakteri kolonileri manuel yöntemler ile tekrar tiplendirilmiş ve MRSA olarak doğrulanan suşlar çalışmada kullanılmıştır. Her hastadan sadece bir klinik örnek çalışmaya dâhil edilmiştir.

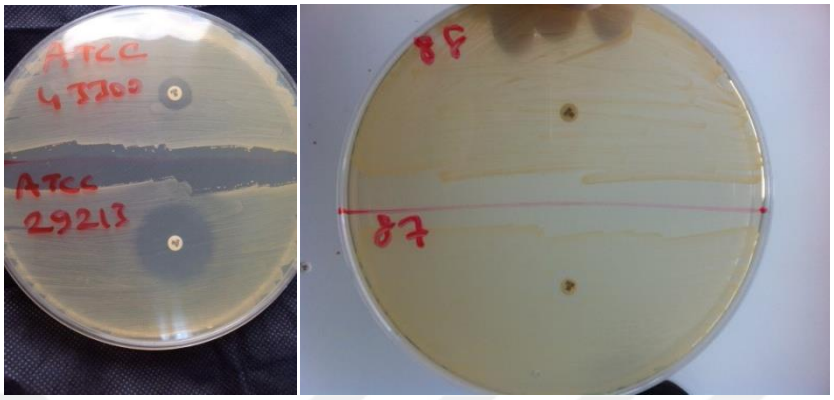
Seftarolin için yapılacak mikrodilüsyon yöntemi için; KKA yüzeyinde üreyen MRSA saf kolonilerinden 1-2 tane alınarak, % 0.85'lik serum fizyolojik ile McFarland 0.5 (10^8 cfu/ml) standardına göre ayarlanarak yaklaşık 2 ml'lik süspansiyonlar hazırlanmıştır. McFarland süspansiyonları 1/100 sulandırılarak yaklaşık 10^6 cfu/ml'ye ayarlanmıştır. Daha sonra çalışılması planlanan en yüksek MİK değerinin en az dört katı konsantrasyonda seftarolin etken maddesinden antibiyotik stok solüsyonları hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle çalışmada kullanılacak miktar seftarolin tozu (Zinforo®, AstraZeneca, İngiltere) %100'lük dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözdürülmüş, CLSI önerileri doğrultusunda DMSO içerisinde çözdürülen seftarolin etken maddesi üzerine son konsantrasyonda % 30 DMSO olacak şekilde % 0.85'lik steril serum fizyolojik eklenip sulandırma işlemi yapılmıştır.[(126)]Hazırlanan antibiyotik stok solüsyonundan, içlerine öncesinde 100'er µl MHB konulmuş kuyucukların ilkine 100 µl eklenmiş ve mikropipet kullanılarakyana doğru sondan iki önceki kuyucuğa

kadar seri dilüsyon yapılmıştır. Sondan iki önceki kuyucuktan pipete çekilen 100 µl ilaç-MHB çözeltisi dışarı atılmıştır. Son iki kuyucuğa biri üreme kontrol kuyucuğu ve diğeri besiyeri kontrol kuyucuğu olacak şekilde antibiyotik ilave edilmemiştir. Daha sonra 10^6 cfu/ml'ye ayarlanan bakteri süspansiyonlarından 100 µl tüm kuyucuklara eklenmiştir. Sadece sterilite kontrol kuyucuğu olarak kullanılacak sondan bir önceki kuyucuğa bakteri süspansiyonu eklenmemiştir.24 saat sonra sonuçlar CLSI önerileri doğrultusunda iki farklı araştırmacı tarafından çift kör olarak değerlendirilmiş ve elde edilen MİK değerleri kaydedilmiştir. CLSI kriterlerine göre MİK değerleri ≤ 1 µg/mL olan izolatlar duyarlı, 2 µg/ml olanlar orta duyarlı, ≥ 4 µg/ml olanlar ise dirençli olarak kabul edilmiştir.

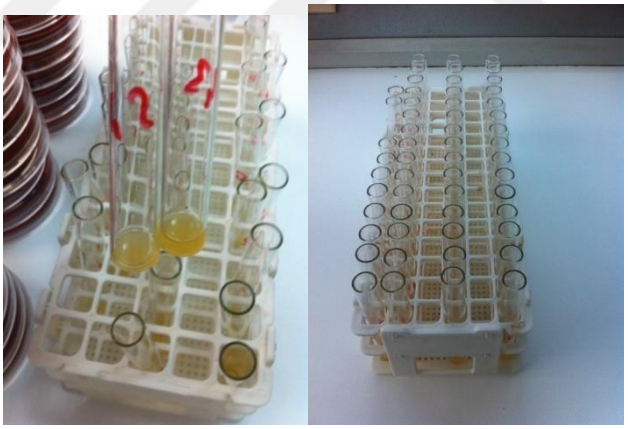
3.4. Diğer Antibiyotikler İçin Duyarlılık Araştırılması

Çalışmaya dahil edilen MRSA suşları için çalışma öncesinde vankomisin ve linezolidin MİK değerleri E-test yöntemi ile belirlenmiştir. E-test için üretici firmanın önerileri doğrultusunda (BioMeriux, France); elde edilen saf bakteri kolonilerinin Mueller Hinton Buyyon'unda (MHB) 0.5 McFarland Standard bulanıklığına eş süspansiyonları elde edilmiştir. Bunlardan da steril eküvyon çubukları ile laboratuvarımızda hazırlanan ve önceden kurutulmuş olan Mueller-Hinton Agar besiyerlerine yüzey ekimleri yapılmış, pens yardımı ile antibiyotiklerin E-test şeritleri, besiyeri plaklarına yerleştirilmiştir. Aerobik ortamda, normal atmosferde, 35±2°C de ve 18-24 saat inkübasyon sonucunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun şeritle kesiştiği nokta sayısal MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Her bir antibiyotiğin MİK değerleri üretici firma ve CLSI önerilerine uygun olarak ölçülmüş ve sonuçlar CLSI'nın sınır değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir.[126]

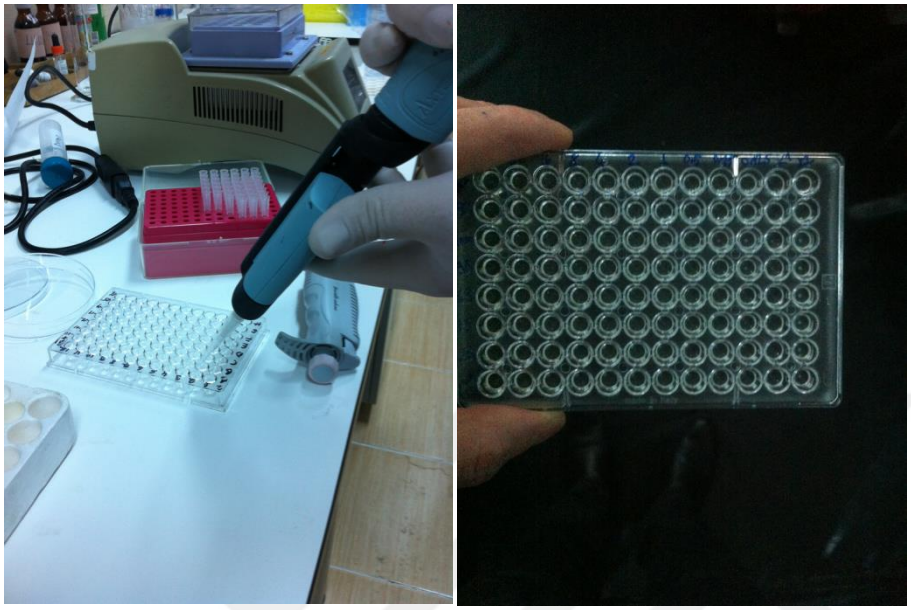
Resim 3.1. Sefoksitin Diski ile Metisilin Direncinin Araştırılması.



Resim 3.2. Tüpte Koagülaz Testi ile Koagülaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi.



Resim 3.3. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Seftarolin Duyarlılığının Araştırılması.



