



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

Bakteriyemi Etkeni Olan Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulum Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Uzmanlık Tezi

Dr. Moumperra Chral Oglou

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Serap Şimşek-Yavuz

İSTANBUL

2020





T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

Bakteriyemi Etkeni Olan Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulum Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Uzmanlık Tezi

Dr. Moumperra Chral Oglou

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Serap Şimşek-Yavuz

İSTANBUL

2020

ÖNSÖZ

Varlığıyla güven veren, bizim büyük bir aile olduğumuzu hissettiren , bilgi, disiplin ve özverisiyle hayranlık uyandıran, bir hekimin her alanda bilgi sahibi olması gerektiğini bize her fırsatta hatırlatan ve bu konuda bizi motive eden değerli hocam Prof. Dr. Haluk Eraksoy'a,

Hayat tecrübeleriyle bize farklı bakış açıları sunan, düşüncelerimizi korkmadan söylememiz için bizi cesaretlendiren, hatalarımızla üzülen, başarılarımızla da gurur duyduğunu tüm içtenliğiyle hissettiren, bu nedenle her zaman daha da çok çabalamama neden olan değerli hocam Prof. Dr. Halit Özsüt'e,

En yoğun gününde dahi güler yüzünü eksik etmeyen, sabrı ve hoşgörüsüyle hayranlık uyandıran değerli hocam Prof. Dr. Oral Öncül'e,

Çözümsüz sandığımız sorulara yaklaşımıyla bize ufuk açan, 'hastalık yoktur, hasta vardır' sözünü yaşayan, sürekli yeni bilgiler arayışında olmasıyla bize örnek olan, samimi sohbetleri ve alçak gönüllüğüyle her zaman saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Atahan Çağatay'a,

Öğrenme aşkı ve enerjisiyle hayran olduğum, her zaman kapısı bize açık olan, anne gibi şefkatli, her yönüyle örnek aldığım, tez öğrencisi olmaktan dolayı gurur duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Serap Şimşek-Yavuz'a,

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Zerrin Aktaş ve Prof. Dr. Füsün Can'a,

Uzmanlık serüvenine başladığımdan beri her türlü zorlukta odasına koştuğum, bize abla şefkatiyle yaklaşan, dertlerimize ortak olan, her zaman minnettar olduğum Öğr.Gör. Seniha Başaran'a,

PCR çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan, sorunlarıma çare arayan sevgili Gülşen Günel'e,

Beraber gülüp, beraber ağladığım, kendileriyle birçok önemli anlar paylaştığım, her zorluğumda yanımda olan, kalbimdeki yerleri ayrı olan birbirinden değerli çalışma arkadaşlarıma,

Benim bu hayatımdaki en büyük şanslarım olan, her koşulda yanımda olduklarını gösteren, babam Ahmet Hraloğlu, annem Nilüfer Huskoğlu ve kardeşim Muhammet'e,

Kendisinden çaldığım tüm zamanı olgunlukla karşılayan, bitkin düştüğümde resimleriyle, mektuplarıyla, sözleriyle beni tekrar ayağa kaldıran, en küçük ama aynı zamanda en büyük destekçim, en büyük mucizem, canım kızım Zehram'a teşekkürü bir borç bilirim.

Müberra Hraloğlu

2020



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje no:34209

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
1 GİRİŞ ve AMAÇ	7
2 GENEL BİLGİLER	7
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.2 Patofizyoloji.....	8
2.2.1 Adezyon ve Kolonizasyon	8
2.2.2 Nazal Kolonizasyon	8
2.2.3 Biyofilm	9
2.2.4 İnvazyon	10
2.2.5 Kaçınma	10
2.2.6 Antibiyotik Direnci	11
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> Enfeksiyonları	12
2.3.1 İnfektif Endokardit	12
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> Bakteriye misisi	12
2.4.1 Epidemiyoloji	12
2.4.2 Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)-Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) Görülme Sıklığı	13
2.5 Risk Faktörleri	14
2.6 İnokulum Etkisi	15
2.7 Klinik Yaklaşım.....	15
2.8 Tedavi	16
2.9 Mortalite	19
3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1 Hasta Seçimi ve Veri Toplanması	20
3.2 Laboratuvar.....	20
3.3 Olgu Tanımlamaları.....	21
3.4 Bakteri Suşlarının İzolasyonu ve Saklanması	21
3.5 Bakteri Suşlarının Tanımlanması	21
3.6 Antibiyotik Duyarlılık Testleri	22
3.6.1 Disk Difüzyon Yöntemi	22
3.6.2 Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi.....	23
3.6.3 Gradyan Şerit Yöntemi.....	24

3.7	Nitrosefin Testi	24
3.8	Multipleks PCR	26
3.8.1	Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	26
3.8.2	2X Taq PCR Master Miks	26
3.8.3	Primerler	26
3.8.4	DNA Ekstraksiyonu	27
3.8.5	DNA Amplifikasyonu	27
3.8.6	Elektroforez	27
3.8.7	Görüntüleme	27
3.9	DNA Dizileme	28
3.10	İstatistiksel Analiz	28
4	BULGULAR	29
4.1	Hastaların Genel Özellikleri	29
4.2	Bakteriyemi Kaynağı	30
4.3	Antibiyotik Tedavileri	31
4.4	β -laktamaz Varlığı ve İnokulum etkisi	32
4.5	β -laktamaz ve İnokulum Etkisi Varlığında Klinik Bulgular	34
4.6	Mortalite	39
5	TARTIŞMA VE SONUÇ	42
6	KAYNAKLAR	48
7	EKLER	61

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	β -hemoliz yapan <i>Staphylococcus aureus</i> kolonileri	22
Şekil 2.	Disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi	23
Şekil 3.	Penisilin G diski zon çapına ve zon sınırı keskinliğine göre β -laktamaz varlığının ve penisilin direncinin belirlenmesi (a. Penisilin zon sınırı keskin değil ve çapı >29 mm, β -laktamaz negati ve penisiline duyarlı. b Penisilin zonu ≤ 26 mm ve zon sınırı keskin, β -laktamaz pozitif ve penisiline dirençli)	23
Şekil 4.	<i>Staphylococcus aureus</i> suşlarında Cefinase® diskiyle β -laktamaz belirlenmesi: Pembe renkte görülen disk β -laktamaz pozitif, sarı renkte olan β -laktamaz pozitif suşu göstermektedir.	25

Şekil 5. <i>Staphylococcus aureus</i> suşlarının β -laktamaz genlerinin PCR'la çoğaltılmasıyla elde edilmiş ürünlerin jel elektroforezdeki görüntüsü (Burada 9, 10, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 23, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 27, 42 numaralı suşların ve pozitif kontrol suşu ATCC 29213'ün β -laktamaz geni PCR ürünleri yer alırken, son sırada negatif kontrol olarak kullanılmış β -laktamaz negatif ATCC 25923 suşu bulunmaktadır)	28
Şekil 6. <i>Staphylococcus aureus</i> bakteriyemisinin edinildiği ortam	30
Şekil 7. Bakteriyemisinin edinildiği ortama göre primer infeksiyon odaklarının sıklığı.....	31

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri	29
Tablo 2. <i>Staphylococcus aureus</i> Bakteriyemilerinde Metastatik Enfeksiyon Odakları	31
Tablo 3. Hastaların Kan Kültürlerindeki Üreme Öncesi Başlanan Ampirik Antibiyoterapileri, Üreme Sonrasında Gram Boyaması Sonucuna Göre Düzenlenen Tedavileri, Kültürlerinin MSSA Olarak Sonuçlanmasının Ardından Başlanan Antibiyotik Tedavileri	32
Tablo 4. β -laktamaz Pozitif ve Negatif Olan 52 MSSA Suşunun Düşük ve Yüksek İnokulumda Belirlenmiş Zon Çapları Ortalamalarının Karşılaştırılması	33
Tablo 5. β -laktamaz Pozitif ve Negatif Olan 52 MSSA Suşunun Düşük ve Yüksek İnokulumda Belirlenmiş MİK Ortalamalarının Karşılaştırılması	34
Tablo 6. 52 MSSA Suşunda Yüksek İnokulumda Mikrodilüsyon Yöntemiyle Tanımlanmış İnokulum Etkisi Oranları	34
Tablo 7. β -laktamaz Pozitif ve Negatif Suşla Enfekte Olan Hastaların Özellikleri	35
Tablo 8. Sefazoline Karşı İnokulum Etkisi Saptanan ve Saptanmayan Suşlarla Enfekte Olan Hastaların Klinik Özellikleri	36
Tablo 9. Ampisilin-Sulbaktam Karşı İnokulum Etkisi (İnE) Saptanan ve Saptanmayan Suşlarla Enfekte Olan Hastaların Klinik Özellikleri	38
Tablo 10. Ölen ve Sağ Kalan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması	40
Tablo 11. MSSA Bakteriyemi Olan Hastalarda Mortaliteye Etki Eden Risk Faktörlerinin Çok Değişkenli Analiz Sonuçları	41
Tablo 12. Ölen Hastalarda Görülen Sefazolin İnokulum Etkisi (CzİnE), Belirgin CzİnE, Ampisilin-Sulbaktam İnokulum Etkisi (ASİnE), Belirgin ASİnE ve Bu Hastaların Sefazolin, Ampisilin-Sulbaktam Kullanımı.	42

KISALTMALAR

ABY: Akut böbrek yetmezliği

ASİnE: Ampisilin-sulbaktam inokulum etkisi

BOS: Beyin-omurilik sıvısı

CDC: ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi

CFU: Koloni oluşturan birim

ClfA: Kümeleştirici faktör A

CLSI: ABD Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü

CRP: C-reaktif protein

CzİnE: Sefazolin inokulum etkisi

EUCAST: Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi

ESC: Avrupa Kardiyoloji Derneği

IDSA: Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği

İV: Damar içi

İnE: İnokulum etkisi

KNS: Koagülaz-negatif stafilocoklar

MİK (MIC): Minimum inhibitör konsantrasyon

MSCRAMMs: Adeziv matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri

MSS: Merkezi sinir sistemi

MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MV: Mekanik ventilasyon

NCBI: ABD Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi

OR: 'Odds' oranı

SAB: *Staphylococcus aureus* bakteriyemisi

SBİB: Sağlık bakımıyla ilişkili bakteriyemi

TKB: Toplum kökenli bakteriyemi

YBB: Yoğun bakım birimi

ÖZET

Giriş ve Amaç: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) bakteriyemilerinde ülkemizde ilk seçenek olarak kullanılan antimikrobikler sefazolin ve ampisilin-sulbaktamdır. Son yıllarda, sefazolinin, özellikle yüksek inokulumda bazı MSSA suşlarına karşı duyarlılığında azalma olabileceği ve bunun da bazı β -laktamaz türleriyle ilişkili olduğu bildirilmiş; bu suşlarla infekte hastalarda, özellikle bakteriyemi ve endokardit gibi yüksek inokülmüli infeksiyonlarda olmak üzere sefazolin tedavisi sırasında tedavi başarısızlığı görülebileceği konusunda araştırmalar yayımlanmıştır. Ülkemizde bu konuyla ilgili herhangi bir veri yoktur. Bu çalışmada, bakteriyemi veya endokardit gibi yüksek inokülmüli infeksiyonlardan etken olarak izole MSSA suşlarının yüksek inokulumda sefazolinin etkinliğini azaltıp azaltmadığı, etkinliğin azaldığı durumlarda buna neden olan bakteriyel özelliklerin (β -laktamazların varlığı, vb) neler olduğu, bu tür suşların neden olduğu infeksiyonlarda sefazolinle tedavi yapılmasının tedavi başarısına etki edip etmediği araştırılmıştır. Elde edilen verilerle MSSA bakteriyemilerinin daha etkili tedavi edilebilmesi için veri sağlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi servislerinde 2016-2018 yıllarında yatarak tedavi gören, tek şişe kan kültüründe MSSA üreyen, MSSA bakteriyemisi veya endokarditi olarak değerlendirilen ve etken suşu saklanmış olan hastaların tümü dahil edilmiştir. Hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Hastalardan izole edilmiş suşların öncelikle klasik yöntemlerle tanımlanması tekrarlandı, daha sonra disk difüzyon yöntemiyle antibiyogramı yapıldı. Suşların farklı inokümlerde, sefazoline, ampisilin-sulbaktama, sefuroksime, sefotaksime, seftriaksona karşı duyarlılıkları, 10^5 standard inokulum ve 10^7 yüksek inokulumda zon çapları ve minimal inhibitör konsantrasyon değerleri sırasıyla disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Ampisilin-sulbaktamın her iki inokülmüdeki duyarlılığı aynı zamanda Etest® ile de çalışıldı. Suşlardaki β -laktamaz varlığı nitrosefin diski, penisilin disk difüzyon yöntemi, penisilin zon testi ve PCR yöntemiyle *blaZ* geni saptanarak belirlendi, β -laktamaz pozitif olan suşlardaki β -laktamaz tipi ise PCR ve dizileme yöntemiyle tanımlandı. Bu amaçla, öncelikle tüm suşlarda DNA ekstraksiyonu yapıldı, daha sonra *blaZ* geninin 128 ve 216 rezidülerini içeren 355-bp'lik bölgesini amplifiye etmek için tasarlanmış olan F, 5'-CAA AGA TGA TAT AGT TGC TTA TTC-3' ve R, 5'-CAT ATG TTA TTG CTT GCA CCAC-3' primerleri kullanılarak PCR yapıldı. PCR ürünleri daha sonra DNA dizileme yöntemiyle analiz

edildi. Kontrol suşları olarak az miktarda tip A β -laktamaz ürettiği bilinen *S. aureus* ATCC 29213 suşu ve *blaZ* geni negatif *S. aureus* ATCC 25923 suşu kullanıldı.

Bulgular: 52 hastadan 33'ü erkek (%63.5), 19'u kadın (%36.5), ortalama yaş 58.4 ± 18.3 saptandı (yaş aralığı 19-86). Hastaların tanı anında ortalama ölçülen ateşleri $38.09 \pm 0.93^\circ\text{C}$ olarak bulundu. Charlson komorbidite indeksleri ortalama 3.94 ± 2.61 olarak hesaplandı. Hastaların ortalama PİTT bakteriyemi skoru 1.54 ± 2.74 olarak bulundu. Bakteriyeminin %46.2'si toplum kaynaklı, %38.5'i hastane kaynaklı, %13.5'i de sağlık bakımıyla ilişkili bulundu, hastaların %50'sine invazif girişim yapılmıştı. En sık kateterle ilişkili bakteriyemi (%38.5), 8 (%15.4) hastaya ise infektif endokardit tanısı konuldu. Hastalarda MSSA üremesi sonrası kesin tedavide en sık sefazolin (%44.2) tedavisi, ikinci sıklıkta ampisilin-sulbaktam (%28.5) tedavisi tercih edilmişti. Ortalama toplam tedavi süreleri sefazolin alanlarda 22.5 gün, sefazolin dışı tedavi alanlarda 20.8 gündü. Suşların %84.6'sında (44/52) β -laktamaz geni saptandı. Bu 44 suşun dizi analiziyle sonuç alınabilen 40'ında var olan β -laktamazın tip A β -laktamaz (%100) olduğu belirlendi. Penisilin direnci saptanan suşların hepsi nitrosefin diski ve PCR yöntemiyle β -laktamaz pozitif olarak sonuçlandı (%100). Penisilin zonu β -laktamaz varlığında her iki inokulumda anlamlı derecede küçük saptandı ($p=0.001$). Sefazolin zonu β -laktamaz varlığında her iki inokulumda anlamlı derecede küçük saptandı ($p=0.001$). Mikrodilüsyon yöntemiyle bakılan sefazolinin MİK değeri standard ve yüksek inokulumda β -laktamaz varlığında anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.028$ ve $p=0.001$). Sefazolin inokulum etkisi (İnE) 13 (%25) suшта görüldü, 3 (%5.8) suшта direnç oluşumu yani belirgin İnE gözlemlendi. Sefazolinin yüksek inokulumdaki MİK değerinin mortaliteye etki eden bağımsız bir risk faktörü olduğu bulundu ($p=0.049$). Ampisilin-sulbaktamın Etest® ile bakılan MİK değeri β -laktamaz varlığında standard ve yüksek inokulumda anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.001$). 19 (%36.5) hastada ampisilin-sulbaktama karşı İnE görüldü. Sefotaksim ve sefuroksimde yüksek inokulumda MİK değerlerinde anlamlı derecede artış izlenmedi, sefotaksim ve sefuroksim inokulum etkisi görülmedi. Çalışmamızda mortalite %15.4 oranında saptandı. Tek değişkenli analizlerde, Charlson komorbidite indeksi (CKİ) ölen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.031$). Ölen 8 hastanın 4'ünde sefazolin inokulum etkisi ($p=0.17$), 5'inde de ampisilin-sulbaktam inokulum etkisi ($p=0.049$) görüldü ve tek değişkenli analizde ampisilin-sulbaktam İnE'yle mortalite arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Çok değişkenli analizde ise albumin değeri (OR =0.013, %95 CI <0.001-0.789, $p=0.038$) ve yüksek inokulumdaki sefazolin MİK

değeri (OR 1.8, %95 CI 1.002-3.261) mortaliteye etki eden bağımsız risk faktörü olarak tanımlandı.

Sonuç: MSSA bakteriyemisi etkeni olan 56 suşta %84.6 oranında β -laktamaz varlığı saptandı, tanımlanabilen 40 suşun hepsinde tip A β -laktamaz belirlendi. Nitrosefin testi ve penisilin disk difüzyon yönteminin (penisilin zon çapı ve keskinliği) β -laktamaz saptamadaki duyarlılığı %100 olarak bulundu. Ülkemizde MSSA infeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antimikrobikler olan sefazolin ve ampisilin-sulbaktamın MİK değerlerinin, yüksek mikroorganizma konsantrasyonlarında sırasıyla %25 ve %36.5 oranında belirgin olarak yükseldiği ve yüksek inokulumdaki MİK değerinin mortaliteye etki eden bağımsız bir risk faktörü olduğu bulundu. Bu nedenle MSSA bakteriyemisi veya endokarditi gibi yüksek inokulumlu infeksiyonlarda, etken suşta inokulum etkisi araştırılması ve belirlenenlerde inokulumdan etkilenmeyen uygun antimikrobiklerin seçilmesi düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: İnokulum etkisi, beta-laktamaz, MSSA bakteriyemisi, sefazolin, ampisilin-sulbaktam

ABSTRACT

Objectives Cefazolin and ampicillin-sulbactam are the first-choice antimicrobials used in our country for methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) bacteremia. In recent years, it has been reported that there may be a decrease in the sensitivity of cefazolin in higher bacterial inoculum against some MSSA strains, and that it is associated with some β -lactamase species. Studies concerning the possibility of treatment failure with cefazolin in patients infected with these strains, especially in high inoculum infections such as bacteremia and endocarditis, have been published. There is no data on this subject in our country. In this study, it was investigated whether MSSA strains isolated from highly inoculated infections such as bacteremia or endocarditis decrease the effectiveness of cefazolin in higher inoculum, the bacterial features (presence of β -lactamases, etc.) that cause the reduced cefazolin activity, whether treatment with cefazolin is effective on treatment of infections caused by such strains. It is aimed to find more effective treatment of MSSA bacteremia with the obtained data.

Materials and methods : All patients who received inpatient treatment at Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine services between 2016-2018, who had a single blood culture positive for MSSA and who were evaluated as MSSA bacteremia or endocarditis and whose causative strain was kept were included in the study. The clinical and laboratory characteristics of the patients were recorded on previously prepared forms. The identification of the strains isolated from patients were repeated with classical methods, then antibiogram was performed by disk diffusion method. The susceptibility of cefazolin, ampicillin-sulbactam, cefuroxime, cefotaxime and ceftriaxone were determined by disk diffusion and broth microdilution method (as MIC) in 10^5 standard inoculum and 10^7 high inoculum. The susceptibility of ampicillin-sulbactam in both inoculum was also studied with Etest[®]. β -lactamase presence in the strains were determined by using nitrocefine disc, penicillin disk diffusion method, penicillin zone edge test and detecting the *blaZ* gene by PCR method, the beta-lactamase type was defined by PCR and sequencing method in beta-lactamase-positive strains. For this purpose, first DNA extraction was performed in all strains, PCR was performed using primers F, 5'-CAA AGA TGA TAT AGT TGC TTA TTC-3 'and R, 5'-CAT ATG TTA TTG CTT GCA CCAC-3 ' which were designed to amplify the 355-bp region containing 128 and 216 residues in the *blaZ* gene structure. PCR products were then analyzed by DNA sequencing. *S. aureus* ATCC 29213 strain, which is known to produce a small amount of type A beta-lactamase, and *blaZ* negative *S. aureus* ATCC 25923 strain were used as control strains.