Resim 3.4. E-test Yöntemi ile Vankomisin ve Linezolid Duyarlılığının Araştırılması.



3. BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan MRSA suşları 13 farklı serviste yatan hastalardan izole edilmiştir. MRSA suşları en fazla İç Hastalıkları, Ortopedi ve Travmatoloji ile Beyin Cerrahisiservislerinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan MRSA suşlarının servislere Tablo 4.1'deverilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan MRSA İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı.

Servis	**Sayı**	**Yüzde**
İç Hastalıkları	16	16.3
Ortopedi ve Travmatoloji	16	16.3
Beyin Cerrahisi	15	15.3
Pediatri	13	13.3
Anestezi ve Reanimasyon	10	10.2
Enfeksiyon Hastalıkları	6	6.1
Genel Cerrahi	6	6.1
Nöroloji	5	5.1
Üroloji	4	4.1
Göğüs Cerrahisi	3	3.1
Kardiyoloji	2	2
Kulak Burun Boğaz	1	1
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi	1	1
Toplam	98	100

Çalışmaya dahil edilen MRSA suşları yara, kan ve idrar olmak üzere 3 farklı klinik örnek türünden izole edilmiştir. Suşlar en fazla yara en az ise idrar örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen suşların klinik örneğin türüne dağılımları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışılan MRSAİzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı.

Klinik Örnekler	**Sayı**	**Yüzde**
Yara	55	56.1
Kan	29	29.6
İdrar	14	14.3
Toplam	98	100

Çalışmaya dahil edilen bütün MRSA suşları seftarolin, vankomisin ve linezolide duyarlı olarak bulunmuştur. Seftarolin için en düşük ve en yüksek MİK değerleri ($MİK_{min-max}$) 0.125-1 µg/mL iken $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 0.5 µg/mL ve 1 µg/mL olarak gözlenmiştir. Vankomisin için $MİK_{min-max}$ değerleri 0.75-1.5 µg/mL, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri ise 1 µg/mL ve 1.5 µg/mL iken linezolid için bu değerler sırasıyla 0.38-1.5 µg/mL, 0.75 µg/mL ve 1 µg/mL olarak tespit edilmiştir. MRSA suşları için seftarolin, vankomisin ve linezolid MİK değerleri; $MİK_{min-max}$değerleri; $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Tablo 4.3. MRSASuşlarında Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin MİK değerleri (µg/mL).

Suş no	Seftarolin	Linezolid	Vankomisin
1	0.5	1	1
2	0.5	0.75	1
3	0.25	0.5	1
4	0.5	0.5	1
5	0.25	0.5	1
6	0.25	0.5	1
7	1	1.5	1.5
8	0.25	0.75	1.5
9	1	0.75	1.5
10	0.25	0.5	1
11	0.5	0.75	1
12	0.25	0.75	1
13	0.25	0.38	1
14	0.50	0.75	1
15	0.25	0.5	1
16	1	1	1.5
17	0.5	1	1
18	0.25	0.38	1

19	1	1	1.5
20	0.5	0.75	1.5
21	0.5	0.75	1.5
22	0.5	1	1.5
23	1	1	1.5
24	0.5	0.75	1
25	0.5	1	1.5
26	0.5	0.5	0.75
27	1	0.75	1
28	0.5	1.5	1.5
29	0.5	1	1.5
30	0.25	0.5	0.75
31	0.5	0.75	1.5
32	0.25	0.38	1
33	0.25	0.5	1
34	0.5	1	1.5
35	0.25	0.75	1.5
36	0.25	0.5	0.75
37	0.5	0.5	0.75
38	0.5	0.5	0.75
39	0.25	0.75	1
40	0.25	0.75	1
41	1	0.38	1
42	0.5	0.5	1

43	1	1	1
44	0.25	0.75	1
45	0.5	0.5	1
46	0.25	0.5	0.75
47	0.5	0.5	1
48	0.5	1	1
49	0.5	1	1
50	0.5	0.38	1
51	1	0.75	1.5
52	1	0.75	1.5
53	1	1	1.5
54	0.25	0.5	0.75
55	1	1	1.5
56	0.25	0.38	1
57	0.25	0.5	0.75
58	1	1	1.5
59	0.5	1	1.5
60	0.5	0.75	1
61	0.5	0.5	1
62	0.25	0.5	1
63	0.5	0.75	1
64	0.5	0.5	1
65	0.25	1	1
66	0.25	0.5	1.5

67	0.125	0.75	1
68	0.125	0.75	1
69	0.25	1	1.5
70	0.25	0.75	1
71	0.25	0.5	1.5
72	0.5	0.5	1
73	0.25	0.38	0.75
74	0.5	0.75	1
75	0.5	0.5	1
76	0.25	0.5	1
77	0.25	0.5	1
78	0.125	0.75	1
79	0.25	0.75	1
80	0.25	0.75	1
81	0.25	0.75	1
82	0.25	0.5	1
83	0.25	0.5	1
84	0.5	1.5	1.5
85	0.5	0.5	1.5
86	0.5	0.75	1
87	0.25	0.5	1
88	0.25	0.5	1
89	0.5	1	1
90	0.5	0.5	1

91	0.25	0.5	1
92	0.25	0.5	1
93	0.5	0.75	1
94	0.125	0.5	1
95	0.25	0.5	1
96	0.125	1	1.5
97	0.5	1	1.5
98	0.25	0.75	1

Tablo 4.4.MRSA Suşlarında Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin $MİK_{min-max}$ $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri (µg/mL).

	Seftarolin	**Linezolid**	**Vankomisin**
$MİK_{min-max}$	0.125-1	0.38-1.5	0.75-1.5
$MİK_{50}$	0.5	0.75	1
$MİK_{90}$	1	1	1.5

Tablo 4.5. Çalışılan MRSA Suşlarının Klinik Örneklere Göre Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri.(µg/mL)

Klinik Örnekler	**Seftarolin**	**Linezolid**	**Vankomisin**
	$MİK_{50}$-$MİK_{90}$	**$MİK_{50}$-$MİK_{90}$**	**$MİK_{50}$-$MİK_{90}$**
Yara	0.25-0.5	0.5-1	1-1.5
Kan	0.5-1	0.75-1	1-1.5
İdrar	0.5-1	0.75-1.5	1-1.5

Çalışılan suşlarda seftarolin, linezolid ve vankomisin MİK değerlerinin karşılık geldiği suş sayısı incelendiğinde, seftarolin için saptanan MİK değerinin en çok 0.5 µg/mL (n=43) olduğu gözlenmiştir. Bu değerler linezolid için 0.5 µg/mL (n=36) ve vankomisin için 1 µg/mL (n=61) olarak bulunmuştur. Çalışılan izolatların seftarolin, linezolid ve vankomisin MİK değerlerine göre sayısal dağılımı Tablo 4.6.'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4.6. MRSA Suşlarının Seftarolin, Linezolid ve Vankomisin MİK Değerlerine Göre Sayısal Olarak Dağılımı (µg/mL).

MİK	**0.125**	**0.25**	**0.38**	**0.5**	**0.75**	**1**	**1.5**
Seftarolin	3	36	-	43	-	16	-
Linezolid	-	-	7	36	30	21	4
Vankomisin	-	-	-	-	9	61	28

4. TARTIŞMA

S.aureus, tüm dünyada CYDE, pnömoni ve sepsise kadar morbidite ve mortalitesi yüksek hastane kökenli ve toplum kökenli enfeksiyonlara yol açan önemli bir etkendir.Özellikle yoğun bakım ünitelerinde görülen HK-MRSA enfeksiyon sıklığı artmakla birlikte son yıllarda ABD'de TK-MRSA enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde de önemli artışlar meydana gelmiş, bazı yayınlarda TK-MRSA enfeksiyonu sıklığının HK-MRSA enfeksiyonu sıklığına ulaştığı gösterilmiştir.[128,129,130] Epidemiyolojik olarak izlenen bu artışla birlikte MRSA suşlarında görülen çoklu ilaç direnci sonucu, MRSA suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılan sınırlı sayıdaki ilaçlara karşı direnç gelişimi de gözlenmeye başlanmıştır.

Bu direnç sonucu MRSA suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde keşfedildiği 1958'den bu yana çok yaygın kullanılan glikopeptid grubu antibiyotiklerden vankomisine karşı 1996'da Japonya'da orta duyarlı (VISA-hVISA) ve 2002'de de ABD'de dirençli (VRSA) suşlar izole edilmeye başlanmıştır. Ayrıca MRSA suşlarında artmış vankomisin MİK değerleri ve buna bağlı başarısız klinik sonuçlar önemli bir problem haline gelmiştir.[49,131,132] Bununla birlikte MRSA etkenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilen ve ancak belirli enfeksiyonlar için sınırlı endikasyona sahip olan diğer antibiyotiklerden olan kunipristin/dalfopristin, tigesiklin, daptomisin ile beraber kullanım endikasyonu daha geniş olan linezolide karşı da direnç gelişimi gösterilmeye başlanmıştır.[133,134,135] Bu durum MRSA etkenli enfeksiyonların

halen tüm dünyada ciddi bir sorun olarak devam etmesine neden olmaktadır.

Günümüzde özellikle glikopeptidler (vankomisin ve teikoplanin) invazif MRSA infeksiyonlarının tedavisinde halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda tüm dünyada tespit edilen vankomisin MİK değerlerindeki artış ülkemizde de belirlenmiş, yapılan bazı çalışmalarda VRSA suşlarına rastlanmasa da VISA suşları saptanmıştır.[21] Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda MRSA suşlarında vankomisin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 1 µg/m, 1.5 µg/ml olarak gösterilmiştir.[136,137,138] Bizim çalışmamızda da vankomisine dirençli suşa rastlanmamakla birlikte vankomisin MİK değerleri 0.75-1.5 µg/mL arasında kaydedilmiş, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 1 µg/mL ve 1.5 µg/mL şeklinde önceki çalışmalara benzer olarak belirlenmiştir. Buna göre hastanemizden izole edilen MRSA suşlarında da vankomisin MİK değerlerinde yükselme gözlenmiştir.

Linezolid, özellikle MRSA kaynaklı CYDE, VİP, TK ve HK-Pnömoni enfeksiyonlarının tedavisinde farklı etki mekanizması ile vankomisin direncinin artmasını engelleme avantajı nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir diğer etkin ilaçtır. Ancak MRSA ile birlikte VRE, VISA, VRSA da dahil geniş Gram pozitif etki spektrumuna sahip olan linezolide karşı vankomisinden çok sonra kullanıma girmiş olmasına rağmen günümüzde linezolid dirençli MRSA suşları gösterilmiştir.[133,139] Ülkemizde yapılan çalışmalarda linezolid dirençli MRSA suşlarına rastlanmamış, MRSA için linezolid $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 0.19-2 µg/ml ve 2-4 µg/ml aralıklarında gözlenmiştir.[137,140,141,142] Bizim çalışmamızda da linezolid dirençli suşa rastlanmamış $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.75 µg/ml ve 1 µg/ml olarak ülkemizde yapılan önceki çalışmalara benzer değerlerde gözlenmiştir.

FDA tarafından 2010'da MRSA etkenli CYDE ile TK Pnömoni tedavisi için onay almış olan seftarolin, 5.Kuşak Sefalosporin grubu üyesi paranteral bir antibiyotiktir. Bir beta-laktam grubu üyesi olmasına rağmen MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilmesi ve gram negatif bakterilere karşı da etkili olması ile geniş bir etki spektrumuna sahip olan seftarolin, MRSA suşları ile oluşturulmuş enfeksiyonların tedavisinde önemli bir alternatif olarak görülmektedir.[143,144]

Seftarolinin antimikrobiyal aktivitesini araştırma amacıyla oluşturulan Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance and Evaluation (AWARE) adlı sürveyans programı çerçevesinde tüm dünyadaki ülkelerden CYDE ve solunum yollarından izole edilen suşlarda seftarolinin in vitro etkinliği araştırılmış ve elde edilen veriler çeşitli bilimsel ortamlarda yayınlanmıştır.[145-150]

Bu kapsamda Biedenbach ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada 7 Asya-Pasifik ülkesindeki 26 farklı merkezden 2012'de izole edilen 1222 MRSA suşunda seftarolin $MİK_{90}$ değeri 2 µg/ml olarak bulunmuş; seftaroline duyarlı, orta duyarlı ve dirençli suş oranı sırasıyla %78.8, %18.1 ve %3.1 olarak tespit edilmiştir.[148]

Aynı sürveyans programı kapsamında Hoban ve ark. tarafından yapılan ve 6 Latin Amerika ülkesini kapsayan (Arjantin, Brezilya, Şili, Kolombiya, Meksika ve Venezuela) bir başka çalışmada 2012'de izole edilen 390 MRSA suşuna ait seftarolin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.25-2 µg/ml, 0.5 µg/ml, 2 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Elde edilen MİK değerlerine göre seftaroline duyarlı ve orta duyarlı suş oranı sırasıyla %83.4 ve %16.6 olarak gözlenmiş dirençli suşa rastlanmamıştır.[147]

ABD'de yine AWARE sürveyans programı dahilinde biri 2008-2010

yılları arasını kapsayan 7 farklı eyaletteki 72 merkezden toplanan 4453 MRSA suşu ile; diğeri 2013 yılında ABD'deki 149 farklı merkezden CYDE ile birlikte solunum yollarından izole edilen 2642 MRSA suşu ile yapılan çalışmaların her ikisinde de seftarolin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.12-2 µg/ml, 1 µg/ml, 1 µg/ml olarak belirlenmiştir.Bu MİK değerlerine göre 2013'te yapılan çalışmada suşların %98.8'i seftaroline duyarlı %1.2'si seftaroline orta duyarlı olarak bulunmuşken, 2008-2010 yıllarını kapsayan çalışmada bu oranlar sırasıyla %96.1 ve %3.9 olarak belirlenmiştir. Her iki çalışmada da seftaroline dirençli suş tespit edilmemiştir.[145,150]

Yine bu kapsamda aralarında ülkemiz ile birlikte Avrupa kıtası ülkeleri ve Rusya'yı da içeren bir başka çalışmada, Karlowsky ve ark. tarafından 2012'de 69'u ülkemizden izole edilmiş olan 1467 MRSA suşuna ait seftarolin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.06-4 µg/ml ,0.5 µg/ml ve 1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Elde edilen MİK değerleri değerlendirildiğinde seftaroline duyarlı, orta duyarlı ve dirençli suş oranı sırasıyla %92.2, %7.6 ve %0.1 olarak tespit edilmiştir.Bu çalışma kapsamında ülkemizden izole edilen 69 suş tek başına değerlendirildiğinde ise $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.12-2 µg/ml, 2 µg/ml ve 2 µg/ml olarak gözlenmiş ve bu değerlere göre ülkemizden izole edilen suşlarda seftaroline dirençli suş saptanmamışken seftaroline orta duyarlı suş oranı %62.3 olarak bulunmuştur.[146]

Ülkemizde halen klinik kullanımı olmayan seftarolin ile ilgili olarak yapılmış olan in vitro çalışma sayısı sınırlıdır.[10,11]

Mengeloğlu ve ark.'nın 2013 yılında 7 farklı ilden elde ettikleri 192 MRSA suşu ile yaptıkları bir çalışmada seftarolin MİK değerlerini sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlemiş ve $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerini

sırasıyla 0.25-2 µg/ml, 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara göre çalışılan suşlardan 11'i (%5.7) seftaroline orta duyarlı bulunurken geri kalan bütün suşlar seftaroline duyarlı olarak gözlenmiş dirençli suşa rastlanmamıştır.[10]

Bizim çalışmamızda seftarolin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.125-1 µg/ml, 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Buna göre bütün suşlar seftaroline duyarlı olarak yorumlanmış, orta duyarlı ve dirençli suşa rastlanmamıştır.