Results: Of the 52 patients, 33 (63.5%) were male, 19 were female (36.5%), and the mean age was 58.4 ± 18.3 (age range 19-86). Average fever measured at the time of diagnosis was found to be $38.09 \pm 0.93^{\circ}\text{C}$. The average Charlson comorbidity index was calculated as 3.94 ± 2.61 . The mean PITT bacteremia score of the patients was found to be 1.54 ± 2.74 . 46.2% of bacteremia was community-acquired, 38.5% was hospital-acquired, and 13.5% was health care associated. 50% of them had invasive interventions. The most common infection was catheter-related bacteremia (38.5%). Eight (15.4%) patients were diagnosed with endocarditis.

Cefazolin (44.2%) treatment was the most common definitive treatment, followed by ampicillin-sulbactam (28.5%). Mean total treatment days were 22.5 days for those receiving cefazolin and 20.8 days for non-cefazolin antibiotics. Beta-lactamase gene was found in 84.6% of the strains (44/52). As a result of the sequence analysis of 40 strains out of 44, 100% of them were defined as type A beta-lactamase. All strains with penicillin resistance were found to be beta-lactamase positive (100%) by nitrocefine disk and PCR method. Penicillin zone was significantly smaller in both inoculum in the presence of beta-lactamase ($p=0.001$). Cefazolin zone was significantly smaller in both inoculum in the presence of betalactamase ($p=0.001$). The MIC of cefazolin measured by microdilution method was significantly higher in the presence of betalactamase in the high and standard inoculum ($p=0.028$ and $p=0.001$). Cefazolin InE was seen in 13 strains (25%), 3 of them were resistant, namely they had significant inoculum effect (5.8%) It was found that the high inoculum MIC of cefazolin is an independent risk factor affecting mortality ($p=0.049$). The MIC value of ampicillin sulbactam measured by Etest[®] was significantly higher in the presence of betalactamase in standard and high inoculum ($p=0.001$). Ampicillin-sulbactam inoculum effect was seen in 19 (36.5%) patients. In cefotaxime and cefuroxime, there was no significant increase in MIC values in high inoculum, and no inoculum effect of cefotaxime and cefuroxime was observed. In our study, mortality was found at a rate of 15.4%. In univariate analysis, Charlson comorbidity index (CKI) was found to be statistically significantly higher in patients who died ($p = 0.031$). In 8 patients who died, 4 had cefazolin inoculum effect ($p=0.17$), 5 had ampicillin-sulbactam inoculum effect ($p=0.049$) and a significant relationship was found between ampicillin-sulbactam InE and mortality in univariate analysis. In multivariate analysis, albumin value (OR = 0.013, 95% CI <0.001-0.789, $p=0.038$) and cefazolin MIC value in high inoculum (OR 1.8, 95% CI 1.002-3.261) were defined as independent risk factors affecting mortality.

Conclusion: The presence of β -lactamase was detected in 84.6% of 56 strains with MSSA bacteremia, and type A β -lactamase was detected in all 40 sequenced strains. The sensitivity of nitrocefine test and penicillin disk diffusion method (penicillin zone diameter and zone edge test) in detecting β -lactamase was 100%. It was found that the MIC values of cefazolin and ampicillin-sulbactam, which are the most commonly used antimicrobials in the treatment of

MSSA infections in our country, increased significantly at high microorganism concentrations by 25% and 36.5% respectively, and the MIC value in high inoculum is an independent risk factor affecting mortality. Therefore, in high inoculum infections such as MSSA bacteremia or endocarditis, the inoculum effect of the causative strain should be considered when choosing the appropriate antimicrobial.

Key words: Inoculum effect, β -lactamase, MSSA bacteremia, cefazolin, ampicillin-sulbactam



1 GİRİŞ ve AMAÇ

Staphylococcus aureus tüm dünyada en önemli toplum ve hastane kaynaklı infeksiyon etkenlerinden biridir. İnsan ve hayvanların deri ve mukozalarında kolonize olurlar. Sağlıklı insanlarda *S. aureus* nazal taşıyıcılığı ortalama %30 oranındadır (1). Gıda zehirlenmesi ve hafif deri infeksiyonlarından, hayatı tehdit edici infektif endokardit, bakteriyemiye kadar çeşitli yelpazede infeksiyon hastalıklarına yol açarlar. Neredeyse her insan hayatı boyunca en az bir kez *S. aureus*'un etken olduğu bir infeksiyon hastalığı geçirir.

S. aureus bakteriyemisi (SAB) yüksek morbidite, mortalite ve sağlık bakımı maliyetiyle ilişkilidir (2,3). Son yıllarda damar içi araçların kullanımının ve cerrahi işlemlerin artması, bağışıklığı baskılanmış hasta sayısının fazla olması nedeniyle toplum kökenli ve hastane kökenli SAB insidansında artış olmuştur (4–6).

Bu çalışmada, bakteriyemi veya endokardit gibi yüksek inokulumlu infeksiyonlardan etken olarak izole edilmiş metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşlarının yüksek inokulumunda sefazolin etkinliğinin azalıp azalmadığı, etkinliğin azaldığı durumlarda buna neden olan bakteriyel özelliklerin (β -laktamazların varlığı vb) tanımlanması, bu tür suşların neden olduğu infeksiyonlarda sefazolinle tedavi yapılmasının tedavi başarısına etki edip etmediği araştırılmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus yaklaşık 1 μ m çapında, üzüm salkımı görünümüne benzer küme yapan, fakültatif anaerop, Gram-pozitif kok şeklinde bir bakteridir. Genellikle deri ve derideki salgı bezlerinde, mukozalarda, özellikle de sağlıklı kişilerin burnunda komensal olarak bulunur (7). Zenginleştirilmiş besiyerinde 'altın' renkli koloniler oluşturur. Koyun kanlı agarda β -hemoliz yapar (8). Stafilokoklar katalaz-pozitif olmalarıyla streptokoklardan ayrılırlar. *S. aureus* koagülaz üretilir kanda protrombinle etkileşir, fibrinojenin fibrine dönüşümüne katkıda bulunarak plazmanın koagülasyonuna neden olur. Koagülaz üretebilme özelliği, *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt eden özelliğidir (8). Bu özelliği sayesinde stafilokoklar koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) ve koagülaz-pozitif olan *S. aureus* olarak ayrılırlar. Bunun dışında *S. aureus* 20'den fazla adezin ve 30'dan fazla toksin genine sahipken, KNS'lerin 10'dan az adezin genleri vardır ve toksin genleri bulunmamaktadır. Bu durum *S. aureus*'u diğer stafilokoklara göre çok daha güçlü bir patojen konumuna getirmektedir (9,10).

2.2 Patofizyoloji

S. aureus'un kanda persiste etmesi, derin dokulara invazyonu ve sekonder infeksiyon odakları oluşturmasındaki ana faktör stres durumunda (örn; immun sistem yanıtı, dolaşan antibiyotikler) virulans faktörlerini geliştirme kabiliyetidir. *S. aureus* bunu çok gelişmiş düzenleyici sistemiyle yapar. *S. aureus*'un çevresel koşullara uyum sağlamasına yardımcı olan en az 3 regülatör sistemi vardır. Bunlardan ilkini aksesuar gen regülatörü (*agr*)'nün örnek oluşturduğu iki bileşenli regülatör sistemler oluşturur, ikincisini çoğunlukla *Sar* ailesi tarafından temsil edilen DNA-bağlayıcı proteinler, sonuncusunu ise küçük düzenleyici RNA'lar oluşturur (11). *S. aureus* suşları etkin bir şekilde deri ve nazal mukozaya yapışır, kolonize olur, kan dolaşımına katılır, immunolojik yanıttan kaçar, koruyucu biyofilmler oluşturur ve çeşitli anitibiyotiklere direnç geliştirir (12).

2.2.1 Adezyon ve Kolonizasyon

S. aureus'un virulans faktörleri bakterinin burna, hasarlı deriye veya vücuttaki yabancı cisimlere yapışmasına ve kolonize olmasına, ardından ciddi kan dolaşımı infeksiyonu geliştirmesine neden olabilir(13).

S. aureus konak ekstraselüler matriks proteinlerine, hücre duvarına bağlı çeşitli proteinlerle tutunur (1,14). Bunlardan konak dokusuna bağlanmayı ve kolonizasyonu sağlayan bakteri yüzey bileşenleri olan adezif matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşen (MSCRAMM)'leri ve protein kümeleştirici faktör A (*ClfA*) birçok infeksiyonda rolü olan önemli virülans faktörleridir (14–16). MSCRAMM'lar fibronektin, fibrinojen ve kollajen ilişkili polisakkaridlere bağlanabilir(17). Bunun yanında *ClfA* plazma proteini kaplı biyomateriyallere tutunarak bakterinin burada kolonize olmasına ve biyofilm oluşturmasına katkıda bulunur. (18). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kümeleştirici faktör B (*ClfB*) ve *S. aureus* yüzey proteini G (*SasG*)'nin nazal epitelyal hücrelere tutunduğu ve nazal kolonizasyonda katkıları olduğu gösterilmiştir(15,19).

S. aureus'un nazal kolonizasyonunda hücre duvarında bulunan ve hücre duvarının saf ağırlığının %50'sini oluşturan bir polimer olan teikoik asid büyük rol oynar (13,20).

2.2.2 Nazal Kolonizasyon

S. aureus komensal bir patojendir. İnsanlarda major kolonizasyon bölgesi anterior burun deliği bölgesidir. İnsanların yaklaşık 20–30%'u *S. aureus*'un sürekli taşıyıcısıdır ve %30'u geçici taşıyıcısıdır (21). Her ne kadar kolonizasyonun konağa belirgin bir zararı olmasa da, *S. aureus* doğal immüniteyi aşıp daha derin dokulara ulaşarak çeşitli yüzeysel ve invazif

infeksiyonlara neden olabilir. (21,22). Konak immün sisteminin baskılanması durumunda bakterinin kaynak oluşturmaya başlaması nedeniyle, kolonizasyon infeksiyon riskini ciddi derecede artırır (23). *S. aureus* infeksiyonu olan hastalar sıklıkla taşıdıkları aynı suşla enfekte olurlar (24). *S. aureus* toplumdaki sağlıklı kişilerde sıklıkla impetigo, folikülit, ve kutanöz apse gibi hafif deri ve yumuşak doku infeksiyonlarına, daha nadiren de pyomyozit, nekrotizan fasiit ve nekrotizan pnömoni gibi ciddi infeksiyonlara yol açar (22,25–27).

S. aureus nazal taşıyıcılığı cerrahi (28) ve genel hasta popülasyonunda (29), hemodiyaliz (30) veya peritoneal diyaliz (31) hastalarında, karaciğer sirozu olanlarda ve karaciğer transplantasyonu sonrasında (32), HIV’le enfekte hastalarda (33) ve yoğun bakım biriminde (YBB) takip edilen hastalarda (34) nozokomiyal infeksiyon gelişimi için risk faktörü olarak belirlenmiştir.

Şu ana kadar nazal *S. aureus* eradikasyonunun sadece diyaliz ve cerrahi hastalarında faydalı olduğuna dair sınırlı kanıt vardır (21).

2.2.3 Biyofilm

Doğada mikroorganizmalar, bağımsız (planktonik) şekilden çok biyofilm (sesil) şeklinde bulunmaktadır. Biyofilm, tek ya da birden fazla türün ürettiği hücre dışı polimerik madde (EPS)’den oluşan biyofilm matriksi içerisinde organize olmuş, çok hücreli canlı benzeri davranış gösteren mikroorganizma topluluklarıdır (35). Tedavi sürecinde gerek antibiyotiklerin bakterilere ulaşmasını engelleyerek gerekse içindeki bakterilerin planktonik formda olmaları nedeniyle antibiyotiklere toleransa yol açarlar.

Vücuda implante edilmiş cisimler bir süre sonra konak proteinleriyle kaplanırlar. *S. aureus*’un MSCRAMM’ları bu konak proteinlerine bağlanarak biyofilm oluşumuna neden olur. Enfeksiyon sırasında MSCRAMM’lar fibrinojen, fibronektin ve kolajene bağlanarak enfeksiyonun ilerlemesinde büyük rol oynarlar (14,36).

Biyofilmin oluşmasından sonra bazı hücreler tekrar planktonik forma dönüşüp buradan ayrılarak yeni bir enfeksiyon odağına ya da sepsis gibi akut bir enfeksiyon tablosuna yol açabilir (37). *S. aureus* salgıladığı 10 farklı proteazla biyofilm içindeki önemli matriks proteinlerini parçalayarak biyofilmin istikrarsız bir yapı almasına neden olur (38,39). Proteazların üretimini *S. aureus*’un agr gen bölgesi tarafından düzenlenen quorum sensing sistemi tarafından düzenlenir(40).

Mikroorganizma biyofilm ortamında konak savunmasından korunduğu gibi antibiyotiklere karşı da direnç kazanır (41). Antibiyotiklere karşı gelişen direnç biyofilm dağılıp,

bakterinin planktonik duruma geçmesiyle sonlanır (42). Biyofilm aynı zamanda enfeksiyonun kronikleşmesinde de rol oynar (43).

S. aureus iki farklı ekstraselüler nükleaz (Nuc ve Nuc 2) üretir (44). Nuc'un enfeksiyon patogeneziindeki rollerinden birinin biyofilm gelişimiye (45), diğerinin de konak savunmasından kaçmakla ilgili olduğu düşünülmektedir(46).

2.2.4 İnvazyon

S. aureus deri bariyerini eksfoliyatif toksinler (47), hemolizinler (epitel hücrelerinde por oluşturan α -hemolizin dahil) ve dokuyu tahrip eden farklı enzimlerle (48) aşar. İmmün sistem baskılandığı, fiziksel bariyer zarar gördüğü ve/veya lokalize inflamasyon geliştiği zaman invazyon gelişebilir(12,49).

S. aureus α -hemolizin, β -hemolizin, γ -hemolizin ve δ -hemolizin olmak üzere en az 4 tip hemolizine sahiptir. Bunlardan biri de 1932'de Panton ve Valentine tarafından tanımlanan bir γ -hemolizin homoloğu olan Panton-Valentin lökositini (PVL)'dir. Hemolizinler ağırlıklı olarak deri tarafından regüle edilirler. PVL diğer hemolizinlerin aksine hareketli bir faj tarafından kodlanır ve bu nedenle diğer suşlara aktarılabilir (50). PVL prevalansı MSSA ve nosokomiyal MRSA'larda çok düşükken toplum kökenli MRSA'ların neredeyse %100'dür (51). Bu suşlar deri ve yumuşak doku enfeksiyonu ve ciddi hemorajik pnömoniyle ilişkili bulunmuştur (52).

2.2.5 Kaçınma

Klinik örneklerden elde edilen *S. aureus*'ların %90'ı polisakarid bir kapsüle sahiptir. 11 serotip tanımlanmıştır. Serotip 5 ve 8 enfeksiyonların %75'inden sorumludur. Bu iki kapsül antifagositik özelliği olan fukoz ve mannozu da içeren çeşitli karbonhidratlardan oluşur (11). Hayvan modellerinde serotip 5 ve 8 kapsüllere karşı gelişen antikorlar sepsisten koruyucu bulunmuştur. Aynı şekilde bu kapsüllere karşı geliştirilen konjüge bir aşının hemodiyaliz hastalarında geçici bir koruyuculuğu olduğu görülmüş (53).

S. aureus immün sistemden kaçabilmek için antifagositer özelliği olan protein A (SpA) dahil birçok molekül üretir. SpA bakteri yüzeyinde bulunan ve ekstraselüler ortama sekrete edilen immünoglobulin bağlayıcı bir proteindir. (54). Bunun yanında *S. aureus* salgıladığı lökotosinlerle (örn;Panton-Valentin lökositini) lökositlerin lizisine neden olur (48). Ayrıca enterotoksin ve toksik şok sendromu toksin-1 gibi süperantijenler salgılayarak immün sisteminin aşırı uyarılmasına ve ardından uyarılan naif T hücrelerinin inaktivasyonuna neden olur (55,56).

Aktive nötrofiller infeksiyon bölgesinde nükleer DNA salgılayarak bakterileri yakalar ve öldürülmesine katkı sağlar, bunlara nötrofil ekstraselüler tuzak (NET)'ları denilir (57). *S. aureus* tarafından salgılanan ve biyofilm oluşumuna da katkı sağlayan nükleazlar NET'leri parçalayarak bakterinin konak savunmasından kaçmasına yardımcı olur (46,58).

2.2.6 Antibiyotik Direnci

S. aureus suşları penisilin, sefalosporinler, metisilin, vankomisin ve linezolid dahil antibiyotiklere direnç geliştirmiştir. Günümüzde insanlardan izole edilmiş olan *S. aureus* suşlarının %90'ı penisiline dirençlidir. Stafilokoklardaki penisiline ve diğer β -laktamlara karşı olan direnç, *blaZ* geni tarafından kodlanan penisilinazın üretimiyle ilişkilidir. Bu enzim β -laktam halkasını hidrolize ederek etki eder. *S. aureus* 'da tip A, B, C ve D olmak üzere dört tip penisilinaz tanımlanmıştır. Bunların hepsi Ambler sınıf A β -laktamazlardır. Tip A, C ve D penisilinazlar genellikle plazmid tarafından kodlanırken, tip B penisilinaz kromozomda bulunur (59).

Penisilinaz üreten *S. aureus* suşları 1940'ların ortalarında penisilin kullanımına başlanmasının hemen ardından ortaya çıkmıştır. Şu an toplum ve hastane kaynaklı *S. aureus* suşlarının >%80'ini temsil etmektedir (60). Penisilinazdan etkilenmeyen sefalosporinler, semisentetik metisilin ve nafisilin 1950'lerin sonlarında kullanıma başlanmıştır. Aynı dönemde ilk MRSA suşları da bildirilmeye başlanmıştır (61). MRSA suşları penisilin-bağlayan protein 2a kodlayan *mecA* geni ve *fem* genini elde ederek metisiline, penisilinaz dirençli penisilinlere ve sefalosporinlere direnç geliştirir (62).

S. aureus'un klinik suşlarında orta düzey direnç ve tam direnç olmak üzere iki tip vankomisin direnci tanımlanmıştır. CLSI'nın 2012 rehberlerine göre *S. aureus*'ta vankomisin sınır değerleri, MİK düzeylerinin ≤ 2 mg/lt olması durumunda duyarlı, 4 to 8 mg/lt arasında orta düzey dirençli (VISA), ve ≥ 16 mg/lt üzerinde ise yüksek düzey dirençli (VRSA) olarak belirlenmiştir (11). Bir diğer kullanılan direnç terimi ise heterorezistan VISA (hVISA)'dır ve vankomisin MİK değeri ≤ 2 mg/lt olan fakat dirençli kolonilere sığınak oluşturan suşları kapsar. Vankomisinin orta ve heterorezistan-orta dirençli *S. aureus* suşlarındaki direncin aksesuar gen düzenleyici yolakla ilişkili olan yapısal veya düzenleyici genlerdeki mutasyonlara bağlı olduğu düşünülmektedir (63). *S. aureus*'un *VanA* genini elde etmesiyle tam vankomisin direnci gelişir (MİK ≥ 32 mg/lt) (64). Vankomisine karşı belirgin ve açık dirence ek olarak 'MİK'te kayma' (MIC creep) denilen bir durum da bildirilmiştir. Bu durum, glikopeptid grubuna karşı zamanla MİK değerlerinde sinsi bir şekilde küçük artışlar olması olarak tanımlanabilir. Klinik olarak önemli bir duyarlılık kaybına neden olabileceği ileri sürülmüştür (65,66).