Bu sonuçlara göre elde ettiğimiz seftarolin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri, Mengeloğlu ve ark.'nın elde ettiği sonuçlar ile AWARE sürveyans programı kapsamında Avrupa'dan ve ABD'den izole edilen suşların genelinden elde edilen sonuçlarla benzerdir. Önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar Tablo 5.1.ve 5.2.'de bir arada sunulmuştur.

Ancak AWARE sürveyans programı çerçevesinde 2012'de ülkemizden CYDE etkeni olarak izole edilen 69 suş tek başına değerlendirildiğinde seftarolin MİK değerleri yüksek bulunmuş, dirençli suşa rastlanmamış olsa da seftaroline orta duyarlı MRSA oranı %62.3 olarak oldukça yüksek saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda orta duyarlı suşa rastlanmamışken Mengeloğlu ve ark. seftaroline orta duyarlı MRSA oranını %5.7 olarak tespit etmişlerdir.AWARE sürveyans programından ülkemize ait suşlar için elde edilen MİK değerlerinin hem bizim çalışmamız hem de Mengeloğlu ve ark.'nın yaptığı çalışmadan elde edilen MİK değerlerinden daha yüksek olması, çalışma kapsamında kullanılan suş sayısından ve suşların seçildiği bölgelerin farklılığından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte AWARE sürveyans programında, ABD'den elde edilenler haricinde, kullanılan

suşların tamamının CYDE etkeni olan suşlardan oluşması da bu farklılığın nedenleri arasında sayılabilir.

Ancak gerek bizim çalışmamızda gerekse Mengeloğlu ve ark.'nın yaptığı çalışmada kullanılan suşların izole edildikleri klinik örnekler çeşitlilik göstermekle birlikte izole edilen klinik örneğe göre (yara, kan, solunum yolu örneği, üriner sistem örneği) yapılan değerlendirmede suşların duyarlılıkları değişmemektedir.[10]

Bu sonuçlarla birlikte seftarolinin onay aldığı CYDE ve TK-Pnömoni dışındaki endikasyonlarda başarı ile kullanılabileceğini gösteren benzeri in vitro ve in vivo çalışmalar da bulunmaktadır.[149,151,152,153,154]

Sader ve ark. tarafından 2009-2013 yılları arasında ABD'nin çeşitli merkezlerinden izole edilen sepsis etkeni 2013 MRSA suşu ile yapılan bir in vitro çalışmada, seftaroin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0.12-2 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml olarak belirlenmiştir. Buna göre seftarolin duyarlı ve orta duyarlı suş oranı sırasıyla %95.4, %4.6 olarak tespit edilmiş, seftaroline dirençli suşa rastlanmamıştır.[149] Elde edilen bu değerler çalışmamızda kullanılan kan örneklerinden izole edilen suşlar için elde edilen sonuçlara benzemektedir.

Bununla birlikte literatürde vankomisin verilmesine rağmen düzelmeyen termal inhalasyon yaralanmalı bir hastaya 12 saatte bir 600 mg seftarolin verilmesi ile başarılı tedavi sağlandığı görülmüştür.[151]

Ayrıca 2015 yılında ABD'de yapılan başka bir çalışmada 27 HK-Pnömoni ve 13 Ventilatör ile İlişkili Pnömoni (VİP) olgusu için tek başına seftarolin kullanılmış ve HK pnömoni için %58, VİP için ise %57 oranında başarılı sonuçlar alınmıştır.[152]

Yine ABD'de spinal cerrahiye sekonder gelişen VISA etkenli bir menejit olgusunun seftarolin ile başarılı bir şekilde tedavi edildiğine yönelik bir çalışma yayınlanmıştır.[153]

2010 yılında Fransa'da yapılan bir çalışmada da MRSAve VISA suşları ile tavşanlarda oluşturulan osteomyelit tedavisinde seftarolin başarılı bulunumuş buna göre seftarolinin kemik dokudaki enfeksiyonlar için de etkin olarak kullanılabileceğine dair bir sonuca ulaşılmıştır.[154]

Tablo 5.1.CYDE ve/veya TK-Pnömoni olgularından elde edilen MRSA suşlarının seftaroline duyarlılık , orta duyarlılık, dirençlilik oranları.(%)

Çalışma	Suş Sayısı	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
AWARE* Asya ve PasifikÜlkeleri Biedenbach ve ark.2012	1222	%78.8	%18.1	%3.1
AWARE Latin Amerika Ülkeleri Hoban ve ark.2012	390	%83.4	%16.6	-
AWARE ABD Sader ve ark. 2013	2642	%98.8	%1.2	-
AWARE ABD Farrell ve ark. 2012	4453	%96.1	%3.9	-
AWARE Avrupa, Rusya, Türkiye Karlowsky ve ark.2012	1467	%92.2	%7.6	%0.1
Türkiye Mengeloğlu ve ark. 2013	192	% 94.3	%5.7	-

AWARE: The Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation

Tablo 5.2.CYDE ve TK-Pnömoni olgularından elde edilen MRSA suşlarında seftarolin $MİK_{min-max}$, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri.(µg/ml)

Çalışma	Suş Sayısı	$MİK_{min-max}$	$MİK_{90}$
AWARE* Asya ve Pasifik Ülkeleri Biedenbach ve ark.2015	1222	0.03- 4	2
AWARE Latin Amerika ülkeleri Hoban ve ark.2015	390	0.25-2	2
AWARE ABD Sader ve ark. 2013	2642	0.12-2	1
AWARE ABD Farrell ve ark. 2012	4453	0.12-2	1
AWARE Avrupa, Rusya, Türkiye Karlowsky ve ark. 2012	1467	0.06-4	1
Türkiye Mengeloğlu ve ark. 2013	192	0.25-2	1

AWARE: The Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

MRSA tüm dünyada daha çok HK enfeksiyonların en önemli etkenlerinden biri olmakla birlikte, son yıllarda TK MRSA enfeksiyonlarının sıklığında da önemli artışlar görülmekte ve MRSA suşlarının neden olduğu enfeksiyon sıklığı daha yaygın bir problem haline gelmektedir.Antibiyotik direnci geliştirme yeteneğinden dolayı MRSA suşlarına karşı alternatif tedavi seçenekleri günümüzde de devam etmektedir.Seftarolin bu kapsamda üretilen ve yurt dışında klinik kullanıma giren en yeni ilaçtır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre izole edilen MRSA suşlarının hepsinin seftaroline in vitro duyarlı olduğu görülmüştür.

Bu çalışmayla MRSA suşlarına karşı seftarolin ile birlikte vankomisin ve linezolid in vitro etkinliği de araştırılmış ve bütün suşların hem vankomisin hem de linezolide duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda MRSA suşlarının izole edildikleri klinik örneklerin çeşitliği (kan, yara, idrar) dikkate alınarak seftarolin in vitro etkinliği değerlendirildiğinde klinik örnek çeşidine göre seftarolin etkinlğinde bir fark görülmemiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler sonucunda aşağıdaki önerilerde bulunabiliriz:

1) Seftarolinin çalışmamızda kullanılan MRSA suşlarına karşı gösterdiği yüksek in vitro aktivite, bu ilacın ülkemizde de endikasyon onayı aldığı

enfeksiyonların tedavisinde etkin olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

2) MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde halen en yaygın kullanılan ilaçlar olan linezolid ve vankomisin ile karşılaştırıldığında in vitro etkinilik açısından bir fark gözlenmeyen seftarolin, özellikle vankomisin direnç sorunu göz önüne alındığında bu ilaçlar için çok önemli bir alternatif olarak durmaktadır.