Linezolid direnci çoğunlukla *S. aureus*'un ribozomal RNA'sındaki mutasyona bağlı gelişir (67). Ayrıca plazmid kaynaklı ribozomal metiltransferaz geninin, cfr geninin alınması aktarılabılır linezolid direncine neden olur (68).

2.3 *Staphylococcus aureus* İnfeksiyonları

S. aureus komensal bir bakteri olmasının yanında çeşitli infeksiyonlara yol açan bir insan patojenidir. Bakteriemi ve infektif endokarditin önde gelen etkenlerinden biri olduğu gibi kemik ve eklem infeksiyonları, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, akciğer ve plevra infeksiyonları, yabancı cisim infeksiyonlarının da en önemli etkenlerinden biridir (69).

Kronik infeksiyonlar *S. aureus*'un biyofilm oluşturma özelliğiyle ilişkilidir. *S. aureus* kemik, kalp kapağı gibi konak dokularına tutunabilir ve orada kalarak endokardit ve osteomyelite neden olabilir. Aynı şekilde kateterler, protez eklemler ve kalp pilleri gibi yabancı cisimlerde de biyofilm oluşturarak infeksiyona neden olabilir (70–73). Medikal cihazlar ve konak dokusu üzerinde biyofilm oluşturma yeteneği nedeniyle *S. aureus* yabancı cisim infeksiyonlarında önde gelen patojendir ve tehlikeli, kronik, tekrarlayan infeksiyonlara neden olur (43).

2.3.1 İnfektif Endokardit

Tüm dünyada ve Türkiye'de tüm infektif endokardit (İE) çeşitleri birlikte değerlendirildiğinde, etkeni belirlenmiş İE olgularında en sık tanımlanan etkenler sırasıyla *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, KNS ve *Enterococcus spp.* (%9)'dır (74). Modifiye Duke ölçütlerinde *S. aureus* bakteriyemisi (SAB) toplum veya hastane kökenli olması fark etmeksizin İE tanısında major ölçüt olarak kabul edilir (75).

S. aureus İE'si fulminan seyirlidir; sıklıkla metastatik infeksiyon odakları vardır ve mortalitesi %40'tan fazladır. Başka nedenlerle *S. aureus* bakteriyemisi olan hastaların toplamda %10-12'sinde, altta yatan kapak hastalığı olanların ise %50'sinde İE gelişir (76).

2.4 *Staphylococcus aureus* Bakteriyemisi

2.4.1 Epidemiyoloji

Kan dolaşımı infeksiyonu ciddi, hayatı tehdit eden bir durumdur. 1000 hastane yatışından 16.9'u kan dolaşımı infeksiyonuyla ilişkilendirilmiştir (77,78). Günümüzde SAB insidansı 100000 insan yılında 10-30 olarak değişmektedir (79).

SAB, toplum kaynaklı, hastane kaynaklı (nozokomiyal), sağlık bakımıyla ilişkili bakteriyemi olmak üzere üçe ayrılır (80). 1998 ve 2005 yılları arasında Minnesota'da yapılmış

olan 247 SAB'ı içeren prospektif bir kohort çalışmasında olguların %23'ü nozokomiyal, %59'u sağlık bakımıyla ilişkili, %18'i toplum kaynaklı olarak saptanmıştır (81).

S. aureus toplum kökenli bakteriyemi (TKB) etkenleri arasında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sırada yer alır, 100000'de 15-40 kişide görülür (79,82-86). Nozokomiyal bakteriyemi etkenleri arasında da 1997-2002 yılları arasında 181.000 suşun incelenmiş olduğu SENTRY Antimikrobik Sürveyans Programı'nda Kuzey Amerika'da (%26) ve Latin Amerika'da (%21.6) en sık, Avrupa'da ikinci sık (%19.5) etken olarak saptanmıştır (87).

Amerika'da 1995-2002 yılları arasında 42 hastanenin katılımıyla yapılan, nozokomiyal bakteriyemilerin takip edildiği prospektif bir çalışmada nozokomiyal bakteriyemi sıklığı 10000 hastane yatışından 60 olarak saptanmıştır. Nozokomiyal bakteriyemilerin etkenlerinin yaklaşık 3'te 1'ini koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) (%31) oluştururken, diğer etkenler sıklık sırasına göre *S. aureus* (%20), enterokoklar (%9), *Candida* türleri (%9) olarak saptanmıştır. En sık saptanan Gram-negatif bakteriler *E.coli* (%6) ve *Klebsiella* türleri (%5) olarak bulunmuştur. Nozokomiyal bakteriyemilerin %50.5'i YBB'de yatan hastalarda gelişmiştir (5).

2.4.2 Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA)-Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) Görülme Sıklığı

SAB görülme oranı zamanla büyük ölçüde benzer kalmış olsa da MRSA oranı infeksiyon kontrol önlemlerinin geliştirilmiş olmasına bağlı olarak azalmıştır (22).

MRSA, Amerika'da toplumda ve hastane ortamında endemiktir (88). Bir çalışmada deri ve yumuşak doku infeksiyonuyla acile başvuran hastaların %50'si MRSA-pozitif saptanmıştır (89). Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda *S. aureus* suşları içinde MRSA olanların oranı %60-90 (en yüksek YBB'lerinde) saptanmışken, toplum kökenli suşlarda bu oran %20 bulunmuştur (90).

Laupland ve arkadaşları (79)'nın 2000-2008 yılları arasında Finlandiya, Avustralya, İsveç, Danimarka ve Kanada'dan merkezlerin katıldığı çok merkezli bir nüfusa dayalı kohort çalışmasında 18 430 *S. aureus* bakteriyemisi olgusu (toplum kökenli, hastane kökenli, sağlık bakımıyla ilişkili bakteriyemilerin tümü) saptanmış ve bunların 17 618 (%95.6)'i MSSA, 812 (%4.4)'si ise MRSA olarak tanımlanmıştır.

2005-2012 yılları arasında nozokomiyal MRSA bakteriyemi sıklığı yılda %17 oranında azalmış, fakat 2013-2016 yılları arasında oran çok değişmemiştir. Eşzamanlı olarak toplum kökenli MSSA bakteriyemileri 2012 ve 2017 yılları arasında yılda %3.9 oranında artmıştır(91).

Amerika’da 2005-2014 yılları arasında yapılmış olan 40 792 *S. aureus* suşunu içeren tek merkezli bir çalışmada kan kültürlerinden elde edilen suşlara (n=702) bakıldığında %40.3 saptanmıştır (92).

2.5 Risk Faktörleri

Daha önce *S. aureus* ile infekte veya kolonize olmak, hastane başvurusunda deri ülserlerinin veya selülitin olması, santral venöz kateter bulunması, üriner sonda takılması, cerrahi alan infeksiyonu, damar içi ilaç kullanımı, immünoşüpresif bir hastalığın bulunması, kortikosteroid kullanımı ve karaciğer hastalığı SAB gelişmesine katkı sağlayan risk faktörleridir (12).

Daha önce yapılan retrospektif kohort veya olgu-kontrol çalışmalarında ileri yaş, erkek cinsiyet, alkol kullanımı, akciğer rahatsızlığı, kanser, diyabet, son dönem böbrek yetmezliği ve diyalize giriyor olmak hastaneye başvuru gerektiren toplum kökenli *S. aureus* infeksiyonlarında risk faktörleri olarak bulunmuştur (93,94).

Toplum kökenli MRSA (USA300 suşu) infeksiyonu için risk faktörleri 59 yaş ve altı, intravenöz ilaç kullanımı, evsiz olmak, hepatit C virusu infeksiyonu olması, HIV infeksiyonu olması olarak belirlenmiştir (95).

Cerrahi geçirmiş olmak, uzun süre hastanede yatmak, 65 yaş ve üstü olmak, mekanik ventilasyon ve santral venöz kateter bulunması nozokomiyal MRSA bakteriyemisi için risk faktörleridir (96).

Cerrahi hastalar (28) ve genel hasta popülasyonunda (29), hemodiyaliz (30) veya peritoneal diyaliz (31) hastalarında, karaciğer sirozu olanlarda ve karaciğer transplantasyonu sonrasında (32), HIV’le infekte hastalarda (33) ve YBB’de takip edilen hastalarda (34) nazal *S. aureus* taşıyıcılığı nozokomiyal infeksiyon gelişimi için risk faktörü olarak belirlenmiştir. Nazal *S. aureus* eradikasyonunun sadece diyaliz ve cerrahi hastalarında faydalı olduğuna dair sınırlı kanıt vardır (21).

S. aureus, damar içi araçlarla ilişkili bakteriyemi etkenleri arasında koagülaz-negatif stafilokoklardan (KNS) sonra ikinci sıklıkta izole edilen bakteridir (97–99). Pujol ve arkadaşları (100) YBB’deki bakteriyemi kaynağının genellikle damar içi araçlar olduğunu saptamışlardır.

2.6 İnokulum Etkisi

İnokulum etkisi (İnE), inoküle edilen MİK’inde belirgin artış gözlenmesiyle karakterize bir laboratuvar bulgusudur (101). Bir başka deyişle belirli antibiyotik grubunun (β -laktamlar ve glikopeptidler gibi) yüksek miktarda bakteri varlığında etkisinin azalmasına inokulum etkisi denir (102,103).

Derin yerleşimli MSSA infeksiyonlarının tedavisinde sefazolinin başarısızlığı stafilocokların belirli β -laktamaz tipleriyle ilişkili bulunmuştur. Bu enzim *blaZ* geni tarafından kodlanır ve aminoasid dizilimine göre dört izotipe ayrılır (A, B, C, D). Sefazolinin tedavi başarısızlığı sıklıkla tip A ve C β -laktamaz enzimleriyle meydana gelir ve bu enzimler sefazolin inokulum etkisiyle ilişkilendirilmiştir (104).

İnokulum etkisinin derecesi MSSA suşuna göre değişir. Çeşitli çalışmalarda inokulum etkisi sefazolinin MIC değerinin yüksek inokulumda standard inokulumu göre 4 kat veya daha fazla artışı ve böylece duyarlılığının dirençli yöne değişmesi şeklinde tanımlanmıştır (105–109).

Üriner sistem gibi yaygın infeksiyon bölgeleri 10^6 cfu/ml gibi bir inokulum miktarına sahipken, periton sıvısı bazen 10^8 cfu/ml miktarını geçen bakteri yoğunluğuyla ilişkilendirilmiştir (110). *S.aureus* aynı zamanda ağır infeksiyon yükünün olduğu İE’nin de en sık nedenlerindendir ve burada da 10^8 - 10^{11} cfu/ml aralığında bir bakteri yükü söz konusudur (111). Bu gibi yüksek bakteri yoğunluğu olan infeksiyon türlerinde sefazolin gibi β -laktamların etkisinin azalabileceği düşünüldüğünde inokulum etkisinin varlığının araştırılması ve klinik etkisinin gösterilmesi önemlidir. Birçok retrospektif çalışmada inokulum etkisinin mortaliteye katkısının olmadığı gösterilmişken, birçoğunda da klinik etkisinin olabileceğini savunulmaktadır.

2.7 Klinik Yaklaşım

S. aureus bakteriyemili bir hastanın yönetiminde ayrıntılı anamnez ve fizik muayene, ekokardiyografi ve gereğinde diğer görüntüleme yöntemlerinin kullanımı çok önemlidir. Bu hastaların yönetiminde infeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji uzmanının yardımını almak yeni bakteriyemi ataklarını önlemede ve 10 yıllık uzun dönem sağkalımda etkili bulunmuştur (112).

İnfeksiyon odağının bilinmediği durumlarda hasta, yakın dönemde deri ve yumuşak doku infeksiyonu öyküsü veya damar içi kateter, ortopedik protezler ve kardiyak cihazlar gibi olası giriş kapıları açısından sorgulanmalıdır. Hastalar aynı zamanda metastatik infeksiyonu düşündürecek semptomlar açısından da sorgulanmalıdır. Kemik ve eklem ağrıları (özellikle de

sırt ağrısı vertebral osteomyeliti, epidural apseyi düşündürebilir), karın ağrısı (dalak infarktında olabilir), kostovertebral aç hassasiyeti (renal infarkt veya psoas absesini gösterebilir) ve baş ağrısı (septik emboliyi gösterebilir) metastatik odak açısından mutlaka sorgulanmalıdır. Fizik muayenede öncelikle gözden kaçabilecek deri ve yumuşak doku enfeksiyonu açısından hasta değerlendirilmeli, kardiyak üfürüm açısından kardiyak muayenesi yapılmalı, endokardit bulguları açısından hasta değerlendirilmeli, fokal nörolojik tutulum açısından nörolojik muayenesi yapılmalıdır.

S. aureus bakteriyemisi olan tüm hastalarda endokardit dışlanabilmesi için ekokardiyografik inceleme yapılmalıdır. Ayrıca endoftalmi açısından göz dibi muayenesinin de yapılması yararlı olur.

2.8 Tedavi

Stafilokok bakteriyemisinin empirik antibiyotik tedavisinde gecikme hastanın sağ kalımında kritik öneme sahiptir. Tedavinin başlanmasında 44 saatlik bir gecikme olması enfeksiyonla ilişkili mortalite olasılığında 4 kat artışa neden olmaktadır ('odds' oranı [OR], 3.8; %95'lik güvenlik aralığı [CI], 1.3–11.0) (113). Uygun empirik tedavi hastanın klinik özellikleri ve epidemiyolojik özellikler dahil birçok faktör göz önüne alınarak belirlenir. Bu nedenle uygun empirik tedaviyi belirlemek için enfeksiyon hastalıkları konsültasyonu yapılmalıdır (114).

SAB yönetiminde genel olarak izlenmesi gereken yol hastanın enfeksiyonunun komplike olup olmadığını belirlemek, enfekte odağı belirleyip çıkarmak ve uygun antibiyotik tedavisini enfeksiyon odağına göre uygun süre ve dozda vermektir (115).

Nafsilin ve oksasilin gibi anti-stafilokoksik penisilinler (ASP) MSSA bakteriyemisi tedavisinde ilk tercih olarak önerilen antibiyotiklerdir (111,115,116). ABD ve Avrupa kılavuzlarında MSSA İE'si tedavisinde de ilk seçenek olarak anti-stafilokoksik penisilinler, alternatif olarak da sefazolin önerilmektedir (111,117). Her ne kadar sefazolin uygun doz aralığı ve tolerabilite nedeniyle MSSA enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılıyor olsa da, daha dar spektrumlu olmaları ve daha düşük inokulum etkileri nedeniyle ciddi SAB'larda anti-stafilokoksik penisilinler tercih edilir (118–120). Fakat bazı çalışmalarda semisentetik penisilinlerin sefazoline göre anlamlı derecede yüksek yan etkiye neden olduğu gösterilmiştir (118–121).

Türkiye’de anti-stafilokoksik penisilinlerin olmamasından dolayı MSSA bakteriyemi ve endokarditlerinde sefazolin ilk tercihtir (74). Japonya’da da benzer şekilde nafsilin ve oksasilin kullanılmamaktadır ve sefazolin MSSA bakteriyemilerinde ilk tercihtir (22).

Nannini ve arkadaşları (105), sefazolin inokulum etkisi (CzİE)’nin sefazolin tedavi başarısızlığıyla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Lee ve arkadaşları (122)’nin 10 merkezi içeren prospektif bir gözlemsel kohort çalışmasında CzİE’nin varlığında MSSA bakteriyemilerinin tedavisinde sefazolin kullanımının tedavi başarısızlığıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Arjantin’de yapılmış, prospektif, gözlemsel bir çalışmada 77 MSSA bakteriyemisi olan hastanın %54.5’inde CzİE bulunmuş ve bu hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğu saptanmıştır (123). 242 MSSA bakteriyemisini içeren ve sefazolinle nafsilini karşılaştıran bir çalışmada ortalama tedavi başarısızlığı %43.8 (106/242) saptanmış ve sefazolinle tedavi başarısızlığının nafsilinden daha düşük olduğu görülmüştür (%30.4, 24/79 ve %49.4, 39/79, $p=0.015$). Bunun sebebi olarak da nafsilinle tedavide yan etki nedeniyle tedaviyi bırakma oranının daha fazla olması gösterilmiştir. Fakat veriler sepsisteki hastalarla sınırlandırıldığında iki antibiyotik arasında tedavi başarısızlığı konusunda bir fark olmadığı görülmüştür. Sefazolin tedavi kolunun %22’sinde CzİE saptanmış olduğu ve bu durumun da tedavi başarısızlığı ve mortalite üzerine büyük etkisinin olduğu bildirilmiştir (122).

İki retrospektif gözlemsel çalışma sonucunda ise CzİE bulunan MSSA bakteriyemisi tedavisinde sefazolinin kullanımının olumsuz klinik sonuçlara neden olmadığı saptanmıştır. Bunlardan Lee ve arkadaşları (122)’nin çalışmasında 113 suşun %57.5’inde sefazolin inokulum etkisi saptanmış ve persistan bakteriyemi CzİE pozitif grupta daha sık olduğu görülmüştür (%9/%0, $p=0.04$).

Sefazolinin inokulum etkisi dışında bir diğer sorunu MSS’ye geçmemesidir (118). Bu nedenle merkezi sinir sistemi (MSS) primer ve metastatik infeksiyonlarında kullanılamamaktadır. Aynı şekilde infektif endokardit gibi MSS’ye emboli olduğu kuşku edilen durumlarda da ampirik tedavide tercih edilmemelidir. MSS’ye geçişleri iyi olduğu bilinen seftriakson, sefotaksim ve sefuroksimin stafilokoksik bakteriyemilerinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı vardır (124). Sefotaksim aynı zamanda 2015 European Society of Cardiology (ESC) kılavuzunda MSSA İE’si tedavisinde sefazolinle birlikte alternatif tedavide önerilen bir diğer ajandır (117). Sefotaksim her ne kadar retrospektif gözlemsel bir çalışmada az sayıda MSSA bakteriyemisinde etkili bulunmuş olsa da aynı çalışmada sefazolinden daha etkisiz olduğu gözlenmiştir (125).

98 β -laktamaz pozitif MSSA suşunu içeren ve farklı β -laktam antibiyotiklerin inokulum etkisini araştıran bir çalışmada sefuroksimin yüksek inokulumda β -laktamaz varlığından etkilenmediği görülmüştür (126). Danimarka’da yapılmış olan, MSSA bakteriyemilerinde dikloksasilin ile sefuroksimi karşılaştıran retrospektif bir kohort çalışmasında 691 hastadan 398’i dikloksasilin, 323’ü sefuroksim tedavisi almış. Bu iki grup arasında 30 günlük mortalitede istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış fakat 90 günlük mortalite sefuroksim alanlarda daha yüksek saptanmıştır (127). Sefuroksimin deneysel endokardit modelinde metisilin ve sefazolinle benzer etkinliğinin olduğu görülmüş ve tip A β -laktamazın yüksek miktarda üretildiği durumlarda yine bir endokardit modelinde sefazolinden daha etkili bulunmuş(126).

Seftriakson MSSA’ya karşı *in vitro* etkili olan 3.kuşak bir sefalosporindir (128). MSSA tedavisinde çekici bir alternatif tedavi seçeneği oluşturmaktadır. Avrupa’da tüm ayaktan parenteral tedavi tercihlerinin %18’ini oluşturur (129). 2009-2014 yılları arasında, en az 14 gün sefazolin veya seftriaksonla tedavi edilmiş MSSA bakteriyemili hastalarda yapılmış retrospektif bir kohort çalışmasında tedavi başarısızlığı sefazolin alan 38 hastada %29, seftriakson alan 33 hastada %55 saptanmıştır ($p=0.029$). MSSA enfeksiyonu tedavisinde seftriaksonu diğer antistafilokoksik antibiyotiklerle karşılaştıran bir derlemede; enfeksiyonun gerilemesi, hastanede kalış süresi, bakteriyeminin yinelenmesi ve yan etkiler açısından antibiyotikler arasında bir fark saptanmamıştır (130).

‘İnfektif Endokardit Ulusal Uzlaş Raporu’nda septik kranial embolisi olan MSSA İE’li hastalarda tedavi seçeneği olarak önerilen vankomisin, MSSA bakteriyemilerinde β -laktamlardan daha başarısız olması nedeniyle, sefazolinle birlikte kullanılmasının akılcı olduğu öne sürülmüştür. MSSA İE’li hastalarda MSS embolisi düşünülüyorsa sefazolin + vankomisin veya tek başına sefotaksim tedavisi yapılması en akılcı yaklaşım olarak önerilmiştir (74). Bu durum İE dışı MSS tutulumunda da uygulanabilir.