3) Elde ettiğimiz veriler ülkemizden izole edilen MRSA suşları için seftarolin in vitro etkinliği konusunda yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmalardan birine aittir. Bu sebeple elde ettiğimiz sonuçların daha doğru ve güvenilir bir şekilde yorumlanması için bu amaçla yapılacak daha geniş kapsamlı hem in vitro hem de in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Kluytmans J, Van Belkum A,Verbrugh, H. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical microbiology reviews,*1997, 10(3): 505-520.
2. Lowy, Franklin D. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus.*The Journal of clinical investigation*,2003,111(9): 1265-1273.
3. Rolinson GN. Celbenin-resistant staphylococci. *British medical journal,*1961,1.5219: 125.
4. Biek D, Critchley IA, Riccobene TA, Thye DA. Ceftaroline fosamil: a novel broad-spectrum cephalosporin with expanded anti-Gram-positive activity. *Journal of antimicrobial chemotherapy*,2010, 65(4): iv9-iv16.
5. Critchley IA, Eckburg PB, Jandourek A, Biek D, Friedland HD, Thye DA. Review of ceftaroline fosamil microbiology: integrated FOCUS studies.*Journal of antimicrobial chemotherapy*,2011,66.(3): iii45-iii51.
6. DailyMed. Teflaro (ceftaroline fosamil) powder, for solution [İnternet]. [Erişim Tarihi: 6 Mayıs 2015] Web Sayfası:http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=3ecde48b-75a2-4beb-9999-369f3f61bb8a
7. Steed ME, Rybak MJ. Ceftaroline: A New Cephalosporin with Activity Against Resistant Gram-Positive Pathogens. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*,2010,30(4): 375-389.
8. Brown SD,Traczewski MM. In vitro antimicrobial activity of a new

cephalosporin, ceftaroline, and determination of quality control ranges for MIC testing. *Antimicrobial agents and chemotherapy*,*2009*,53(3):1271-1274.

9. Sader HS, Fritsche TR, Kaniga K, Ge Y,Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of PPI-0903M (T-91825), a novel cephalosporin, tested against a worldwide collection of clinical strains.*Antimicrobial agents and chemotherapy*,2005,49(8):3501-3512.
10. Mengeloğlu FZ, Taş T, Koçoğlu E, Çiçek AÇ, Yanik K, Güneş H, Terzi HA. Seftarolinin MRSA İzolatlarına İn Vitro Etkinliği."Kısa Bildiri/Short Communication.*Mikrobiyol Bul*,2013,47 (4): 677-683.
11. Durmaz S, Mengeloğlu FZ, Taş T, Güneş H, Çiçek AÇ, Güçkan R, Durmaz E.Streptococcus Pyogenes İzolatlarının Seftaroline in Vitro Duyarlılığı.*Selçuk Tıp Derg*,2015,31(4): 375-376.
12. Ogston A. Micrococcus poisoning.*Journal of anatomy and physiology*,*1982*,16: 526.
13. Ogston A. On abscesses. *Review of Infectious Diseases*,1984,6(1):122-128.
14. Dündar V, Dündar D Ö. Stafilokok Enfeksiyonları. İçinde: Willke A, Söyletir G, Doğanay M, editör. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3.baskı. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi;2008:2065-2080
15. Waldvogel FA. Staphylococcus aureus (including toxic shock syndrome). In: Mandell G, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone;1995:1754-1775
16. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. The Staphylococci. In: Jawetz, Melnick and Adelberg's *medical microbiology*. 24th ed. New York: McGraw-Hill, 2007

17. Gould FK, Brindle R, Chadwick PR, Fraise AP, Hill S, Nathwani D, Warren RE. Guidelines (2008) for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections in the United Kingdom.*Journal of antimicrobial chemotherapy*,2009,63(5):849-861.
18. Cohen, Jay O. "The staphylococci." *The staphylococci.* (1972).
19. Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M. Asya Mikrobiyoloji. 4.Baskı.İzmir: Asya Tıp Kitabevi; 2005
20. Harris LG,Richards RG. Staphylococci and implant surfaces: a review.*Injury*,2006,37(2):3-14.
21. Koneman EW, Allen SD, William MJ, Schereckenberger PC, Winn WC. Gram-positive cocci, Part I: Staphylococci and related gram-positive cocci. In: Winn WC Jr et al (editors). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2006.p:623–71
22. Cengiz, A.T. Staphylococcus aureus.İçinde: Ustaçelebi, Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.1.baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. p:339-347
23. Waldvogel FA. Staphylococcus aureus (including staphylococcal toxic shock).In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th. ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone. 2000.
24. Waldvogel, F.A. Staphylococcus aureus (including toxic shock syndrome). In: Mandel, G.L., Bennet, J.E., Dolin, R., eds. Mandell, Douglas, and Bennett‟s Principles and Practice of Infectious Diseases.6 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone;2005. p:1754-1775
25. Farley JE. Epidemiology, clinical manifestations, and treatment options for skin and soft tissue infection caused by community-acquired

methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*,2008,20(2):85-92.

26. Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. Jawetz, Melnick and Adelberg‟s Medical Microbiology. New York: Mc Graw Hill; 2001.
27. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve BakteriEnfeksiyonları.8. baskı. İzmir: Fakülteler Kitabevi; 2000.
28. Gordon RJ, Franklin DL. Pathogenesis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection.*Clinical infectious diseases*,2008,46(5): 350-359.
29. Gillespie SH., Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology Second Edition. Chischester:John Wiley & Sons; 2006.
30. Albus A, Arbeit RD, Lee JC. Virulence of Staphylococcus aureus mutants altered in type 5 capsule production. *Infection and Immunity*,1991. 59(3): 1008-1014
31. Karahan M. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen Streptokok ve Stafilokok etkenlerinde genetik polimorfizmin araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2005, Elazığ. (Danışman : Doç.Dr. Burhan Çetinkaya)
32. Drews TD, Jonathan LT, Barry CF. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: review of an emerging public health concern.*wmj-madison*,2006,105(1): 52.
33. Balaban N and Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol,* 2000, 61:1- 10.
34. Karlsson A, Arvidson S. Variation in extracellular protease production among clinical isolates of Staphylococcus aureus due to different levels of

expression of the protease repressor sarA. *Infect Immun*,2002,70:4239–4246.

35. Drummond MC, Morris T. Fibrinogen clotting and fibrino-peptide formation by staphylocoagulase and the coagulase-reacting factor. *Journal of bacteriology*,1963,85(3): 628-635.
36. Rautela GS, Carl A. Crystallization and partial characterization of Staphylococcus aureus hyaluronate lyase. *Archives of biochemistry and biophysics,1973,*158(2): 687-694.
37. Tenover FC, James WB, Michael VL. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in Staphylococcus aureus.*Emerging infectious diseases,2001*, 7(2): 327.
38. Appelbaum PC. MRSA—the tip of the iceberg. C*linical microbiology and infec*tion,2006,12(2):3-10.
39. Barton M, Hawkes M, Moore D, Conly J, Nicolle L, Allen U, Richardson S. Guidelines for the prevention and management of community-associated methicillinresistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA): A perspective for Canadian health care practitioners. *Can J Infect Dis Med Micro*,2006,17.
40. Bogdanovich T, Ednie L, M, Shapiro S, Appelbaum P.C Antistaphylococcal activity of ceftobiprole, a new broad-spectrum cephalosporin.*Antimicrobial agents and chemotherapy*,2005,49(10): 4210-4219.
41. Brumfitt W,Jeremy HM.Methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*New England Journal of Medicine*,1989,320(18):1188-1196.
42. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in Staphylococcus aureus.*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,2000, 44(6): 1549-1555.

43. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE.The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*Clinical Microbiology and Infection*, 2007,13(3):222-235.

44. Aksoy DY, Tanriover MD, Unal S. Antimicrobial resistance: preventable of inevitable. Problem of the era from two perspectives, "Gould and van der Meer (eds): Antibiotic Policies: Fighting Resistance" kitabında, Springer, Berlin (2007)

45. Eliopoulos GM. Antimicrobial agents for treatment of serious infections caused by resistant Staphylococcus aureus and enterococci. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*,2005,24(12): 826-831.

46. Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: related infections and antibiotic resistance.

47. Vandenesch F, Naimi T, Enright, MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Etienne J. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerging infectious diseases*,2003, 9(8):978-984.

48. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA, Farley MM. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus disease in three communities.*New England Journal of Medicine*,2005,352(14): 1436-1444.

49. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J.Invasive Methicillin- Resistant Staphylococcus aureus infections in the United States, *JAMA*,2007, 298(15): 1763-1771

50. Stryjewski ME, Chambers HF. Skin and soft-tissue infections caused by

community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Infect Dis,2008, 46(5): 368- 37

51. Dailey L, Coombs GW, O'Brien FG, Pearman JW, Christiansen K, Grubb WB, Riley TV. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus, western Australia. *Emerg Infect Dis*2005,11(10): 1584-1590.
52. Matouskova I, Vladimir J. Current knowledge of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Biomedical Papers*,2008,152(2): 191-202.
53. David MZ, Robert S. Daum. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clinical microbiology reviews,2010,23(3): 616-687.
54. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, Etienne J. Association between Staphylococcus aureus strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *The Lance,2002*,359.9308 : 753-759.
55. Pan A, Lorenzotti S, Zoncada A.Registered and investigational drugs for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. *Recent Pat Anti-Infect Drug Discov*,2008, 3(1): 10-33
56. William H. Methicillin resistant Staphylococcus aureus.*The West Indian medical journal*,1999,48(1): 20-22.
57. Frei CR., Miller ML., Lewis JS., Lawson KA., Hunter JM., Oramasionwu CU,Talbert RL.Trimethoprim-sulfamethoxazole or clindamycin for community-associated MRSA (CA-MRSA) skin infections. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, 2010, *23*(6): 714-719.
58. Martin R,Wilcox KR. Staphylococcus aureus With Reduced Susceptibility to

Vancomycin.*Morbidity and Mortality Weekly Report*,1997, 46:765–766.

59. Miller D, Urdaneta V,Weltman A. Public Health Dispatch: Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2002, 51:902.
60. Anstead GM, Quinones-Nazario G, Lewis JS. Treatment of infections caused by resistant Staphylococcus aureus, *Methods Mol Biol*,2007, 391: 227-258
61. Johnson MD, Decker CF. Antimicrobial Agents in Treatment of MRSA Infections.*Dis Mon*, 2008,54: 793-800
62. Loffer CA, Macdougall C. Update on prevalence and treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections.*Expert Rev Anti Infect Ther*,2007, 5(6): 961-981
63. Ünal S. MRSA problem.*ANKEM Derg*,2009, 23(2): 1-12
64. Vera-Cabrera L, Gonzalez E, Rendon A, Ocampo-Candiani J, Welsh O, Velazquez-Moreno VM, Molina-Torres C.In vitro activities of DA-7157 and DA-7218 against Mycobacterium tuberculosis and Nocardia brasiliensis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*,*2006*, 50(9): 3170-3172
65. Brown-Elliott BA, Ward SC, Crist CJ, Mann LB, Wilson RW, Wallace RJ. In Vitro Activities of Linezolid against Multiple Nocardia Species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*,2001, 45(4): 1295-1297.
66. Dryden Matthew S. Linezolid pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical treatment. *Journal of antimicrobial chemotherapy*,2011,66(4): iv7-iv15.
67. Napolitano LM. Early appropriate parenteral antimicrobial treatment of complicated skin and soft tissue infections caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*Surg Infect*,2008,9(1): 17-27

68. Howden BP, Ward PB, Charles PG, Korman TM, Fuller A, du Cros P, Bak N. Treatment outcomes for serious infections caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus with reduced vancomycin susceptibility.*Clinical Infectious Diseases*,2004,38(4): 521-528.

69. Schmidt-Ioanas M, de Rou A, Lode H. New antibiotics for the treatment of severe staphylococcal infection in the critically ill patient.*Curr Opin Crit Care*,2005, 1(5): 481-486

70. Drew RH, Perfect JR, Srinath L, Kurkimilis E, Dowzicky M, Talbot GH, Synercid Emergency-Use Study Group. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections with quinupristin–dalfopristin in patients intolerant of or failing prior therapy.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy*,2000,46(5): 775-784.

71. Zhanel GG, Lam A, Schweizer F, Thomson K, Walkty A, Rubinstein E, Gin AS, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. Ceftobiprole: A review of a broad-spectrum and anti-MRSA cephalosporin, *American Journal of Clinical Dermatology*, 2008,9(4): 245-254

72. IOM (Institute of Medicine). Antibiotic resistance: Implications for global health and novel intervention strategies. Washington DC: The National Academies Press, 2010.

73. Bo G. Giuseppe Brotzu and the discovery of cephalosporins.*Clinical microbiology and infection*,2000,6: 6-8.

74. Scarpa B. Homage from one Sardinian to another.*Clinical Microbiology and Infection*,2000,6: 3-5.

75. Yıldız İ, Varkal MA, Ünüva E. Günümüzde Sefalosporinler ve Antibiyotik Direnci. *Çocuk Dergisi*,2014, 14(1): 22-27.

76. Muñiz CC, Zelaya TEC, Esquivel GR, Fernández FJ. Penicillin and cephalosporin production: A historical perspective. *Revista Latinoamericana de Microbiología*,2007,49: 88-98.

77. Çalangu S. Parenteral Sefalosporinler (1986-2010). *ANKEM Derg* 2010,24(Ek 2):14-18

78. Duncan CJ, Barr DA, Seaton RA. Outpatient parenteral antimicrobial therapy with ceftriaxone, a review.*International journal of clinical pharmacy*,2012, 34(3): 410-417.

79. Arslanköylü AE, Kuyucu S, Balcı S, Usta Y. İlk doz seftriakson enjeksiyonu sonrası anafilaksi. *Türk Pediatri Arşivi*,2011,46(1).

80. Ennis DM, Cobbs CG. The newer cephalosporins. Aztreonam and imipenem.*Infect Dis Clin North Am*,1995,9(3):687-713.

81. Yahav D, Paul M, Fraser A, Sarid N,Leibovici L. Efficacy and safety of cefepime: a systematic review and meta-analysis.*The Lancet infectious diseases*,2007,7(5): 338-348.

82. Paul M, Yahav D, Fraser A,Leibovici. Empirical antibiotic monotherapy for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy*,2006,57(2): 176-189.

83. Bazan Jose A, Stanley I, Martin and Kenneth M. Kaye. Newer beta-lactam antibiotics: doripenem, ceftobiprole, ceftaroline, and cefepime. *Infectious disease clinics of North America*,2009,23(4): 983-996.

84. Queenan AM, Shang W, Kania M, Page MG, Bush K. Interactions of ceftobiprole with β-lactamases from molecular classes A to D.*Antimicrobial agents and chemotherapy*,2007, 51(9): 3089-3095.

85. Awad SS, Rodriguez AH, Chuang YC, Marjanek Z, Pareigis AJ, Reis G, Engelhardt M. A phase 3 randomized double-blind comparison of ceftobiprole medocaril versus ceftazidime plus linezolid for the treatment of hospital-acquired pneumonia.*Clinical Infectious Diseases*,2014,59(1): 51-61.

86. Noel GJ, Bush K, Bagchi P, Ianus J, Strauss RS..A randomized, double-blind trial comparing ceftobiprole medocaril with vancomycin plus ceftazidime for the treatment of patients with complicated skin and skin-structure infections. *Clinical infectious diseases*,2008,46(5): 647-655.

87. Parish D, Scheinfeld N. Ceftaroline fosamil, a cephalosporin derivative for the potential treatment of MRSA infection. *Curr Opin Investig Drugs*,2008; 9: 201–9.

88. Kollef MH. New antimicrobial agents for methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Crit Care Resusc*,2009; 11: 282–6.

89. Corey GR, Wilcox MH, Talbot GH, Thye D, Friedland D, Baculik T on behalf of the CANVAS 1 investigators. CANVAS 1.the first Phase III, randomized, double-blind study evaluating ceftaroline fosamil for the treatment of patients with complicated skin and skin structure infections. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65 Suppl 4: iv41–51.

90. Wilcox MH, Corey GR, Talbot GH, Thye D, Friedland D, Baculik T, Jauregui-Peredo L,on behalf of the CANVAS 2 investigators. CANVAS 2: the second Phase III, randomized, double-blind study evaluating ceftaroline fosamil for the treatment of patients with complicated skin and skin structure infections. *J Antimicrob Chemother*,2010, 65 Suppl 4: iv53–65.