MRSA şüphesi olması durumunda antibiyotik tedavisindeki gecikmeler mortalitenin artışına neden olabileceğinden MRSA enfeksiyonu dışlanana kadar vankomisin gibi bir anti-MRSA ajanın da ampirik tedavide yer alması gerekir (131). Vankomisinin MSSA bakteriyemisinde klinik etkisinin zayıf olduğu yönünde birçok kohort çalışması olması nedeniyle kültür duyarlılık sonuçları çıkana kadar empirik tedavide bir anti-stafilokoksik penisilin (nafsilin veya oksasilin) veya birinci kuşak bir sefalosporin (sefazolin) de yer almalıdır (132–136).

SAB’ın empirik tedavisinde vankomisin ve β -laktam kombinasyonu ile ilgili çalışmaları ele almış bir derlemede kısa süreli bir dönem için dahi olsa (örn; 3 gün) ampirik tedavide

vankomisinin yanında β -laktam verilmesinin vankomisin monoterapisine göre daha iyi klinik sonuçlara yol açtığı saptanmış. Bu nedenle MRSA ve MSSA'nın ikisinden de şüphelendiğimiz durumda empirik tedavide bir β -laktam ve vankomisin kombinasyonu tercih edilmesi gerektiğini savunulmaktadır (88). Bunun yanında retrospektif bir kohort çalışmasında empirik tedavide sadece vankomisin başlanan ve kültürünün MSSA olarak sonuçlanmasının ardından β -laktam tedavisine geçilmiş olan hastaların klinik sonucu, empirik tedavide β -laktamlı rejim alan hastalarinkinden farklı bulunmamıştır (137).

MSSA bakteriyemisinin tedavisinde vankomisinden spesifik tedaviye (nafsilin ve oksasilin gibi anti-stafilokoksik penisilinler veya sefazolin) erken geçilmesinin klinik sonuçlarda iyileşmeye, nefrotoksisite ve persistan bakteriyemi gibi komplikasyonlarda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (136,138).

2.9 Mortalite

SAB, yüksek morbidite ve mortaliteyle ilişkilidir (22). Antibiyotik öncesi dönemde SAB mortalitesi %75-%83 oranında değişmekteydi (139,140). Son yıllarda SAB'leardaki olgu-fatalite hızı %15-50 arasında bir plato çizmektedir (141). Mortaliteyi etkileyen birçok neden vardır. Bunlar konakla ilişkili nedenler, patojen-konak etkileşimi ve patojenle ilişkili faktörlerdir. İleri yaş, komorbidite varlığı, enfeksiyonun bölgesi, yaygınlığı ve sürekliliği, enfeksiyon odağının uzaklaştırılmaması mortaliteyi öngördüren faktörler arasındadır (141).

Mortalite oranı metisiline direnç ve komorbidetelerin varlığı, YBB'ye yatış öyküsü ve daha önce antibiyotik kullanımı olmasına bağlı olarak (142) %20-30 şeklinde değişmektedir (143,144).

Austin ve arkadaşları (145)'nin 2020 yılında tamamladıkları 2007-2015 yıllarını kapsayan 1264'ü MSSA olan 2139 SAB'ı içeren retrospektif kohort çalışmalarında invazif MSSA bakteriyemilerinin mortalite oranında azalma olduğu bildirilmiştir. Yıllara göre gruplandıkları olguların mortalite oranları 2007-2009 yılları arasında %18, 2010-2012 yılları arasında bir önceki grupta aynı olarak %18, 2013-2015 yılları arasında ise %13 olarak saptanmıştır. Bunun sebebinin de mikroorganizmanın hızlı idantifikasyonu ve duyarlılık çalışmalarının hızlı sonuçlanmasına bağlı olarak doğru antibiyotiğe başlama süresinin kısalması olduğu öne sürülmüştür.

3 GEREÇ VE YÖNTEM.

3.1 Hasta Seçimi ve Veri Toplanması

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi (İÜİTF) Hastanesi'nde 2016-2018 yıllarında yatarak tedavi gören, tek şişe kan kültüründe MSSA üreyen, klinik olarak MSSA bakteriyemisi veya endokarditi olarak değerlendirilen ve etken suşu saklanmış olan hastaların tümü dahil edilmiştir.

Her bir hastanın yaşı, cinsiyeti, komorbiditeleri, geçirdiği operasyonlar, yabancı cisim varlığı, aldığı immunosupresif tedaviler, yakınmaları, vital bulguları (vücut sıcaklığı, kan basıncı, kalp hızı, solunum sayısı), klinik bulguları, hangi serviste takip edildiği, aldığı antibiyoterapiler kaydedildi. Antibiyoterapileri, empirik olarak başlanan tedavi, kan kültüründe Gram-pozitif kok üremesi olduğu öğrenildiği zaman yapılan antibiyoterapi değişikliği ve bakterinin MSSA olarak tanımlanmasının ardından yapılan antibiyoterapi değişikliği olarak kaydedildi. Ayrıca taburculuk sonrası verilen oral idame tedavileri de kaydedildi. Hastaların yatış ve tedavi süreleri, sağ kalımları önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Hastaların Charlson komorbidite indeksi ve PITT bakteriyemi skoru (123) hesaplanarak hastalıklarının ciddiyeti belirlendi.

3.2 Laboratuvar

Hastalardan izole edilmiş suşların öncelikle klasik yöntemlerle tanımlanması tekrarlandı, daha sonra disk difüzyon yöntemiyle antibiyogramı yapıldı. Suşların farklı 10^5 standard inokulum ve 10^7 yüksek inokulumda, sefazoline, ampisilin-sulbaktam, sefuroksime, sefotaksime, seftriaksona karşı duyarlılıkları, disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle (MİK olarak) belirlendi. Ampisilin-sulbaktamın her iki inokulumdaki duyarlılığı aynı zamanda Etest® ile çalışıldı. Bu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi, Etest® ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri için Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) tarafından belirlenen zon çapları ve MİK değerleri kullanıldı. Suşlardaki β -laktamaz varlığı nitrosefin diskiyle kalitatif olarak, PCR yöntemiyle spesifik gen bölgesi belirlenerek saptandı. β -laktamaz-pozitif olarak belirlenen suşlarda ise, β -laktamaz geni PCR ve dizileme yöntemiyle tanımlandı. Bu amaçla, öncelikle tüm suşlarda DNA ekstraksiyonu yapıldı, daha sonra *blaZ* geni yapısındaki 355-bp bölgesini amplifiye etmek için tasarlanmış olan F, 5'-CAA AGA TGA TAT AGT TGC TTA TTC-3' ve R, 5'-CAT ATG TTA TTG CTT GCA CCAC-3' primerleri kullanılarak PCR yapıldı. PCR ürünleri daha sonra DNA dizileme yöntemiyle analiz edildi. ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi, Ulusal

Biyoteknoloji İnfomasyon Merkezi (NLM, NCBTI) veri tabanı kullanılarak DNA dizileri tanımlandı.

Kontrol suşları olarak az miktarda tip A β -laktamaz ürettiği bilinen *S. aureus* ATCC 29213 suşu ve *blaZ* geni negatif *S. aureus* ATCC 25923 suşu kullanıldı.

3.3 Olgu Tanımlamaları

Yakın zamanda sağlık bakımı almamış hastalarda gelişen bakteriyemiler toplum kökenli bakteriyemi(146), hastane yatışından 48 saat sonra gelişen bakteriyemiler hastane kökenli ve yakın zamanda sağlık bakımı almış olup ayaktan ya da hastaneye yatışından 48 saat önce gelişen bakteriyemiler ise sağlık bakımıyla ilişkili bakteriyemi (SBİB) olarak tanımlandı (80). SBİB tanımına aşağıdaki ölçütlere sahip olan hastalar dahil edildi (77):

1. Bakımevinde yaşıyor olmak
2. Son 6 ay içinde hastane yatışı öyküsü
3. Hemodiyaliz alması
4. İmmünoşüprese olması (yakın zamanda kemoterapi ya da radyoterapi almış olmak, >5mg/gün prednizolon ya da eşdeğerini alıyor olmak, HIV enfeksiyonu, primer yada sekonder immün yetmezlik sendromu, kemik iliği ya da solid organ transplantasyonu öyküsü)

3.4 Bakteri Suşlarının İzolasyonu ve Saklanması

İÜİTF servislerinde yatarak tedavi gören ve kan kültürü örnekleri İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiş olup MSSA üreyen hastaların suşları -20°C’de saklanmakta ve kayıt altına alınmaktadır.

3.5 Bakteri Suşlarının Tanımlanması

Hastalardan izole edilmiş suşların öncelikle klasik yöntemlerle tanımlanması tekrarlandı. Suşlar %5 koyun kanlı agara ekildi, koloni morfolojileri gözlemlendi. Üreyen suşların hepsinde β -hemoliz gözlemlendi (Şekil 1). Bu suşların disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıklarına bakıldı, DNaz ve tüp koagülaz testleri yapıldı. DNaz ve tüp koagülaz testi pozitif olarak değerlendirilen suşlar *S. aureus* olarak değerlendirildi.

Suşların *S. aureus* olarak tanımlanmasının ardından ABD Klinik ve Laboratuvar Standardları Enstitüsü (CLSI) rehberleri temel alınarak standard ve yüksek inokulumda mikrodilüsyon yöntemiyle sefazolin, sefotaksim, sefuroksim, seftriakson ve ampisilin-sulbaktam duyarlılıklarına bakıldı. Yüksek inokulumda MİK değerlerinde 4 kat ve üzeri bir artış inokulum etkisi olarak tanımlandı



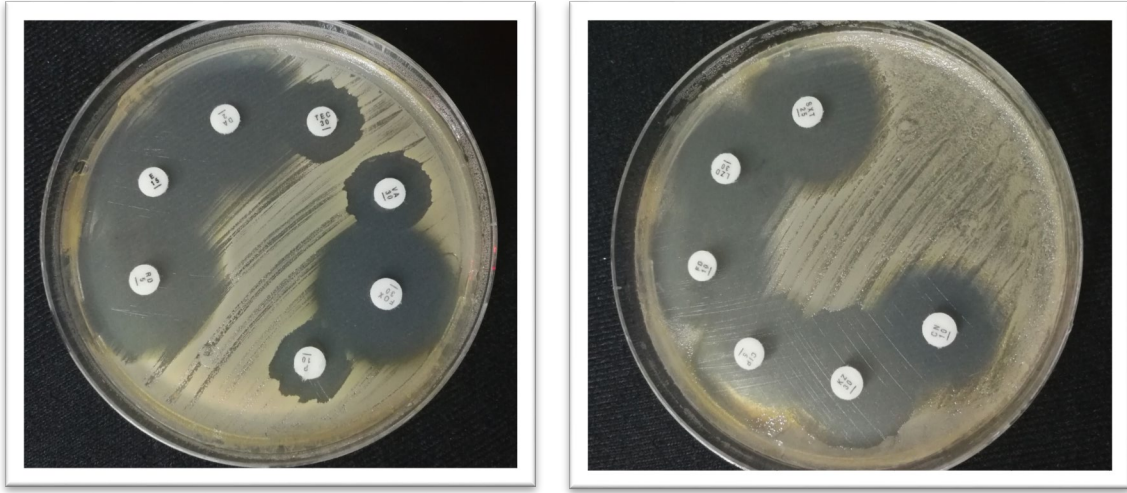
Şekil 1. β -hemoliz yapan *Staphylococcus aureus* kolonileri.

3.6 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

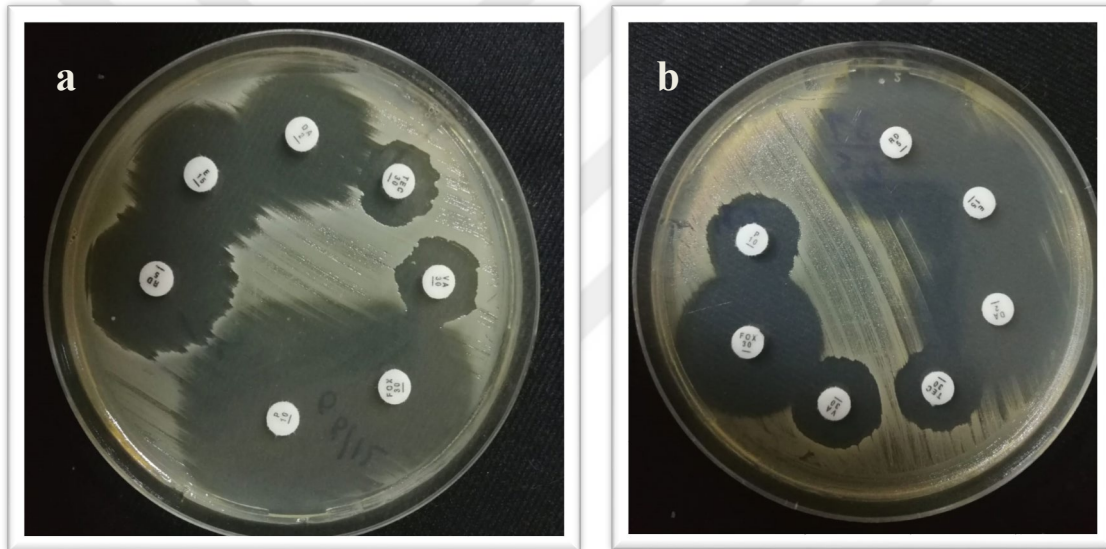
3.6.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemiyle sefoksitin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, klindamisin, eritromisin, rifampisin, sefazolin, siprofloksasin, linezolid, gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, fusidik asid duyarlılıkları EUCAST tarafından *S. aureus* için belirlenen zon çapları kullanılarak 0.5 McFarland (1.5×10^8 cfu/ml) standardında belirlendi. Disk difüzyon yöntemiyle aynı antibiyotikler, yüksek inokulumda (5 McFarland- 1.5×10^9 cfu/ml) da çalışıldı (Şekil 2).

β -laktamaz varlığını araştırmak amacıyla, EUCAST'ın önerdiği şekilde 1 ünitelik Penisilin G diski bulunamadığı için var olan CLSI'n önerdiği şekilde (147) 10 ünitelik Penisilin G diskiyle ≤ 29 mm zon çapı olması veya herhangi bir değerde zon çapı sınırının keskin olması halinde β -laktamaz pozitif ve penisiline dirençli olarak kabul edildi. Zon çapının >29 ve sınırının keskin olmaması halinde β -laktamaz negatif ve penisiline duyarlı olarak kabul edildi.



Şekil 2. Disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi



Şekil 3. Penisilin G diski zon çapına ve zon sınırı keskinliğine göre β -laktamaz varlığının ve penisilin direncinin belirlenmesi (a. Penisilin zon sınırı keskin değil ve çapı >29 mm, β -laktamaz negatif ve penisiline duyarlı. b Penisilin zonu ≤ 26 mm ve zon sınırı keskin, β -laktamaz pozitif ve penisiline dirençli).

3.6.2 Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Sefazolin, sefotaksim, sefuroksim, seftriakson ve ampicilin-sulbaktamın MİK'leri CLSI rehberlerine dayanılarak sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Standard suş olarak *S. aureus* ATCC 29213 kullanıldı.

96 kuyucuklu U tabanlı mikropipların her kuyucuğuna 0.1 ml katyon ilaveli Mueller-Hinton buyyonu (MHB, Merck, Darmstad, Almanya) konuldu. İlk kuyucuğa başlanmak istenen antibiyotik konsantrasyonunun iki katı konsantrasyonda hazırlanmış antibiyotik çözeltisinden

0.1 ml eklendi. İlk kuyuda elde edilen 0.2 ml hacimdeki karışımdan (0.1 ml MHB + 0.1 ml antibiyotik çözeltisi) steril pipet uçlarıyla 0.1 ml alınarak diğer kuyucuğa aktarıldı. Bu işlem son kuyucuğa kadar tekrarlanarak 0.1 ml'lik seri dilüsyonlar elde edildi. Son kuyucuktaki karışım işleminden sonra pipet ucunda kalan 0.1 ml çözelti dışarı atıldı ve son kuyuda da 0.1 ml çözelti olması sağlandı. İlk kuyudaki antibiyotik konsantrasyonu 128 µl olacak şekilde ilk kuyuya 0.1 ml MHB ve 0.1 ml 256 µl antibiyotik çözeltisi konuldu. Antibiyotik konsantrasyonlarının 128 µl, 64 µl, 32 µl, 16 µl, 8 µl, 4 µl, 2 µl, 1 µl, 0.5 µl, 0.25 µl, 0.125 µl olacak şekilde seri dilüsyonları oluşturuldu. Yaklaşık 18-24 saatlik inkübasyon sonunda kanlı agarda saf kültür halinde üretilen *S. aureus* kolonileri alınarak 5 ml katyon ilaveli MHB içeren tüplerde homojenize edilerek 0.5 McFarland standardı (1×10^8 cfu/ml) bulanıklığında bakteri süspansiyonları elde edildi. Daha sonra bu bakteri süspansiyonları 1:10 oranında dilüe edildi ve her kuyucuğa 10 µl bakteri süspansiyonu (1×10^6 cfu/ml) eklendi ve mikropiplaklar 37°C'de 16-20 saat inkübe edildi. Çıplak gözle kuyucuklardaki üremenin tamamını inhibe ettiği görülebilen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi. Aynı işlem bir daha bu kez 0.1 ml MHB ve antibiyotik içeren kuyucuklara 0.5 McFarland standardında bakteri süspansiyonundan direkt olarak 10 µl eklenip yüksek inokulumla (1×10^7 cfu/ml) olacak şekilde tekrarlandı.

3.6.3 Gradyan Şerit Yöntemi

Gradyan şerit yöntemi, dünya çapındaki mikrobiyoloji laboratuvarlarında antibiyotik duyarlılığını MİK şeklinde belirlemek için tanımlanmış daha kolay uygulanabilen testtir. Bu yöntemde bir antibiyotiğin farklı konsantrasyon gradyanlarını içeren plastik şeritler kullanılır. Etest® (bioMerieux, Fransa) bu yöntemi kullanan ticari bir kittedir. Bu testin aynı zamanda antifungal ve antimikobakteriyellerle hazırlanmış olanları da vardır.

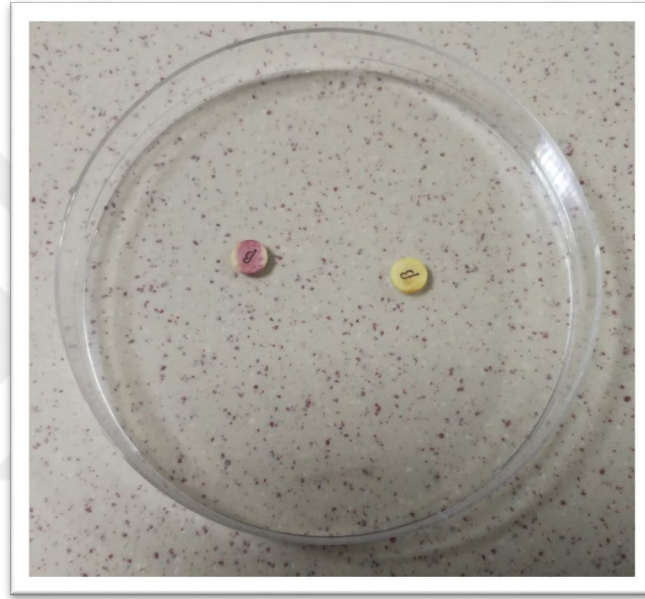
Bu çalışmada mikrodilüsyon yöntemiyle standard suşun ampisilin-sulbaktam (AS) MİK değerinin geçerli aralıklarda çıkmaması üzerine, MİK değerleri ampisilin-sulbaktam Etest® kullanılarak tekrar belirlendi. Örnekler öncelikle standard inokulumda (1.5×10^8 cfu/ml) daha sonra da yüksek inokulumda (1.5×10^9 cfu/ml) çalışıldı.

3.7 Nitrosefin Testi

Bakteriler tarafından β-laktamaz üretimini saptamak için Cefinase® (Becton, Dickinson and Company, NJ, ABD) testi kullanıldı. Bir kromojenik sefalosporin beta-laktamaz testi olan bu yöntem bakteriler tarafından β-laktamaz üretimini saptamak için kullanılan kalitatif bir

prosedürdür. Reaksiyon, nitrosefin substratın, β -laktamaz üreten kültürle teması sonrasında renkli bir bileşik üretimine dayanmaktadır (148).

Cefinase® diskleri içinde yer alan ve kromojenik bir sefalosporin olan nitrosefin, β -laktam halkasındaki amid bağı bir β -laktamazla hidrolize olduğunda hızlı bir renk değişimi göstererek sarıdan pembeye döner. Bir bakteri bu enzimi büyük miktarda ürettiğinde, sarı renkli disk izolatin sürüldüğü bölgede pembeye döner. β -laktamaz negatif organizmalar test süre sınırları içerisinde nitrosefinin soluk sarı rengini değiştirmezler.



Şekil 4. *Staphylococcus aureus* suşlarında Cefinase® diskiyle β -laktamaz belirlenmesi: Pembe renkte görülen disk β -laktamaz pozitif, sarı renkte olan β -laktamaz pozitif suşu göstermektedir.

Cefinase® ürün broşüründeki uygulama adımları takip edilerek test uygulandı. Her bir suş için bir disk kartuştan alınıp boş bir Petri kutusuna yerleştirildi. Her disk bir damla serum fizyolojikle ıslatıldı. Steril bir öze veya uygulama çubuğu kullanarak kanlı besiyerinden izole edilen koloniler alındı ve disk yüzeyine sürüldü. 1 saat beklendikten sonra disk renk değişimi açısından incelendi. Diskin üzerinde pembe renk değişimi görülen suşlar betalaktamaz pozitif olarak kabul edildi. Pozitif kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213, negatif kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı (Şekil 4).

3.8 Multipleks PCR

3.8.1 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

3.8.1.1.1 0,5X Tris-Borik asid-EDTA (TBE) tampon çözeltisi

- Tris base 5.4 gr
- Borik asid 2.75gr
- 0.5M EDTA (pH:8.0) 20 ml (39)
- Distile su 980 ml

3.8.1.2 Etidyum Bromür

Etidyum bromür (Sigma, Almanya) 10 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcı yardımıyla distile su içerisinde çözülmüş ve oda ısısında ışıktan korunarak saklanmıştır (149).

3.8.1.3 %1'lik Agaroze Jel

1 gr agaroz 100 ml 0,5X TBE tamponu ile karıştırılmış ve mikrodalga fırında içinde partikül kalmayacak şekilde eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Hazırlanan jel, sıcaklığı 55 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 10-15 dakika bekletildikten sonra içerisine 5 µl etidyum bromür ilave edilmiştir. Jel, kenarları kapatılmış ve üzerine kuyucukları oluşturacak tarak yerleştirilmiş olan kasete dökülmüş ve oda ısısında donmaya bırakılmıştır (149).

3.8.2 2X Taq PCR Master Miks

Ticari şekilde mevcut bulunan bu çözelti içerisinde primerler ve DNA hariç PCR için gereken tüm malzemeler bulunmaktadır. Çözelti direkt 2X olarak sulandırılmadan kullanılmalıdır (Biomatik, 2XTaq PCR Master Mix, Kanada).

3.8.3 Primerler

Çalışmamızda primer olarak *S. aureus* için daha önce de kullanılmış olan ve spesifik gen bölgelerini hemen hemen tüm türlerde kodlayan gen *blaZ* P1: 5'-CAA AGA TGA TAT AGT TGC TTA TTC-3' ve P2: 5'-CAT ATG TTA TTG CTT GCA CCA-3' (355 bp) kullanılmıştır (105).

Liyofilize haldeki primerlerine sırasıyla primer sentez raporuna göre RNaz, DNaz içermeyen su eklenerek 100 µM stok çözeltiler elde edilmiştir. Stok çözeltiler 1/5 oranında sulandırılarak 20 µM'lük son konsantrasyon elde edilmiştir.

3.8.4 DNA Ekstraksiyonu

Saf halde olan %5 kanlı agar besiyerindeki kolonilerden DNA izolasyonu, kaynatma yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla, yaklaşık 0.5 McFarland bulanıklığında hazırladığımız süspansiyondan 500 µl Ependorf tüplerine aktarılmış ve 90°C’de 10 dakika kaynatılmış ve 13000 g’de 15 dakika santrifüjde çevrilmiştir. Dipteki çöküntüye dokunmadan, üst kısımdaki sıvıdan 200 µl alınmıştır. Santrifüj sonrası Ependorf tüplerinde biriken sıvı, DNA amplifikasyonunda hedef DNA olarak kullanılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

3.8.5 DNA Amplifikasyonu

Total hacmi 25 µl olan PCR karışımı için daha önceden ekstrakte edilen 1 µl DNA kullanılmıştır. Bir örnek için 125 µl 2X Taq PCR Master Mix, 0.5 µl (10pmol) P1 ve P2 primerleri hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 29213 suşundan ekstrakte edilen DNA ve negatif kontrol olarak da hedef DNA yerine aynı miktarda distile su ve *S. aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır. Çalışmamızda PCR’ı fenotipik sonuçları doğrulamak amacı ile kullanılmıştır. Deneyler 2X Mastermix ve 2 primer ile gerçekleştirilmiştir.

Amplifikasyon programı:

94 °C’de 5 dakika (1 döngü),

94 °C’de 30 saniye, 50 °C’de 30 saniye, 72 °C’de 30 saniye (35 döngü),

72 C’de 7 dakika (1 döngü),

olarak ayarlanmıştır (150).

3.8.6 Elektroforez

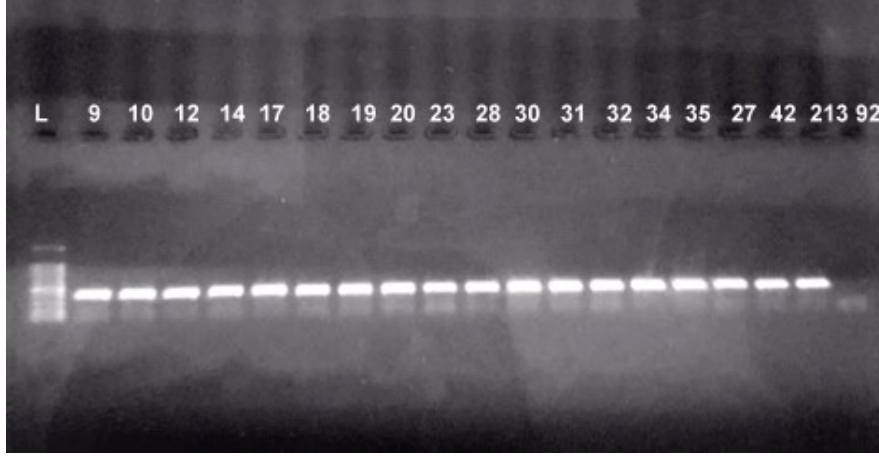
10 µl amplifikasyon ürünü (yükleme tamponlu miks) 0.5X TBE çözeltisi içerisindeki etidyum bromürle boyanmış % 1’lik agaroz jelde 100 V’da 40 dakika yürütülmüştür.

3.8.7 Görüntüleme

Elektroforez işlemi sonrasında, jel translüminatör üzerine alınarak UV ışık altında görüntülenmiştir.

1 gr agaroz 100 ml 0.5X TBE tamponu ile karıştırılmış ve mikrodalga fırında içinde partikül kalmayacak şekilde eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Hazırlanan jel, sıcaklığı 55 °C’ye ayarlanmış su banyosunda 10-15 dakika bekletildikten sonra içerisine 5 µl etidyum bromür

ilave edilmiştir. Jel, kenarları kapatılmış ve üzerine kuyucukları oluşturacak tarak yerleştirilmiş olan kasete dökülmüş ve oda ısısında donmaya bırakılmıştır (149).



Şekil 5. *Staphylococcus aureus* suşlarının β -laktamaz genlerinin PCR’la çoğaltılmasıyla elde edilmiş ürünlerin jel elektroforezdeki görüntüsü (Burada 9, 10, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 23, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 27, 42 numaralı suşların ve pozitif kontrol suşu ATCC 29213’ün β -laktamaz geni PCR ürünleri yer alırken, son sırada negatif kontrol olarak kullanılmış β -laktamaz negatif ATCC 25923 suşu bulunmaktadır).

3.9 DNA Dizileme

DNA dizileme işlemi PCR DNA ürünleri kullanılarak dış laboratuvarlarda yaptırılmıştır. 9 suş Molgen Biyoteknoloji Lab. Malz. San Ve Tic. Ltd.Şti tarafından çalışılmış, geri kalan 31 suş ise Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda çalışılmıştır. Dizi analizleri ABD Ulusal Biyoteknoloji İnfomasyon Merkezi (NCBI)’nin BLAST network servisi kullanılarak yapılmıştır.

3.10 İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin analizinde, dağılımın normal olması halinde Student’ın *t*-testi, dağılımın normal olmaması halinde ise Mann-Whitney *U* testi; kategorik değişkenlerin analizinde χ^2 testi ya da Fisher’in kesin testi kullanıldı. Çok değişkenli analizler lojistik regresyon analiziyle yapıldı, regresyon analizine, *p* değeri <0.100 olanlar dahil edildi. Risk, göreceli olasılıklar oranı (“odds ratio, OR”) olarak gösterildi. *p*<0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4 BULGULAR

4.1 Hastaların genel özellikleri

Çalışma süresince toplam 52 hasta değerlendirildi. Hastaların 33'ü erkek (%63.5), 19'u kadın (%36.5), ortalama yaşı 58.4 ± 18.3 saptandı (yaş aralığı 19-86). Tanı anında ortalama ölçülen ateşleri 38.09 ± 0.93 °C olarak bulundu. Charlson komorbidite indeksleri ortalama 3.94 ± 2.61 olarak hesaplandı. Hastaların %39.2'si hipertansiyon (20 hasta), %29.4'ü kronik böbrek yetmezliği (15 hasta) hastasıydı.

Hastaların ortalama PITT bakteriyemi skoru 1.54 ± 2.74 olarak bulundu. PITT bakteriyemi skoru ≥ 4 olan 8 hasta saptandı (%15.4).

Tablo 1. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

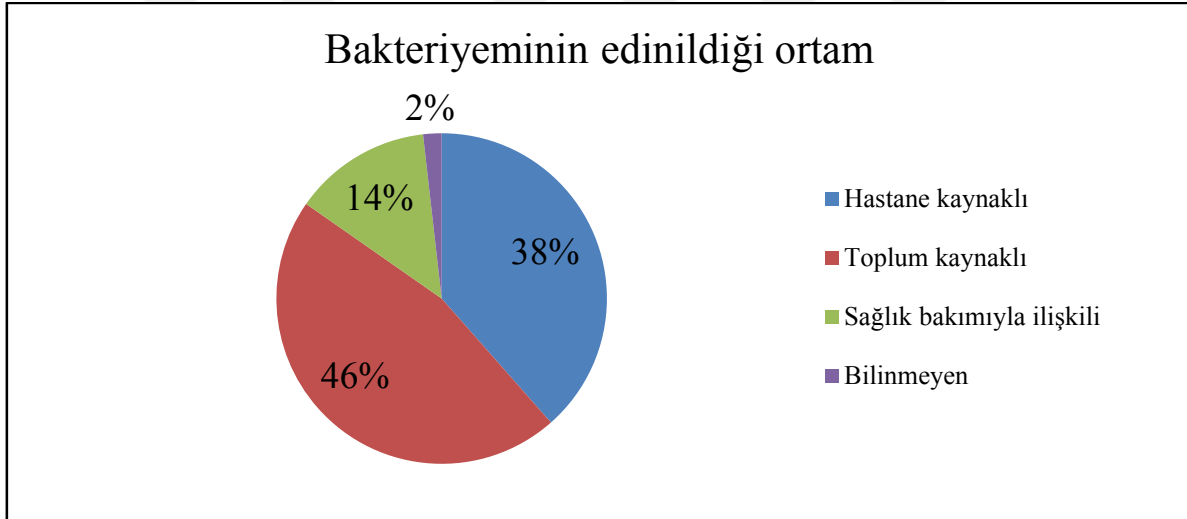
	Hasta sayısı	Minimum	Maksimum	Ortalama $\pm$ SD
Yaş	52	19	86	58.4 ± 18.3
Ateş (°C)	50	35.4	40	38.1 ± 0.9
PITT bakteriyemi skoru	50	0	12	1.54 ± 2.7
Charlson komorbidite indeksi	50	0	10	3.94 ± 2.61
Kan lökosit sayısı ($10^3/\mu\text{l}$)	51	100	38400	$13\ 054.7 \pm 8940$
Kan hemoglobin değeri (gr/dl)	50	6.3	15.1	10.62 ± 2.24
Kan trombosit sayısı ($10^3/\mu\text{l}$)	50	5800	504300	$202\ 910 \pm 108\ 349.7$
Serum ALT seviyesi (U/dl)	46	2	271	36.5 ± 43.5
Serum kreatinin seviyesi (mg/dl)	51	0.3	13.9	1.9 ± 2.1
Serum albümin seviyesi (gr/dl)	51	0	5.15	2.9 ± 1.2
Serum CRP seviyesi (mg/lt)	50	21	614.1	179 ± 106
Serum prokalsitonin seviyesi (ng/ml)	18	0	84.94	19.8 ± 26.7

Laboratuvar bulgularında ortalama lökosit sayısı $13054 \pm 8940 \times 10^3/\mu\text{l}$ saptandı. Hastalardan 5'i nötropenikti (%9.6). Bu hastalar sırasıyla karaciğer nakilli, anaplastik hücreli

lenfoma, mide lenfoması, medulloblastom, multipl myelom tanılıydı. Her biri immünosüpresif tedavi altındaydı.

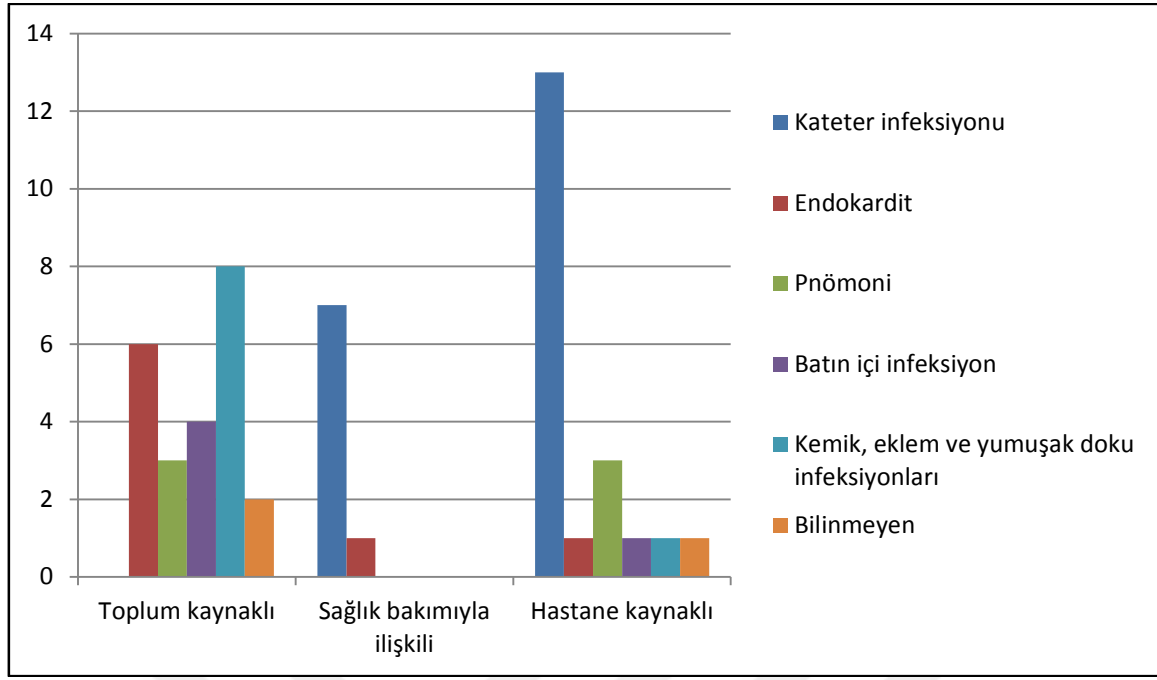
4.2 Bakteriyemi kaynağı

Bakteriyemiler 24 kişide (%46.2) toplum kaynaklı, 20 kişide (%38.5) hastane kaynaklı, 7 kişide ise (%13.5) sağlık bakımıyla ilişkiliydi. %50'sine (26 kişi) invazif girişim yapılmıştı. Girişim yapılan hastaların 11 (%42.3)'ine birden fazla girişim yapılmıştı. Girişim türleri sıklık sırasına göre santral venöz kateter (%23.1), idrar sondası (%21.2), intübasyon tüpü (%7.7), batın içi drenaj kateteri (%5.8), kemik iliği biyopsisi (%3.8), İV ilaç kullanımı (%1.9), epidural kateter (%1.9), periton diyaliz kateteri (%2.6), ventriküloperitoneal şant (%1.9) ve uyluk operasyon bölgesine dren uygulanmasıydı (%1.9) (Şekil 6).



Şekil 6. *Staphylococcus aureus* bakteriyemisinin edinildiği ortam

Beş (%9.6) hastanın bakteriyemi kaynağı batın içi infeksiyondur (akut kolanjit, batın içi trombüs, renal apse), 20 (%38.5) hastanın kateterle ilişkili infeksiyonu (periferik, santral, şant kateteri, diyaliz kateteri, tromboflebit) vardır. Sekiz (%15.4) hastaya endokardit tanısı konuldu. Dokuz (%17.3) hastanın (%17.3) infeksiyon odağı kemik, eklem ve yumuşak doku infeksiyonuydu (2 osteomyelit, 2 spondilodiskit, 2 eklem protezi infeksiyonu, 3 yumuşak doku infeksiyonu). Hastaların %19.6'sının son 3 ayda, %15.4'ünde ise son 1 ayda operasyon geçirme öyküsü vardı (Şekil 7).



Şekil 7. Bakteriyeminin edinildiği ortama göre primer infeksiyon odaklarının sıklığı.

Altı (%11.4) hastada metastatik infeksiyon odağı saptandı. Metastatik infeksiyon odağı olan üç hastanın primer tanısı endokarditti. Hastaların birinde akciğer ve dalakta septik emboliler, birinde akciğer apsesi, bir diğerinde de üriner sistem infeksiyonu saptandı.

Tablo 2. *Staphylococcus aureus* Bakteriyemilerinde Metastatik İnfeksiyon Odakları

Metastatik infeksiyon odağı	Hasta sayısı
Akciğer ve dalakta septik emboli	2
Akciğer apsesi	1
Dalakta infarkt alanı	1
Üriner sistem infeksiyonu	1
İskemik inme	1
Toplam	6

4.3 Antibiyotik Tedavileri

Sekiz (%13.5) hasta üreme olduğunda antibiyotik tedavisi almıyordu. Hastaların kan kültürlerinde üreme olduğunda ortalama 2.65 gün antibiyoterapi altındaydılar (en az 0, en fazla 9 gün). Hastalarda MSSA üremesi sonrası kesin tedavide en sık sefazolin (%44.2), ikinci sıklıkta ampicilin-sulbaktam (%28.5) tercih edilmişti. Kan kültüründe Gram-pozitif kok üremesi olması üzerine başlanan vankomisin ve vankomisinli kombinasyonlar 22 hastanın 17'sinde de-eskale edilmişti. Ortalama toplam tedavi süreleri sefazolin alanlarda 22.5 gün,

sefazolin dışı tedavi alanlarda 20.8 gündü. Hastaların en az 3, en fazla 120, ortalama 21 gün antibiyotik tedavisi aldığı saptandı. Sefazolin alan ve almayanlar arasında tedavi süresi açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.74$).