91. FileTM, Low DE, Eckburg PB, Talbot GH, Friedland HD, Lee J, Giordano P, on behalf of the FOCUS 1 investigators. FOCUS 1.a randomized, double-

blinded, multicentre, Phase III trial of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in community-acquired pneumonia. J *Antimicrob Chemother*,2011,66 Suppl 3: iii19–32

92. LowDE, File TM, Eckburg PB, Talbot, GH, Friedland HD, Lee J, Giugno E, on behalf of the FOCUS 2 investigators. FOCUS 2.a randomized, double-blinded, multicentre, Phase III trial of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in community-acquired pneumonia. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66 Suppl 3: iii33–44.
93. Ishikawa T, Matsunaga N, Tawada H, Kuroda N, Nakayama Y, Ishibashi Y, Okonogi. TAK-599, a novel N-phosphono type prodrug of anti-MRSA cephalosporin T-91825: synthesis, physicochemical and pharmacological properties. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11: 2427–37.
94. Teflaro [package insert]. St Louis, Mo: Forest Laboratories, Inc; 2011. http://www.frx.com/pi/teflaro_pi. pdf. Accessed April 30, 2011
95. Moisan H, Pruneau M, Malouin F. Binding of ceftaroline to penicillin-binding proteins of Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65: 713–6
96. Kosowska-Shick K, McGhee PL, Appelbaum PC. Affinity of ceftaroline and other b-lactams for penicillin-binding proteins from Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae. *Antimicrob Agents Chemother*,2010, 54: 1670–7
97. Villegas-Estrada A, Lee M, Hesek D, Vakulenko SB, Mobashery S. Co-opting the cell wall in fighting methicillin-resistant Staphylococcus aureus: potent inhibition of PBP 2a by two anti-MRSA b-lactam antibiotics. *J Am Chem Soc*, 2008,130: 9212–3.

98. Llarrull LI, Fisher JF, Mobashery S. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in Staphylococcus aureus and insights into new b-lactams that meet the challenge. *Antimicrob Agents Chemother,*2009, 53: 4051–63

99. Sade HS, Fritsche TR, Kaniga K, Ge Y, Jones R N. Antimicrobial activity and spectrum of PPI-0903M (T-91825), a novel cephalosporin, tested against a worldwide collection of clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother,* 2005, 49:3501–3512.

100. Saravolatz L, Pawlak J,Johnson L. In vitro activity of ceftaroline against community-associated methicillinresistant, vancomycin-intermediate, vancomycin-resistant, and daptomycin- nonsusceptible Staphylococcus aureus isolates. *Antimicrob Agents Chemother,* 2010,54;3027–3030.

101. Karlowsky JA, Adam HJ, DeCorby MR, Lagacé-Wiens PR, Hoban DJ, Zhanel GG. In vitro activity of ceftaroline against gram-positive and gram negative pathogens isolated from patients attending Canadian hospitals in 2009. *Antimicrob Agents Chemother,*2011,55:2837–2846

102. Ge Y, Biek D, Talbot GH, Sahm DF.In vitro profiling of ceftaroline against a collection of recent bacterial clinical isolates from across the *United States. Antimicrob Agents Chemother*,2008,52:3398–3407

103. Sader HS, Moet GJ, Farrell DJ . Ceftaroline activity when tested against respiratory tract infection pathogens isolated from USA medical centers in 2009. In: Abstracts of the Forty-eighth Meeting of the Infectious Diseases Society of America, Vancouver, BC, Canada, 2010. Poster #213.

104. Neu Harold C. The new beta-lactamase-stable cephalosporins.*Annals of Internal Medicine,*1982,97(3): 408-419.

105. Critchley IA, Friedland HD, Eckburg P et al. Microbiological outcomes of 2 multicenter phase 3 clinical trials of ceftaroline in community-acquired bacterial pneumonia. In: Abstracts of the Annual American Thoracic Society Conference, New Orleans, LA, 2010. Poster #610

106. Saravolatz L, Pawlak J, Johnson L. In vitro activity of ceftaroline against community-associated methicillin-resistant, vancomycinintermediate, vancomycin-resistant, and daptomycin-nonsusceptible Staphylococcus aureus isolates. *Antimicrob Agents Chemother*,2010, 54:3027–30

107. Schaadt RD, Sweeney DA, Biek D et al. In vitro evaluation of the antibacterial activity of ceftaroline in combination with other antibacterial agents. In: Abstracts of the Forty-seventh Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL, 2007. Poster #E-279.

108. Jacqueline C, Amador G, Le Mabecque V et al. Activity of ceftaroline (CPT) vs daptomycin (DAP) and tigecycline (TGC) against methicillin susceptible, methicillin-resistant, and glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus: an experimental rabbit endocarditis study. In: Abstracts of the Forty-ninth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2009. Poster #B-055.

109. Vidaillac C, Leonard SN, Sader HS, Jones RN, Rybak MJ. In vitro activity of ceftaroline alone and in combination against clinical isolates of resistant Gram-negative pathogens, including b-lactamase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother*,2009, 53: 2360–6.

110. Morrissey I, Yigong G, Regina J. Activity of the new cephalosporin ceftaroline against bacteraemia isolates from patients with community-

acquired pneumonia *International journal of antimicrobial agents,2009,*33(6): 515-519.

111. Ge Y, Liao S, Talbot GH. Population pharmacokinetics analysis of ceftaroline in volunteers and patients with complicated skin and skin structure infections. In: Abstracts of the Forty-seventh Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL,2007. Abstract A-34.

112. Ge Y, Hubbel A. In vitro evaluation of plasma protein binding and metabolic stability of ceftaroline (PPI 0903). In: Abstracts of the Forty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2006. Abstract A-1935.

113. Ge Y, Thye D, Liao S et al. Pharmacokinetics (PK) of ceftaroline (PPI-0903) in subjects with mild or moderate renal impairment (RI). In: Abstracts of the Forty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2006. Abstract A-1939.

114. Ge Y, Liao S, Thye DA et al. Ceftaroline (CPT) dose adjustment recommendations for subjects with mild or moderate renal impairment (RI). In: Abstracts of the Forty-seventh Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL, 2007. Abstract A-35.

115. Riccobene T, Laudano JB, Fang E et al. An open-label pharmacokinetic, safety, and tolerability study of single intravenous doses of ceftaroline in subjects with normal renal function or severe renal impairment. In: Abstracts of the Annual Meeting of the American College of Clinical Pharmacy, Anaheim, CA, 2009. Poster #191E.

116. Riccobene T, Fang E, Thye D. An open-label pharmacokinetic (PK),

safety, and tolerability study of single intravenous (IV) doses of ceftaroline (CPT) in subjects with normal renal function or severe renal impairment. In: Abstracts of the Forty-ninth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2009. Poster #A1-003.

117. Riccobene T, Jakate A, Rank D et al. An open-label, pharmacokinetic, safety and tolerability study of single-dose intravenous ceftaroline in subjects with end-stage renal disease on intermittent haemodialysis. In: Abstracts of the Nineteenth European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Helsinki, Finland, 2009. Poster #P1455.

118. Andes D, Craig WA. Pharmacodynamics of a new cephalosporin, PPI-0903 (TAK-599), active against methicillin-resistant Staphylococcus aureus in murine thigh and lung infection models: identification of and in vivo pharmacokinetic-pharmacodynamic target. *Antimicrob Agents Chemother*,2006, 50: 1376–83.

119. Jacqueline C, Caillon J, Mie`geville AF et al. Penetration of ceftaroline (PPI-0903), a new cephalosporin, into lung tissues: measurement of plasma and lung tissue concentrations after a short IV infusion in the rabbit. In: Abstracts of Forty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2006.Abstract A-1938.