Tablo 3. Hastaların Kan Kültürlerindeki Üreme Öncesi Başlanan Ampirik Antibiyoterapileri, Üreme Sonrasında Gram-Boyama Sonucuna Göre Düzenlenen Tedavileri, Kültürlerinin MSSA Olarak Sonuçlanması Ardından Başlanan Antibiyotik Tedavileri

Antibiyotikler	Üreme öncesi empirik başlanan Sayı (%)	Gram-pozitif kok üremesi sonrası Sayı (%)	MSSA üremesi sonrası Sayı (%)
Sefazolin	3 (5.8)	7 (13.5)	23 (44.2)
Ampisilin-sulbaktam	8 (15.4)	10 (19)	15 (28.5)
Sefotaksim	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)
Seftriakson	5 (9.6)	1 (1.9)	2 (3.8)
Meropenem	3 (5.8)	1 (1.9)	3 (5.8)
Piperasilin-tazobaktam	11 (21.2)	7 (13.5)	1 (1.9)
Vankomisin	2 (3.8)	10 (19)	3 (5.8)
Glikopeptid/beta-laktam kombinasyonu	7 (13.3)	12 (22.8)	2 (3.8)
Kinolon	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0)

4.4 β -laktamaz Varlığı ve İnokulum etkisi

Nitrosefin diskiyle 52 suşun 44 (%84.6)'ü β -laktamaz-pozitif olarak saptandı. Bu 44 suşun hepsinde PCR yöntemiyle de β -laktamaz varlığı saptandı. Dizi analizi yapılan 44 suşun 40'ında β -laktamaz tipi tanımlanabildi, bunların hepsi tip A β -laktamazdı. Dizi analizi yapılan 4 suştaki β -laktamazın tipi tanımlanamadı. Bu suşlarda herhangi bir antibiyotiğe karşı inokulum etkisi görülmemiştir.

Penisilin zonu ≥ 29 mm olan ve zon sınırı keskin olmayan 8 (%15.4) suş penisiline duyarlı olarak değerlendirildi. Penisilin çapı < 29 mm olan suşlar ise penisiline dirençli olarak kabul edildi. Çalışmamızda penisilin direnci 44 (%84.6) suшта saptandı. Penisilin direnci saptanan suşların hepsi (%100) nitrosefin diski ve PCR yöntemiyle β -laktamaz-pozitif olarak saptandı. Penisiline duyarlı suşların hepsi β -laktamaz-negatifti. β -laktamaz-pozitif ve negatif olan MSSA suşlarının penisiline ve sefazoline karşı zon çapları ortalamaları karşılaştırıldığında, β -laktamaz-pozitif olanların zon çapı ortalamalarının hem standard, hem de yüksek inokulumda β -laktamaz-negatif olanların ortalamalarından belirgin olarak daha düşük olduğu gözlemlendi (p sırasıyla < 0.001 , < 0.001 , 0.001 ve 0.0011). Test edilen diğer antimikrobiklerin zon çapı ortalamalarında fark görülmedi (Tablo 4).

Tablo 4. β -Laktamaz Pozitif ve Negatif Olan 52 MSSA Suşunun Düşük ve Yüksek İnokulumda Belirlenmiş Zon Çapları Ortalamalarının Karşılaştırılması

Antibiyotik	Standard inokulum		p değeri	Yüksek inokulum		p değeri
	<i>blaZ</i> * (+)	<i>blaZ</i> * (-)		<i>blaZ</i> * (+)	<i>blaZ</i> * (-)	
Sefoksitin	27.705	29.125	0.06	26.614	27.750	0.146
Sefazolin	25.977	32.125	< 0.001	26.500	31.625	0.001
Penisilin	13.705	33.375	< 0.001	13.114	33.500	0.001
Vankomisin	15.477	14.875	0.15	16.159	15.500	0.13
Teikoplanin	14.614	14.375	0.57	15.159	14.750	0.25
Linezolid	26.932	26.000	0.30	26.909	26.750	0.88
Kлиндamisin	25.250	24.500	0.39	25.636	24.625	0.17
Eritromisin	22.955	18.500	0.32	22.818	19.250	0.44
Kotrimoksazol	25.432	25.125	0.82	26.273	27.250	0.45
Siprofloksasin	24.068	26.125	0.40	23.523	26.125	0.31
Fusidik asit	26.000	25.500	0.73	26.159	24.125	0.21
Rifampisin	28.159	27.250	0.23	28.045	27.250	0.44
Gentamisin	23.023	22.625	0.53	22.841	22.375	0.45

**blaZ* β -laktamaz geni

Sefazolinin mikrodilüsyon yöntemiyle bakılan MİK değeri ise hem standard, hem de yüksek inokulumda β -laktamaz varlığında anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.028$ ve $p=0.001$). Sefazoline karşı İnE 13 (%25) suшта görüldü, üç suшта ise direnç oluşumu yani belirgin İnE (%5.8) gözlemlendi. Ampisilin-sulbaktamın gradyan şeritlerle bakılan MİK değerleri β -laktamaz varlığında hem standard, hem de yüksek inokulumda anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.001$). 19 (%36.5) suшта ampilin-sulbaktama karşı İnE görüldü. Sefotaksim ve sefuroksimde yüksek inokulumda MİK değerlerinde anlamlı derecede artış izlenmedi,

sefotaksim ve sefuroksimde İNE görülmedi. Seftriaksonda İNE görülen iki suşun birinde β -laktamaz pozitifliği saptanmışken, diğer β -laktamaz-negatif olarak saptandı. Sefazolin ve ampisilin-sulbaktamda İNE görülen suşların tümü β -laktamaz-pozitif olarak saptandı ((Tablo 5 ve Tablo 6).

Tablo 5. β -Laktamaz Pozitif ve Negatif Olan 52 MSSA Suşunun Düşük ve Yüksek İnokulumda Belirlenmiş MİK Ortalamalarının Karşılaştırılması

Antibiyotik	Standard inokulum		<i>p</i> değeri	Yüksek inokulum		<i>p</i> değeri
	<i>blaZ</i> * (+)	<i>blaZ</i> * (-)		<i>blaZ</i> * (+)	<i>blaZ</i> * (-)	
Sefazolin	0.932	0.563	0.028	3.136	0.813	<0.001
Seftriakson	3.273	4	0.467	5.5	3.773	0.329
Sefuroksim	0.841	0.875	0.795	1.250	1.034	0.172
Sefotaksim	2.545	2.250	0.328	2.909	3.5	0.132
Ampisilin-sulbaktam	0.775	0.0255	<0.001	2.875	0.0399	<0.001

**blaZ* β -laktamaz geni

Tablo 6. 52 MSSA Suşunda Yüksek İnokulumda Mikrodilüsyon Yöntemiyle Tanımlanmış İnokulum Etkisi Oranları

	İnokulum etkisi (İNE) Sayı (%)	Direnç (Belirgin İNE) Sayı (%)
Sefazolin	13 (25)	3 (5.8)
Ampisilin-sulbaktam	19 (36.5)	2 (3.8)
Seftriakson	2 (3.8)	1 (1.9)
Sefuroksim	0 (0)	0 (0)
Sefotaksim	0 (0)	0 (0)

4.5 β -laktamaz ve İnokulum Etkisi Varlığında Klinik Bulgular

β -laktamaz-pozitif suşla infekte olan hastaların 28'i erkek, 16'sı kadındı ($p=1$). 22 hasta kesin tedavide sefazolin alırken, 22 hasta sefazolin dışı antibiyotik tedavisi aldı. Nötropenik olan 5 hastanın 4'ü β -laktamaz-pozitif suşla infekteydi.

Pitt bakteriyemi skoru >4 olan 8 hastanın 6'sı β laktamaz-pozitif suşla infekteydi, birinde CzİnE görüldü. β -laktamaz-pozitif suşlarla infekte olan hastaların ortalama PITT bakteriyemi skoru 1.4, negatif suşlarla infekte hastaların ise ortalama skoru 2.25 saptandı, bu iki grubun arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.58$).

Toplamda 7 hasta (%13.5) YBB'de takibe alınıp, mekanik ventilasyon desteği verildi. Bunlardan 6'sı β -laktamaz-pozitif suşla infekteydi, 3'ünde sefazolin İnE görülmüştü.

Tablo 7: β -laktamaz Pozitif ve Negatif Suşla İnfekte Olan Hastaların Özellikleri

	<i>blaZ</i> geni pozitif	<i>blaZ</i> geni negatif	<i>p</i> değeri
Yaş, ortalama $\pm$SD	58.6 $\pm$ 18.9	57.25 $\pm$ 15.77	0.849
Ateş (°C), ortalama $\pm$SD	38.15 $\pm$ 0.86	37.8 $\pm$ 1.25	0.303
Pitt bakteriyemi skoru, ortalama $\pm$SD	1.4 $\pm$ 2.7	2.25 $\pm$ 3.05	0.431
Charlson komorbidite indeksi, ortalama $\pm$SD	4.11 $\pm$ 2.73	3 $\pm$ 1.69	0.147
Kan lökosit sayısı (10³/μl) , ortalama $\pm$SD	12 868 $\pm$ 8 547	14 057 $\pm$ 11 454	0.733
Kan hemoglobin değeri (g/dl) , ortalama $\pm$SD	10.69 $\pm$ 2.19	10.27 $\pm$ 2.63	0.635
Kan trombosit sayısı (10³/μl) , ortalama $\pm$SD	195 692 $\pm$ 111 159	240 800 $\pm$ 88 608	0.285
Serum ALT seviyesi (U/l) , ortalama $\pm$SD	30.14 $\pm$ 25.02	72.17 $\pm$ 92.4	0.276

Serum CRP seviyesi (mg/l) , ortalama ±SD	173.4±108.43	208.79±95.22	0.394
Serum prokalsitonin değeri (ng/ml) , ortalama ±SD	21.68±30.32	24.05±18.89	0.887
Serum kreatinin değeri (mg/dl), ortalama ±SD	1.96±2.3	1.61±0.9	0.676
Serum albümin değeri (gr/dl), ortalama ±SD	3.18±0.69	3.30±0.97	0.686

Sefazolin İNE 13 (%25) suşta görüldü, 3 (%5.8) suşta direnç oluşumu yani belirgin inokulum etkisi gözlemlendi. Sefazolin İNE görülen hastaların 8'i erkek, 5'i kadın, ortalama yaşları da 55.7'ydi. Toplamda sefazolin İNE görülen 3 hastanın takibinde yoğun bakım ihtiyacı gelişmişken, 10'unda gelişmedi ($p=0.241$). Yoğun bakım ihtiyacı gelişmiş olan hastalardan birinde belirgin inokulum etkisi vardı ve bu hasta sefazolin tedavisi altındaydı. Yoğun bakıma alınan hastaların hepsi takibinde eksitus oldu. Belirgin sefazolin inokulum etkisi görülen diğer 2 hastanın empirik ve kesin tedavisinde sefazolin kullanılmamıştı ve şifayla taburcu edilmişlerdi.

Tablo 8. Sefazoline Karşı İnokulum Etkisi Saptanan ve Saptanmayan Suşlarla İnfekte Olan Hastaların Klinik Özellikleri

	Sefazolin inokulum etkisi pozitif	Sefazolin inokulum etkisi negatif	<i>p</i> değeri
Yaş, ortalama ±SD	55.769±20.85	59.282±17.67	0.555
Ateş (°C), ortalama ±SD	38.33±0.55	38.01±1.01	0.305

Pitt bakteriyemi skoru, ortalama $\pm$SD	1.083 $\pm$ 2.27	1.684 $\pm$ 2.89	0.515
Charlson komorbidite indeksi, ortalama $\pm$SD	3.833 $\pm$ 2.08	3.974 $\pm$ 2.78	0.873
Kan lökosit sayısı (10³/μl), ortalama $\pm$SD	13 585 $\pm$ 9801	12 873 $\pm$ 8759	0.807
Kan hemoglobin değeri (gr/dl), ortalama $\pm$SD	10.87 $\pm$ 2.18	10.54 $\pm$ 2.29	0.656
Kan trombosit sayısı (10³/μl), ortalama $\pm$SD	206 333 $\pm$ 146 935	201 828 $\pm$ 95 516	0.922
Serum ALT seviyesi (U/lt), ortalama $\pm$SD	20.53 $\pm$ 20.53	40.99 $\pm$ 47.7	0.192
Serum CRP seviyesi (mg/lt), ortalama $\pm$SD	162.44 $\pm$ 87.36	184.88 $\pm$ 112.73	0.518
Serum prokalsitonin değeri (ng/ml), ortalama $\pm$SD	18.57 $\pm$ 28.27	24.5 $\pm$ 28.02	0.689
Serum kreatinin değeri (mg/dl), ortalama $\pm$SD	1.63 $\pm$ 1.55	2 $\pm$ 2.32	0.590
Serum albumin değeri (gr/dl), ortalama $\pm$SD	3.29 $\pm$ 0.563	3.17 $\pm$ 0.78	0.654
Mortalite	4	4	0.096

19 (%36.5) hastada ampilin-sulbaktam İnE (ASİnE) görüldü. Hastaların 12'si erkek, 7'si kadın, ortalama yaşları 59±18.9 saptandı ($p=0.849$). ASİnE görülen 5 hasta kesin tedavisinde ampilin sulbaktam almıştı. Bunlardan ikisinde belirgin ASİnE (yüksek inokulumda AS direnci) vardı. Belirgin ASİnE olup AS alan hastaların biri YBB'ye gidip eksitus olmuşken diğeri şifayla taburcu olmuştu.

Tablo 9. Ampisilin-Sulbaktama Karşı İnokülüm Etkisi (İnE) Saptanan ve Saptanmayan Suşlarla İnfekte Olan Hastaların Klinik Özellikleri

	Ampisilin-sulbaktam İnE pozitif	Ampisilin-sulbaktam İnE negatif	<i>p</i> değeri
Yaş, ortalama ±SD	59.05±18.97	58.03±18.24	0.849
Ateş (°C), ortalama ±SD	38.06±0.94	38.11±0.94	0.872
Pitt bakteriyemi skoru, ortalama ±SD	2±3.43	1.28±2.3	0.380
Charlson komorbidite indeksi, ortalama ±SD	4.22±2.92	3.781±2.45	0.572
Kan lökosit sayısı (10³/µl), ortalama ±SD	11 419±9792	13 946±8463	0.340
Kan hemoglobin değeri (gr/dl), ortalama ±SD	10.25±1.95	10.83±2.4	0.391
Kan trombosit sayısı (10³/µl), ortalama ±SD	189 400±115 336	210 509±105 336	0.514
Serum ALT seviyesi (U/l), ortalama ±SD	28.16±21.43	40.59±50.82	0.370

Serum CRP seviyesi (mg/l), ortalama $\pm$SD	170.55 $\pm$ 85.53	183.83 $\pm$ 117.44	0.676
Serum prokalsitonin değeri (ng/ml), ortalama $\pm$SD	28.70 $\pm$ 35.48	17.28 $\pm$ 19.78	0.426
Serum kreatinin değeri (mg/dl), ortalama $\pm$SD	1.88 $\pm$ 3.1	1.92 $\pm$ 1.43	0.590
Serum albumin değeri (gr/dl), ortalama $\pm$SD	3.07 $\pm$ 0.49	3.27 $\pm$ 0.82	0.324
Mortalite, n	6	2	0.049

4.6 Mortalite

Çalışmamızda sekiz hastada (%15.4) mortalite gözlemlendi. Tek değişkenli analizlerde Charlson komorbidite indeksi (CKİ) ölen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu ($p=0.031$). Ölenlerde ortalama CKİ değeri 5.75 saptanmışken, sağ kalanlarda bu değer ortalama 3.59 saptandı. Pitt bakteriyemi skoru ölen hastalarda ortalama 3.25, sağ kalanlarda 1.21 saptandı ($p=0.236$). Çok değişkenli analizde ise albümin değeri ölen hastalarda belirgin olarak düşük (OR =0.013, %95 CI <0.001-0.789, $p=0.038$), yüksek inokulumdaki sefazolin MİK değeri ise belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır (OR 1.8, %95 CI 1.002-3.261) (Tablo 11). Yaş, ateş, cinsiyet gibi faktörlerin mortaliteye etkisinin olmadığı görüldü. Laboratuvar değerlerinde lökosit, hemoglobin, trombosit, kreatinin, ALT, CRP ve prokalsitonin değerlerinde de ölenlerle sağ kalanlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 10. Ölen ve Sağ Kalan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması

	Ölenler (n=8)	Sağ kalanlar (n=44)	<i>p</i> değeri
Yaş, ortalama $\pm$SD	64.87 $\pm$ 21.12	57.22 $\pm$ 17.8	0.282
Ateş (°C), ortalama $\pm$SD	37.63 $\pm$ 1.08	38.18 $\pm$ 0.88	0.126 (0.117)
Pitt bakteriyemi skoru, ortalama $\pm$SD	3.25 $\pm$ 4.36	1.21 $\pm$ 2.25	0.236 (0.078)
Charlson komorbidite indeksi, ortalama $\pm$SD	5.75 $\pm$ 2.81	3.59 $\pm$ 2.46	0.031
Kan lökosit sayısı (10³/μl) , ortalama $\pm$SD	9 825 $\pm$ 5416	13 655 $\pm$ 9376	0.270
Kan hemoglobin değeri (gr/dl) , ortalama $\pm$SD	10.59 $\pm$ 1.97	10.62 $\pm$ 2.31	0.967
Kan trombosit sayısı (10³/μl) , ortalama $\pm$SD	141 214 $\pm$ 78 856	212 953 $\pm$ 10 984	0.105
Serum ALT seviyesi (U/lt), ortalama $\pm$SD	39.58 $\pm$ 26.35	36.08 $\pm$ 45.84	0.857
Serum CRP seviyesi (mg/lt), ortalama $\pm$SD	163.64 $\pm$ 112	181.98 $\pm$ 106.36	0.659
Serum prokalsitonin değeri (ng/ml) ortalama $\pm$SD	40.43 $\pm$ 36.49	18.09 $\pm$ 24.69	0.213 (0.521)

Serum kreatinin değeri (mg/dl), ortalama ±SD	1.37±1.09	2.01±2.28	0.447 (0.62)
Serum albumin değeri (gr/dl), ortalama ±SD	2.69±0.45	3.26±0.74	0.099
Yüksek İnokulumdaki Sefazolin MİK değeri, ortalama ±SD	5.68±5.32	2.20±2.91	0.073
Sefazolin İnokulum etkisi, var, n	4	4	0.096
Ampisilin-sulbaktam inokulum etkisi	6	2	0.049

Tablo 11. MSSA Bakteriyemi Olan Hastalarda Mortaliteye Etki Eden Risk faktörlerinin Çok Değişkenli Analiz Sonuçları

	<i>p</i> değeri	‘Odds’ Oranı	%95 Güven Aralığı	
			Alt sınır	Üst sınır
Charlson komorbidite indeksi	0.058	2.194	0.975	4.934
Pitt bakteriyemi skoru	0.073	1.776	0.948	3.328
Serum albumin değeri (gr/dl)	0.038	0.013	<0.001	0.789
Yüksek inokulumda sefazolin MİK değerleri	0.049	1.808	1.002	3.261

Tablo 12. Ölen Hastalarda Görülen Sefazolin İnokulum Etkisi (CzİnE), Belirgin CzİnE, Ampisilin-Sulbaktam İnokulum Etkisi (ASİnE), Belirgin ASİnE ve Bu Hastaların Sefazolin, Ampisilin-Sulbaktam Kullanımı.

Hastalar	CzİnE	Belirgin CzİnE	Sefazolin alan	ASİnE	Belirgin ASİnE	Ampisilin-sulbaktam alan
4	+	+	-	+	-	-
13	-	-	+	-	-	-
22	+	-	-	+	-	+
28	-	-	-	+	+	+
34	-	-	-	+	+	-
39	-	-	-	-	-	-
41	+	-	+	-	-	-
47	+	+	+	+	-	-
%	50	25	37.5	62.5	25	25

Ölen hastaların 4'ünde sefazolin inokulum etkisi ($p=0.17$), bunlardan ikisinde belirgin inokulum etkisi görüldü. Sefazolin inokulum etkisi görülen hastalardan 2'si sefazolin tedavisi alıyordu. Ölen 8 hastadan 5'inde ampisilin-sulbaktam inokulum etkisi vardı, bunlardan 2'si ampisilin-sulbaktam tedavisi alıyordu. Ölen hastalardan sadece biri β -laktamaz negatifti ($p=0.810$).