120. Iizawa Y, Nagai J, Ishikawa T, Hashiguchi S, Nakao M, Miyake A, Okonogi K. In vitro antimicrobial activity of T-91825, a novel anti-MRSA cephalosporin, and in vivo anti-MRSA activity of its prodrug, TAK-599. *J Infect Chemother*,2004, 10: 146–56

121. Pankuch GA, Appelbaum PC. Postantibiotic effect of ceftaroline against Gram-positive organisms. *Antmicrob Agents Chemother*, 2009, 53: 4537–9.

122. Panagiotidis G, Bäckström T, Asker-Hagelberg C, Jandourek A, Weintraub A, Nord CE. Effect of ceftaroline on normal human intestinal microflora. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54: 1811–4.

123. Corey GR, Wilcox M, Talbot GH, Friedland HD, Baculik T, Witherell GW,Thye D. Integrated analysis of CANVAS 1 and 2: Phase 3, multicenter, randomized, double-blind studies to evaluate the safety and efficacy of ceftaroline versus vancomycin plus aztreonam in complicated skin and skin-structure infection. *Clin Infect Dis*, 2010,51: 641–50.

124. File TM, Low DE, Eckburg PB, Talbot GH, Friedland,HD, Lee J, Thye D. Integrated analysis of FOCUS 1 and FOCUS 2: randomized, double-blinded, multicenter phase 3 trials of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*,2010, 51: 1395–405.

125. Riccobene T, Fang E, Thye D. A single- and multiple-dose study to determine the safety, tolerability, and pharmacokinetics (PK) of ceftaroline (CPT) administered by intramuscular (IM) injection to healthy subjects. In: Abstracts of the Forty-eighth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, DC, 2008. Poster #A-1888.

126. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement M100-S24. CLSI, Wayne, PA, USA, 2014

127. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0. EUCAST, 2014

128. Culos KA, Cannon JP, Grim SA. Alternative agents to vancomycin for

the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. *American journal of therapeutics*, 2013, *20*(2): 200-212.

129. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*,2003,9: 978-84.

130. De Lencastre H, Couto I, Santos I, Melo-Cristino J, Torres-Pereira A, Tomasz A.Methicillin-resistantStaphylococcus aureus disease in a portuguese hospital: Characterization of clonal types by a combination of DNA typing methods.*European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*,1994,13(1): 64-73.

131. Shorr Andrew F. Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 45.Supplement 3: S171-S176.

132. Ippolito G, Leone S, Lauria FN, Nicastri E,Wenzel RP.Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: the superbug.*International journal of infectious diseases*,2010, 14: S7-S11.

133. Tiodras S, Gold HS, Sakoulas G, Eliopoulos GM,Wennersten C, Venkataraman L, Ferraro MJ. Linezolid resistance in a clinical isolate of Staphylococcus aureus.*The Lancet*,2001,358.9277: 207-208.

134. Mangili A, Bica I, Snydman DR, Hame DH. Daptomycin-resistant, methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia.*Clinical infectious disease,2005,s* 40.7: 1058-1060.

135. Doğruman Al F AG, Aykan B, Sipahi AB,Çağlar K. Metisiline dirençli Staphylococcus aureus suşlarında kinupristin/dalfopristin, linezolit duyarlılıkları ve makrolit-linkozamit-streptogramin B direnci. *İnfeksiyon*

Dergisi,2008,22.3: 153-63.

136. Sancak B, Ercis S, Menemenlioğlu D, Çolakoğlu Ş, Hasçelik G. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy,2005,* 56.3: 519-523.

137. Çelikbilek N, Özdem B, Gürelik FÇ, Güvenman S, Güner HR, Açıkgöz ZC. Metisiline dirençli Staphylococcus aureus izolatlarının vankomisin, teikoplanin, linezolid ve daptomisine in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul,2011,* 45.3: 512-518.

138. Öngüt G, Öğünç D, Baysan BÖ, Ertekin D, Dağlar D, Dönmez l,Çolak D. Kan kültürlerinden izole edilen MRSA Suşlarının vankomisin MİK değerlerinin beş yıllık bir dönemde değerlendirilmesi.*Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences,*2013, 33.4: 1017-1021.

139. Nannini E, Barbara E M, Cesar A A. Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*Current opinion in pharmacology,2010,* 10.5 : 516-521.

140. Tünger A, Aydemir S, Uluer S, Cilli F.In vitro activity of linezolid & quinupristin/dalfopristin against Gram-positive cocci.*Indian Journal of Medical Research*,2004, 120.6: 546.

141. Adaleti R, Nakipoglu Y, Ceran N, Tasdemir C, Kaya F, Tasdemir S. Prevalence of phenotypic resistance ofStaphylococcus aureus isolates to macrolide, lincosamide, streptogramin B, ketolid and linezolid antibiotics in Turkey. *Braz J Infect Dis,* 2010, 14(1): 11-4.

142. Yıldız Ö, Çoban AY, Şener AG, Coşkuner SA, Bayramoğlu G,

Güdücüoğlu H, Aktepe O. Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from 12 Hospitals in Turkey.*Annals of clinical microbiology and antimicrobials,2014*, 13.1: 1.

143. Poon H, Mei HC, Horatio BF. Ceftaroline fosamil: a cephalosporin with activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*Clinical therapeutics,2012*, 34.4: 743-765.

144. Laudano JB. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin. *Journal of antimicrobial chemotherapy,2011*, 66.suppl 3: iii11-iii18.

145. Farrell DJ, Castanheira M, Mendes RE, Sader HS, Jones RN. In vitro activity of ceftaroline against multidrug-resistant Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae: a review of published studies and the AWARE surveillance program (2008–2010). *Clinical infectious disease,2012*,55.suppl 3 : S206-S214.

146. Karlowsky JA, Biedenbach DJ, Bouchillon SK, Iaconis JP, Reiszner E, Sahm DF. In vitro activity of ceftaroline against bacterial pathogens isolated from skin and soft tissue infections in Europe, Russia and Turkey in 2012: results from the Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation (AWARE) surveillance programme.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy,*2015: dkv311.

147. Hoban D, Biedenbach D, Sahm D, Reiszner E, Iaconis J. Activity of ceftaroline and comparators against pathogens isolated from skin and soft tissue infections in Latin America–results of AWARE surveillance 2012.*The Brazilian Journal of Infectious Diseases*,2015, 19.6: 596-603.

148. Biedenbach DJ, Alm RA, Lahiri SD, Reiszner E, Hoban DJ, Sahm DF,

Ambler JE.In Vitro Activity of Ceftaroline against Staphylococcus aureus Isolated in 2012 from Asia-Pacific Countries as Part of the AWARE Surveillance Program. *Antimicrobial agents and chemotherapy,2016,* 60.1:343-347.

149. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Activity of ceftaroline and comparator agents tested against Staphylococcus aureus from patients with bloodstream infections in US medical centres (2009–13).*Journal of Antimicrobial Chemotherapy,*2015,70.7: 2053-2056.

150. Sader HS, Farrell DJ, Mendes RE, Flamm RK, Castanheira M, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftarolin tested against bacterial isolates causing respiratory tract and skin and skin structure infections in US medical centers in 2013. *Diagnostic microbiology and infectious disease,2015,* 82.1:78-84.

151. Faris J, Mynatt RP, Snyder ADH, Rybak MJ. Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pneumonia with Ceftaroline Fosamil in a Patient with Inhalational Thermal Injury.*Infectious diseases and therapy,*2015,4.4: 519-528.

152. Kaye KS, Udeani G, Cole P, Friedland H D.Ceftaroline fosamil for the treatment of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia.*Hospital Practice,2015,* 43.3: 144-149.

153. Muhammad Adnan B, Jalees Bajwa R, Hassoun A. Successful use of ceftaroline for the treatment of MRSA meningitis secondary to an infectious complication of lumbar spine surgery. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,2015,* 70.2: 624-625.

154. Jacqueline C, Amador G, Caillon J, Le Mabecque V, Batard E,

Miègeville AF, Hamel A. Efficacy of the new cephalosporin ceftaroline in the treatment of experimental methicillin-resistant Staphylococcus aureus acute osteomyelitis.*Journal of antimicrobial chemotherapy,2010,* 65.8:1749-1752.