Ampisilin-sulbaktama inokulum etkisi gösteren suşlarla infekte olanlarda hem mortalite oranı (5/21, %23.8), hem de YBB gereksinimi oranı (6/21, %28.6), inokulum etkisi olmayan suşlarla infekte olanlardan (sırasıyla 2/31, %6.5 ve 1/31, %3.2) belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0.049$). Çalışmamızda ölen 8 hastanın 4 (%50)'ü inokulum etkisi belirlenen sefazolin veya ampisilin-sulbaktam tedavisini almaktaydı.

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda MSSA suşlarının %84.6'sında hem nitrosefin diskiyle, hem penisilin G disk difüzyon testiyle, hem de *blaZ* geninin araştırılmasıyla β -laktamaz pozitifliği olduğu görülmüştür. Son yıllarda diğer çalışmalarda da bu oranın %84-91 arasında olduğu bildirilmektedir (151).

Daha önce yapılmış çalışmalarda, *blaZ* geninin gösterilmesi referans yöntem olmak üzere, *S. aureus*'ta β -laktamaz varlığını göstermede nitrosefin diskinin %39-66, 10 ünitelik penisilin diski zon çapının %57-68, zon sınırının keskin olmasının %89 oranında duyarlı

olduğu bildirilmiş olmakla birlikte (151,152) çalışmamızda her üç yöntemin de %100 duyarlı ve %100 özgül olduğu bulundu. Nitrosefin testi pozitif olan suşların hepsinde ve penisilin direnci saptanan tüm suşlarda (penisilin çapı <29mm) *blaZ* geni saptanmışken, nitrosefin testi negatif olan suşların hepsinde ve penisilin duyarlı suşların hepsinde *blaZ* geni negatif olarak saptandı (%15.4) ($p=0.001$). Bunun nedeni çalışmamızda yer alan β -laktamaz pozitif MSSA suşların tümünde A tipinde β -laktamaz bulunması olabilir. Çünkü *S. aureus*'un A tipindeki β -laktamazlarının nitrosefini daha etkili bir şekilde hidrolize ettiği bilinmektedir (152). Verilerimiz *S. aureus*'un β -laktamazını saptama açısından nitrosefin diskinin ve penisilin disk difüzyon yönteminin kullanımının güvenilir bir yöntem olduğunu göstermektedir. Nitrosefin testi kolay ulaşılabilir ve uygulanabilir olması, hızlı sonuç vermesi ve maliyetinin düşük olması nedeniyle avantajlıdır, öte yandan penisilin diski *S. aureus* için yapılan antibiyogram panellerinde yer aldığı için ek bir maliyet de getirmemektedir.

Çalışmamızda β -laktamaz negatif ve pozitif suşlarla infekte hastalar karşılaştırıldığında, hastaların komorbiditeleri ve Pitt bakteriyemi skorları arasında fark belirlenememiş olmakla birlikte, YBB'de takip edilerek hayatını kaybeden 8 hastanın 7'si β -laktamaz-pozitif suşla infekteydi, ancak sayı az olduğu için aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olamadı ($p=0.81$).

Çalışmamızda etken MSSA suşlarının *blaZ* geninin 128 ve 216 rezidülerini içeren 355bp'lik bölgesinin dizi analizleri sonucunda tanımlanabilen 40 suşun tümünde tip A β -laktamaz belirlendi. 2009 yılında yapılan bir çalışmada (105) bizim çalışmamızda olduğu gibi *blaZ* geninin 128 ve 216 rezidülerini içeren 355bp'lik bölgesinin dizi analizleri yapılmış, bizim çalışmamızdan farklı olarak 98 MSSA suşunun %25.5'i tip A, %15.3'ü tip B, %45.9'u tip C saptanmış, %13.2 suşta ise β -laktamaz geni saptanmamıştır. Song ve arkadaşları (153)'nın Kore'de yapmış oldukları MSSA bakteriyemilerinde geniş spektrumlu β -laktamlarla inokulum etkisini araştıran çok merkezli bir çalışmada 302 MSSA suşundan 254'ü (84.1%) *blaZ* geni pozitif saptanmış ve tip A, B, C ve D β -laktamazlar sırasıyla %13.6, %26.8, %43.4 ve %0.3 oranında saptanmıştır. Bir diğer çalışmada (106) MSSA bakteriyemisi etkeni olan 220 suşta *blaZ* geni %92 oranında saptanmış ve en sık tip C (%53), sonra tip B (%20) ve tip A (%17) β -laktamaz saptanmıştır. 1990 yılında Kernodle ve arkadaşları (154) MSSA suşlarında tam genom analiziyle %54 oranında tip A β -laktamaz, %15 oranında tip B β -laktamaz, %30 oranında tip C β -laktamaz ve %1 oranında tip D β -laktamaz saptamışlardır. Tüm bu veriler, *S. aureus* β -laktamaz türlerinin ülkeler ve bölgeler arasında değişebileceğini, şu ana kadar dünyada genellikle en sık bildirilenin tip C β -laktamaz olduğunu göstermektedir. Ülkemizde *S. aureus* β -laktamaz türlerini genomik yöntemle araştıran başka bir çalışmaya ulaşamamıştır.

Çalışmamız bu konuda yapılan ilk çalışmadır ve suşların hepsinde (%100) tip A β -laktamaz saptanmıştır. Çalışmamız tek merkezli olması nedeniyle ülke geneli hakkında bir sonuca varmak mümkün olmamakla birlikte, İstanbul'un önemli bir 3. basamak hastanesine başvuran hastaları içermesi, hem toplum kökenli hem de sağlık bakımıyla ilişkili infeksiyonlardan izole edilmiş suşları bulundurması nedeniyle önemlidir. Bu konuda yapılacak, diğer illeri de içeren çok merkezli çalışmalar uygun olacaktır.

Suşlarımızın %25'inde CzİnE, %5.76'sında belirgin CzİnE saptandı. Amerika'da yapılan çalışmalarda da bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak MSSA suşlarında %19-27 oranında CzİnE bulunmuştur. Yine daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak sefazolin İnE olan suşlarda en sık tip A β -laktamaz saptanmıştır (%100). Tip A β -laktamazın sefazoline karşı kinetik afinitesinin fazla olduğu düşünüldüğünde bu beklenen bir sonuçtur (155). Tip A *blaZ* geninin, *in vitro* olarak sefazolini en etkin şekilde hidrolize eden enzimi üreten *blaZ* geni olduğu belirlenmiştir. Bunun aksine tip C β -laktamazın tip A'dan yaklaşık 4 kat daha düşük etkinliği olduğu görülmüştür (152).

Çalışmamızda CzİnE olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında farklılık olmadığı görüldü. CzİnE olan suşlarla infekte olan hastalarda Kore'de yapılmış çok merkezli bir kohort çalışmasında çok değişkenli analiz sonucunda metastatik kanser varlığı (OR 2.86, 95% CI, 1.10–7.48) ve yakın zamanda (≤ 1 ay) kronik hastalığı olan biriyle yakın temasta bulunmak CzİnE'si olan MSSA infeksiyonu açısından risk faktörleri olarak bulunmuştu (109). Bizim çalışmamızda MSSA üreyen hastalarımızın %23.5'inin malignitesi olduğu görülmüştür. Bunlardan 3'ünde metastaz saptandı; fakat hiçbirinde sefazolin inokulum etkisi görülmedi. Çalışmamızda metastatik kanserlerle CzİnE arasındaki ilişkiyi destekleyecek sayıda yeterli hastamız yoktur. Aynı çalışmada klindamisin ve eritromisin direnci CzİnE pozitifliğiyle ilişkili bulunmuştur (spesifisite %92.9, negatif prediktif değeri %82.3). Çalışmamızda klindamisin direnci %7.7 oranında bulunmuştur. Klindamisin direnci saptanan 4 suştan sadece 1'inde Cz İnE görülmüştür. İkisi arasında bir ilişki kurulamamıştır. Hastanemizde MSSA suşlarımızın klindamisin direnci düşük saptanmıştır. Amerika'da 2005-2014 yılları arasında yapılmış olan *S. aureus* suşlarında metisilin, klindamisin ve trimetoprim-sülfametoksazol direncini araştıran çalışmada klindamisin direnci kan kültürlerinden elde edilen suşlarda (702 suş) %21 saptanmıştır (92). Eritromisin direnci de önceki çalışmalarda CzİnE'yle ilişkili bulunmuşken (109) çalışmamızda 13 CzİnE görülen suşun sadece 2'sinde eritromisin direnci saptanmıştır. Toplam eritromisin direnci ise sadece 8 suшта görülmüştür (%15.4). Hem toplum kökenli, hem

de nozokomiyal suşların yer aldığı çalışmamızda, CzİnE riskini artıran herhangi bir risk faktörü tanımlanmamıştır.

Çalışmamızda sefazolin İnE'nin tedavi başarısızlığı üzerine etkisi de araştırılmıştır. Sefazolin İnE görülen hastalarda mortalite (4/13, %30), CzİnE görülmeyen hastalarda görülen mortaliteden (4/39, %10) daha yüksek bulunmuştur ($p=0.096$). Çok değişkenli analizde ise serum albümin seviyesi ve sefazolinin yüksek inokülumdaki MİK değerleri mortaliteye etki eden bağımsız risk faktörü olarak belirlenmiştir. Nannini ve arkadaşları (105) sefazolin İnE'nin sefazolin tedavi başarısızlığıyla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Lee ve arkadaşları (122)'nin 10 merkezi içeren prospektif bir gözlemsel kohort çalışmasında sefazolin İnE'nin varlığında MSSA bakteriyemilerinin tedavisinde sefazolin kullanımının tedavi başarısızlığıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Arjantin'de yapılmış, prospektif, gözlemsel bir çalışmada 77 MSSA bakteriyemisi olan hastanın %54.5'inde sefazolin İnE bulunmuş ve bu hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğu saptanmıştır (123). 242 MSSA bakteriyemisini içeren ve sefazolinle nafsilini karşılaştıran bir çalışmada ortalama tedavi başarısızlığı %43.8 (106/242) saptanmış ve sefazolinle tedavi başarısızlığının nafsilinden daha düşük olduğu görülmüştür. Fakat veriler sepsisteki hastalarla sınırlandırıldığında iki antibiyotik arasında tedavi başarısızlığı konusunda bir fark olmadığı belirlenmiş, sefazolin tedavi kolunun %22'sinde sefazolin İnE saptanmış ve bu durumun tedavi başarısızlığı ve mortalite üzerine büyük etkisinin olduğu bildirilmiştir (122). Bir diğer retrospektif gözlemsel çalışmada ise sefazolin İnE bulunan MSSA bakteriyemisi tedavisinde sefazolin kullanımının olumsuz klinik sonuçlara neden olmadığı bildirilmiştir. 113 suşun %57.5'inde sefazolin İnE saptanmış ve persistan bakteriyeminin sefazolin İnE pozitif grupta daha sık olduğu görülmüştür (%9/%0, $p=0.04$). Yetmiş yedi sefazolin alan hastayı içeren bir çalışmada ise suşların %13'ünde belirgin sefazolin İnE görülmüş, bunların çoğu tip A β -laktamaz olarak tanımlanmış (%79) ve hastaların hiçbirinde tedavi başarısızlığı görülmemiştir (106). Tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde, sefazolin İnE gösteren suşların neden olduğu özellikle yüksek inokümlü bakteriyemi gibi infeksiyonlarda, sefazolinle tedavi başarısızlığı olabileceği düşünülmüştür. Bu tür infeksiyonlardan izole edilen suşlarda sefazolin İnE'nin araştırılarak, başta klinik yanıtı iyi olmayan hastalarda olmak üzere alternatif tedavilerin düşünülmesi yararlı olabilir.

Çalışmamızda değerlendirilen antimikrobiklerden en yüksek oranda İnE belirlenen ampisilin-sulbaktam olmuştur. Değerlendirilen suşların %36.5'inde yüksek inokülumda MİK değerleri belirgin olarak yükselmiş, 2 (%2.8) suшта ise MİK değerleri dirençli sınırını aşmıştır. Çalışmamızda ampisilin-sulbaktama inokulum etkisi gösteren suşlarla infekte olanlarda hem

mortalite oranı (6/21, %28.6), hem de YBB gereksinimi oranı (6/21, %28.6), inokulum etkisi olmayan suşlarla infekte olanlardan (sırasıyla 2/31, %6.5 ve 1/31, %3.2) belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0.049$). Çalışmamızda ölen 8 hastanın 4 (%50)'ü inokulum etkisi belirlenen sefazolin veya ampisilini kullanmaktaydı. Daha önce Kore'de yapılmış bir diğer çalışmada da yüksek inokulum etkisi en çok ampisilin-sulbaktam (%65.9) ve piperasilin-tazobaktamda (%43) saptanmıştır. Tip C β -laktamaz taşıyan suşların %93'ünde, tip C dışı β -laktamazın taşıyan suşların ise %45'inde ampisilin-sulbaktama karşı İnE gözlemlendiği bildirilmiştir (153). Ülkemizde MSSA bakteriyemilerinin tedavisinde sefazolinden sonra en sık tercih edilen tedavi alternatiflerinden biri olması nedeniyle ampisilin-sulbaktamda belirlenmiş bu yüksek orandaki İnE'nin önemli olduğu düşünülmüştür. Ölen hastalardan 5'inde ampisilin-sulbaktam İnE'nin olması ve bu hastalardan 2'sinin ampisilin-sulbaktam tedavisi alıyor olması da İnE'nin mortaliteye katkısı olabileceğini düşündürmüştür. MSSA bakteriyemilerinde ampisilin-sulbaktam tedavisi yapılırken klinik yanıt yakından izlenmeli, yanıt alınmadığında İnE araştırılmalıdır.

Çalışmamızda sefuroksim sefazolin kadar düşük MİK değerleriyle MSSA suşlarına etkili bulunmuş ve sefuroksimin MİK değerlerinde standard ve yüksek inokulumda belirgin bir artış olmadığı ve inokulumdan etkilenmediği saptanmıştır. Nannini ve arkadaşları (126)'nın 98 β -laktamaz pozitif MSSA suşunu içeren ve farklı β -laktam antibiyotiklerin inokulum etkisini araştıran çalışmasında da sefuroksimin yüksek inokulumda β -laktamaz varlığından etkilenmediği görülmüştür. Bu çalışmada sefuroksimin sadece yüksek inokulumdaki etkisi araştırılmış fakat yüksek inokulumda β -laktamaz-pozitif ve negatif suşların geometrik ortalaması benzer bulunduğundan β -laktamaz üretiminden etkilenmediği varsayılmıştır (126). Bizim çalışmamızda her iki inokulumda sefuroksimin MİK değerleri araştırılmış ve bu bulgu desteklenmiştir. Altmış üç MSSA suşunu içeren bir başka çalışmada sefuroksimin agar dilüsyon yöntemiyle standard inokulum ve 100 kat yüksek inokulumda etkinliğine bakılmış ve β -laktamaza karşı dayanıklı olduğu saptanmıştır (156). Hem bu çalışmalarda, hem de bizim çalışmamızda sefuroksimin yüksek inokulumdan etkilenmemesi ve sefazolin kadar düşük MİK değerleriyle MSSA suşlarına etkili olması nedeniyle yüksek inokulumlu infeksiyonlarda sefazolinin alternatifi olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle bu tür MSSA infeksiyonlarda sefazolinle karşılaştırmalı çalışmalarının yapılması önemlidir.

Çalışmamızda seftriaksonun MSSA suşlarına karşı ortalama MİK değerinin sefazolin ve sefuroksimden belirgin olarak daha yüksek olduğu ve standard ve yüksek inokulumda yapılan MİK çalışmalarında %3.8 oranında ($n=2$) inokulumdan etkilendiği saptanmıştır. Bir

diğer çalışmada da seftriakson inokulum etkisi %2.3 oranında bildirilmiştir (153). Başka bir çalışmada ise seftriaksonun standard inokulumdaki MİK ortalaması daha yüksekken, inokulumdan etkilenmemiştir. Sadece tip C β -laktamaz üreten bir suşun seftriakson MİK değeri 32 $\mu\text{g/ml}$ ve bir tane de β -laktamaz-negatif suşun seftriakson MİK değeri 16 $\mu\text{g/ml}$ saptanmıştır (126). Bizim çalışmamızda da iki suшта yüksek inokulum etkisi saptandı ve bunlardan biri β -laktamaz negatifti. β -laktamaz negatif suşun MİK değeri 16 $\mu\text{g/ml}$ idi. Sonuç olarak seftriaksonun MSSA infeksiyonlarının tedavisinde esas sorununun yüksek inokulumda etkisinin azalmasından değil, MİK değerlerinin yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Sefotaksimle yaptığımız MİK çalışmalarında, bu ajanın da MİK ortalamalarının sefazolin ve sefuroksimden daha yüksek olduğu, ama sefuroksimle benzer şekilde etkinliğinin inokulumdan etkilenmediği görülmüştür. Sefazoline karşı İnE gösteren MSSA suşlarının neden olduğu bakteriyemilerin tedavisine sefotaksim alternatif olarak düşünülebilir, ama MİK ortalamalarının yüksek olması nedeniyle MSSA bakteriyemilerindeki klinik etkinliği konusunda kontrollü çalışmalar yapılmadan rutin olarak kullanılmamalıdır.

Sonuç olarak çalışmamızda bakteriyemi etkeni olan suşların %84.6'sında hem nitrosefin diskiyle, hem penisilin G disk difüzyon testiyle, hem de *blaZ* geninin araştırılmasıyla β -laktamaz pozitifliği olduğu görülmüş, yöntemlerin hepsinin β -laktamaz belirlemede yeterli olduğu belirlenmiştir. Suşların tümünde genomik analizle A tipi β -laktamaz türü bulunduğu saptanmıştır. A tipi β -laktamazlar, diğer türlere göre daha etkili şekilde β -laktam hidrolize yapabildiği için bu durumun tedavi başarısızlığına yol açabileceği bilinmelidir. Ek olarak ülkemizde MSSA infeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antimikrobikler olan sefazolin ve ampisilin-sulbaktamın MİK değerlerinin, yüksek mikroorganizma konsantrasyonlarında sırasıyla %25 ve %36.5 oranında belirgin olarak yükseldiği ve yüksek inokulumdaki MİK değerinin mortaliteye etki eden bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. Bu nedenle MSSA bakteriyemisi veya endokarditi gibi yüksek inokulumlu infeksiyonlarda, etken suшта inokulum etkisi araştırılması ve belirlenenlerde inokulumdan etkilenmeyen uygun antimikrobiklerin seçilmesi düşünülebilir.

6 KAYNAKLAR

1. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(Suppl. 5): 350–9.
2. Hurley JC, Cosgrove SE, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: An ecological analysis (multiple letters). *Clin Infect Dis*. 2003; 37(6): 866–9.
3. Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients: Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994; 271(20): 1598–601.
4. Coombs GW, Nimmo GR, Daly DA et al. Australian *Staphylococcus aureus* Sepsis Outcome Programme annual report, 2013. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2014; 38(4): 309–19.
5. Wispllinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis*. 2004; 39(3): 309–17.
6. Francolini I, Donelli G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010; 59(3): 227–38.
7. Somerville GA, Proctor RA. The biology of staphylococci. In: Kent B. Crossley, Kimberly K. Jefferson, Gordon L. Archer, Vance G. Fowler Jr. eds. *Staphylococci in Human Disease*: 2nd ed. The Atrium, UK: John Wiley and Sons; 2009:1–18.
8. Ryan KJ. Staphylococci. In: Ryan KJ, Ray CG, eds. *Ryan KJ, Ray CG, Sherris JC. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases*. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2004: 262-272
9. Feng Y, Chen CJ, Su LH, Hu S, Yu J, Chiu CH. Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: Lessons learned from genotyping and comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev*. 2008; 32(1): 23–37.
10. Gill SR, Fouts DE, Archer GL et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J Bacteriol*. 2005; 187(7): 2426–38.
11. Que Y-A, Moreillon P. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock Syndrome)). In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th edition. Philadelphia: Saunders,

- 2015; 2237–69.
12. Naber CK, Bacteremia S, Cid •. Staphylococcus aureus bacteremia: Epidemiology, pathophysiology, and management strategies. Clin Infect Dis. 2009; 48(Suppl.4): 231–7.
 13. Weidenmaier C, Kokai-Kun JF, Kristian SA, et al. Role of teichoic acids in Staphylococcus aureus nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. Nat Med. 2004;10(3): 243–5.
 14. Foster TJ, Geoghegan JA, Ganesh VK, Höök M. Adhesion, invasion and evasion: The many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus. Nature Rev. Microbiol. 2014;12(1): 49–62.
 15. Josefsson E, Hartford O, O’Brien L, Patti JM, Foster T. Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with Clumping Factor A, a novel virulence determinant. J Infect Dis. 2001;184(12): 1572–80.
 16. Mcadow M, Kim HK, Dedent AC, Hendrickx APA, Schneewind O. Preventing Staphylococcus aureus sepsis through the inhibition of its agglutination in blood. PLoS Pathog. 2011; 7(10): 1002307.
 17. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. MSCRAMM-Mediated adherence of microorganisms to host tissues. Annu Rev Microbiol. 1994; 48(1): 585–617.
 18. Vaudaux PE, François P, Proctor RA et al. Use of adhesion-defective mutants of Staphylococcus aureus to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunts. Infect Immun. 1995; 63(2): 585–90
 19. Roche FM, Meehan M, Foster TJ. The Staphylococcus aureus surface protein SasG and its homologues promote bacterial adherence to human desquamated nasal epithelial cells. Microbiology. 2003; 149(10): 2759–67.
 20. Rish T, Erl MP, Oseph J et al. Intranasal mupirocin to prevent postoperative Staphylococcus aureus infections Abstract. N Engl J Med. 2002; 346(24):1871–7.
 21. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC et al. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis.; 2005; 5(12): 751–62.
 22. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015; 28(3): 603–61.
 23. Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(3): 505–20.

24. Williams REO, Jevons MP, Shooter RA, Hunter CJW, Girling JA, Griffiths JD, et al. Nasal staphylococci and sepsis in hospital patients. *Br Med J*. 1959; 2(5153): 658–62.
25. Foster T. *Staphylococcus*. In: Foster T, Baron S, eds. *Medical Microbiology*. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996: Chapter 12
26. Sader HS, Mendes RE, Jones RN, Flamm RK. Antimicrobial susceptibility patterns of community- and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from United States Hospitals: results from the AWARE Ceftaroline Surveillance Program (2012–2014). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016; 86(1): 76–9.
27. Kale P, Dhawan B. The changing face of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Indian J Med Microbiol*. 2016; 34(3): 275–85.
28. Perl TM, Cullen JJ, Wenzel RP, Zimmerman MB, Pfaller MA, Sheppard D, et al. Intranasal mupirocin to prevent postoperative *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 2002; 346(24):1871–7.
29. Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clin Infect Dis*. 2004; 39(6): 776-82.
30. Kaplowitz LG, Comstock JA, Landwehr DM, Dalton HP, Mayhall CG. Prospective study of microbial colonization of the nose and skin and infection of the vascular access site in hemodialysis patients. *J Clin Microbiol*. 1988; 26(7):1257–62.
31. Nouwen JL, Fieren MWJA, Snijders S, Verbrugh HA, Van Belkum A. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int*. 2005; 67(3):1084–92.
32. Bert F, Galdbart JO, Zarrouk V et al. Association between nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and infection in liver transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2000; 31(5): 1295–9.
33. Sissolak D, Geusau A, Heinze G, Witte W, Rotter M. Risk factors for nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in infectious disease patients, including patients infected with HIV, and molecular typing of colonizing strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; 21(2): 88–96.
34. Garrouste-Orgeas M, Timsit J-F, Kallel H, Ali A Ben, Dumay MF, Paoli B, et al. Colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in ICU Patients morbidity, mortality, and glycopeptide use. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001; 22(11):687–92.
35. Akçelik N, Akçelik M. Bakteriyel biyofilmler ve konakçı savunma sistemi ile

- etkileşimleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi. 2017; 33(1): 15-28.
36. François P, Vaudaux P, Foster TJ, Lew DP. Host-Bacteria Interactions in Foreign Body Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1996; 17(8): 514–20.
 37. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*; 1999; 284 (5418):1318–22.
 38. Shaw L, Golonka E, Potempa J, Foster SJ. The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*. 2004; 150(1): 217–28.
 39. Zielinska AK, Beenken KE, Mrak LN, Spencer HJ, Post GR, Skinner RA, et al. SarA-mediated repression of protease production plays a key role in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* USA300 isolates. *Mol Microbiol*. 2012; 86(5): 1183–96.
 40. Thoendel M, Kavanaugh JS, Flack CE, Horswill AR. Peptide signaling in the staphylococci. *Chem Rev*. 2011; 111(1):117–51.
 41. Scherr TD, Heim CE, Morrison JM, Kielian T. Hiding in plain sight: Interplay between staphylococcal biofilms and host immunity. *Front Immunol*. 2014; 5(37):1-7.
 42. Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. Role of persisters and small-colony variants in antibiotic resistance of planktonic and biofilm-associated *Staphylococcus aureus*: An in vitro study. *J Med Microbiol*. 2009; 58(8):1067–73.
 43. Lister JL, Horswill AR. *Staphylococcus aureus* biofilms: Recent developments in biofilm dispersal. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014; 4:178.
 44. Tang J, Zhou R, Shi X, Kang M, Wang H, Chen H. Two thermostable nucleases coexisted in *Staphylococcus aureus*: Evidence from mutagenesis and in vitro expression. *FEMS Microbiol Lett*. 2008; 284(2): 176–83.
 45. Olson ME, Nygaard TK, Ackermann L, Watkins RL, Zurek OW, Pallister KB, et al. *Staphylococcus aureus* nuclease is an SaeRS-dependent virulence factor. *Infect Immun*. 2013; 81(4):1316–24.
 46. Berends ETM, Horswill AR, Haste NM, Monestier M, Nizet V, Von Köckritz-Blickwede M. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. *J Innate Immun*. 2010; 2(6): 576–86.
 47. Amagai M, Matsuyoshi N, Wang ZH, Andl C, Stanley JR. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nat Med*. 2000; 6(11): 1275–7.
 48. Lowy FD. Medical progress: *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998; 339: 520–32.

49. Otto M. Quorum-sensing control in Staphylococci; a target for antimicrobial drug therapy? *FEMS Microbiol Lett.* 2004; 241(2): 135–41.
50. Von Eiff C, Friedrich AW, Peters G, Becker K. Prevalence of genes encoding for members of the staphylococcal leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 49(3): 157–62.
51. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying panton-valentine leukocidin genes: Worldwide emergence. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(8): 978–84.
52. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Pantón-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999; 29(5): 1128–32.
53. Shinefield H, Black S, Fattom A, et al. Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med.* 2002; 346(7): 491–6.
54. Kobayashi SD, DeLeo FR. *Staphylococcus aureus* protein A promotes immune suppression. *MBio.* 2013;4(5): 00764-13
55. McCormick JK, Yarwood JM, Schlievert PM. Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: An update. *Annu Rev Microbiol.* 2001; 55(1): 77–104.
56. Watson ARO, Mittler JN, Lee WT. Staphylococcal enterotoxin B induces anergy to conventional peptide in memory T cells. *Cell Immunol.* 2003; 222(2): 144–55.
57. Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil Extracellular Traps: Double-Edged Swords of Innate Immunity. *J Immunol.* 2012; 189(6): 2689–95.
58. Thammavongsa V, Missiakas DM, Schneewind O. *Staphylococcus aureus* degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death. *Science.* 2013; 342(6160): 863–6.
59. Ferreira AM, Martins KB, Silva VR da, Mondelli AL, Cunha M de LR de S da. Correlation of phenotypic tests with the presence of the blaZ gene for detection of beta-lactamase. *Brazilian J Microbiol.* 2017; 48(1): 159–66.
60. Nimmo GR, Bell JM, Mitchell D, Gosbell IB, Pearman JW, Turnidge JD. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in Australian teaching hospitals, 1989-1999. *Microb Drug Resist.* 2003; 9(2): 155–60.
61. Richter SS, Doern G V., Heilmann KP, et al. Detection and prevalence of penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in the United States in 2013. *J Clin Microbiol.* 2016; 54(3): 812–4.
62. Jansen WTM, Beitsma MM, Koeman CJ, Van Wamel WJB, Verhoef J, Fluit AC.

- Novel mobile variants of staphylococcal cassette chromosome mec in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(6): 2072–8.
63. Tenover FC, Moellering RC. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(9): 1208–15.
 64. Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol and Infect*. 2006; 12(Suppl.1): 16–23.
 65. Gould IM. The problem with glycopeptides. Vol. 30, *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 30(1): 1–3.
 66. Kehrmann J, Kaase M, Szabados F, et al. Vancomycin MIC creep in MRSA blood culture isolates from Germany: A regional problem? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011; 30(5): 677–83.
 67. Peeters MJ, Sarria JC. Clinical characteristics of linezolid-resistant *staphylococcus aureus* infections. *Am J Med Sci*. 2005; 330(2): 102–4.
 68. Stefani S, Bongiorno D, Mongelli G, Campanile F. Linezolid resistance in *staphylococci*. *Pharmaceuticals*. 2010; 3(7): 1988–2006.
 69. Coates R, Moran J, Horsburgh MJ. *Staphylococci: Colonizers and pathogens of human skin*. *Future Microbiol*. 2014; 9(1): 75–91.
 70. Barrett L, Atkins B. The clinical presentation of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69(Suppl.1): 25-7.
 71. Nasser A, Azimi T, Ostadmohammadi S, Ostadmohammadi S. A comprehensive review of bacterial osteomyelitis with emphasis on *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog*. 2020; 148:104431.
 72. Kiedrowski MR, Horswill AR. New approaches for treating staphylococcal biofilm infections. *Ann N Y Acad Sci*. 2011; 1241(1): 104–21.
 73. Parsek MR, Singh PK. Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis. *Annu Rev Microbiol*. 2003; 57: 677–701.
 74. Şimşek-Yavuz S. Consensus Report on Diagnosis, Treatment and prevention of infective endocarditis by turkish society of cardiovascular surgery (TSCVS), Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (KLIMIK), Turkish Society of Cardiology (TSC). *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 28(1): 2–42.
 75. Li JS, Sexton DJ, Mick N, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis*. 2000; 30(4): 633–8.
 76. Fowler VG, Miro JM, Hoen B, et al. *Staphylococcus aureus* endocarditis: A

- consequence of medical progress. *J Am Med Assoc.* 2005; 293(24): 3012–21.
77. Kollef MH, Zilberberg MD, Shorr AF, et al. Epidemiology, microbiology and outcomes of healthcare-associated and community-acquired bacteremia: A multicenter cohort study. *J Infect.* 2011; 62(2): 130–5.
 78. Javaloyas M, Garcia-Somoza D, Gudiol F. Epidemiology and prognosis of bacteremia: A 10-y study in a community hospital. *Scand J Infect Dis.* 2002; 34(6): 436–41.
 79. Laupland KB, Lyytikäinen O, Søgaaard M, et al. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: A multinational population-based surveillance study. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19(5): 465–71.
 80. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: A reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 2002 Nov 19; 137(10): 791–7.
 81. El Atrouni WI, Knoll BM, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Sia IG, Baddour LM. Temporal trends in the incidence of *Staphylococcus aureus* bacteremia in Olmsted County, Minnesota, 1998 to 2005: A Population-Based Study. *Clin Infect Dis.* 2009; 49 (12): 130–8.
 82. Lee CC, Wang JL, Lee CH, et al. Age-related trends in adults with community-onset bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(12): 01050-17.
 83. Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: A population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Arch Intern Med.* 2007; 167(8): 834–9.
 84. Strazzulla A, Chakvetadze C, Picque M, et al. Evolution of haemostatic parameters and risk of bleeding during treatment with cefazolin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38(1): 177–83.
 85. Skogberg K, Lyytikäinen O, Ruutu P, Ollgren J, Nuorti JP. Increase in bloodstream infections in Finland, 1995-2002. *Epidemiol Infect.* 2008;136(1): 108–14.
 86. Wilson J, Elgohari S, Livermore DM, et al. Trends among pathogens reported as causing bacteraemia in England, 2004-2008. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(3): 451–8.
 87. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 50(1): 59–69.
 88. Mcconeghy KW, Bleasdale SC, Rodvold KA. The Empirical Combination of Vancomycin and a β -Lactam for *Staphylococcal* Bacteremia. 2013; 58(7): 1041-2.
 89. Frazee BW, Lynn J, Charlebois ED, Lambert L, Lowery D, Perdreau-Remington F.

- High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in emergency department skin and soft tissue infections. *Ann Emerg Med*. 2005; 45(3): 311–20.
90. Alp E, Klaassen CHW, Doganay M, et al. MRSA genotypes in Turkey: Persistence over 10 years of a single clone of ST239. *J Infect*. 2009; 58(6): 433–8.
 91. Kourtis AP, Hatfield K, Baggs J, et al. Vital Signs: Epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections-United States . *MMWR*. 2019; 68(9): 214–9.
 92. Vicetti Miguel CP, Mejias A, Leber A, Sanchez PJ. A decade of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*: A single center experience. *PLoS One*. 2019; 14(2): 0212029.
 93. Laupland KB. Are we missing the *Staphylococcus aureus* bacteraemia forest for the MRSA trees? *Infect Dis*. 2018; 50(1): 59–61.
 94. Røder BL, Wandall DA, Frimodt-Møller N, Espersen F, Skinhøj P, Rosdahl VT. Clinical features of *Staphylococcus aureus* endocarditis: A 10-year experience in Denmark. *Arch Intern Med*. 1999; 159(5): 462–9.
 95. Tattavin P, Schwartz BS, Graber CJ, et al. Concurrent epidemics of skin and soft tissue infection and bloodstream infection due to community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2012; 55(6): 781–8.
 96. Wang F Der, Chen YY, Chen TL, Liu CY. Risk factors and mortality in patients with nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Am J Infect Control*. 2008; 36(2): 118–22.
 97. Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(3): 505–20.
 98. Pittet D. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med*. 1995; 155(11): 1177–84.
 99. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000; 21(8): 510–5.
 100. Pujol M, Peña C, Pallares R, et al. Nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia among nasal carriers of methicillin-resistant and methicillin-susceptible strains. *Am J Med*. 1996; 100(5): 509–16.
 101. Brook I. Inoculum Effect. *Rev Infect Dis*. 1989 May 1; 11(3): 361–8.
 102. LaPlante KL, Rybak MJ. Impact of high-inoculum *Staphylococcus aureus* on the

- activities of nafcillin, vancomycin, linezolid, and daptomycin, alone and in combination with gentamicin, in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(12): 4665–72.
103. Rose WE, Leonard SN, Rossi KL, Kaatz GW, Rybak MJ. Impact of inoculum size and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) on vancomycin activity and emergence of VISA in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(2): 805–7.
 104. Nannini EC, Singh K V., Murray BE. Relapse of Type A β -Lactamase-Producing *Staphylococcus aureus* native valve endocarditis during cefazolin therapy: Revisiting the issue. *Clin Infect Dis.* 2003; 37(9): 1194–8.
 105. Nannini EC, Stryjewski ME, Singh K V., et al. Inoculum effect with cefazolin among clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: Frequency and possible cause of cefazolin treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(8): 3437–41.
 106. Chong YP, Park S-J, Kim ES, , et al. Prevalence of blaZ gene types and the cefazolin inoculum effect among methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* blood isolates and their association with multilocus sequence types and clinical outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014; 34(2): 349–55.
 107. Livorsi DJ, Crispell E, Satola SW, et al. Prevalence of blaZ gene types and the inoculum effect with cefazolin among bloodstream isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(8): 4474–7.
 108. Song KH, Jung SI, Lee S, et al. Inoculum effect of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* against broad-spectrum beta-lactam antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38(1): 67–74.
 109. Song KH, Jung SI, Lee SH, et al. Characteristics of cefazolin inoculum effect-positive methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* infection in a multicentre bacteraemia cohort. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017; 36(2): 285–94.
 110. König C, Simmen HP, Blaser J. Bacterial concentrations in pus and infected peritoneal fluid - Implications for bactericidal activity of antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 1998; 42(2): 227–32.
 111. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, et al. Infective endocarditis in adults: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 2015; 132(15): 1435–86.

112. Forsblom E, Frilander H, Ruotsalainen E, Järvinen A. Formal infectious diseases specialist consultation improves long-term outcome of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Open Forum Infect Dis*. 2019; 6(12): ofz495
113. Lodise TP, Mckinnon PS, Swiderski L, Rybak MJ. Outcomes Analysis of Delayed Antibiotic Treatment for Hospital-Acquired *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2003; 36(11): 1418-23.
114. Bai AD, Showler A, Burry L, et al. Impact of infectious disease consultation on quality of care, mortality, and length of stay in *Staphylococcus aureus* bacteremia: Results from a large multicenter cohort study. *Clin Infect Dis*. 2015; 60(10): 1451–61.
115. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis*. 2011; 52(3): 18–55.
116. Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 49(1): 1-45.
117. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, et al. 2015 ESC guidelines for the management of infective endocarditis. *Eur Heart J*. 2015; 36(44): 3075–128.
118. Lee S, Choe PG, Song K-H, et al. Is cefazolin inferior to nafcillin for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia? *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55(11): 5122–6.
119. Li J, Echevarria KL, Hughes DW, Cadena JA, Bowling JE, Lewis JS. Comparison of cefazolin versus oxacillin for treatment of complicated bacteremia caused by methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(9): 5117–24.
120. Paul M, Zemer-Wassercug N, Talker O, et al. Are all beta-lactams similarly effective in the treatment of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteraemia? *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17(10): 1581–6.
121. Youngster I, Shenoy ES, Hooper DC, Nelson SB. Comparative evaluation of the tolerability of cefazolin and nafcillin for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infections in the outpatient setting. 2014; 59(3): 369:75.
122. Lee S, Song KH, Jung SI, et al. Comparative outcomes of cefazolin versus nafcillin for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a prospective multicentre cohort study in Korea. *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24(2): 152–8.
123. Miller WR, Seas C, Carvajal LP, et al. The cefazolin inoculum effect is associated with

- increased mortality in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Open Forum Infect Dis*. 2018; 5(6): 1–9.
124. Bard JD, Hindler JA, Gold HS, Limbago B. Rationale for eliminating staphylococcus breakpoints for β -lactam agents other than penicillin, oxacillin or ceftazidime, and ceftaroline. *Clin Infect Dis*. 2014; 58(9): 1287–96.
 125. Thwaites GE, Edgeworth JD, Gkrania-Klotsas E, et al. Clinical management of *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(3): 08–22.
 126. Nannini EC, Stryjewski ME, Singh K V, et al. Determination of an inoculum effect with various cephalosporins among clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 May; 54(5): 2206–8.
 127. Rasmussen JB, Dahl Knudsen J, Arpi M, Schønheyder HC, Benfield T, Østergaard C. Relative efficacy of cefuroxime versus dicloxacillin as definitive antimicrobial therapy in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a propensity-score adjusted retrospective cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 69(2): 506–14.
 128. Phe K, Dao D, Palmer HR, Tama VH. In vitro ceftriaxone susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(2): 1370.
 129. Coenen S, Muller A, Adriaenssens N, et al. European surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): Outpatient parenteral antibiotic treatment in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64(1): 200–5.
 130. Kamfose MM, Muriithi FG, Knight T, Lasserson D, Hayward G. Intravenous ceftriaxone versus multiple dosing regimes of intravenous anti-staphylococcal antibiotics for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA): A systematic review. *Antibiotics*. 2020; 9(2): 1–11.
 131. Paul M, Kariv G, Goldberg E, et al. Importance of appropriate empirical antibiotic therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Dec; 65(12): 2658–65.
 132. Chang FY, Peacock JE, Musher DM, et al. *Staphylococcus aureus* bacteremia: Recurrence and the impact of antibiotic treatment in a prospective multicenter study. *Medicine*. 2003 Sep; 82(5): 333–9.
 133. Khatib R, Johnson LB, Fakih MG, et al. Persistence in *Staphylococcus aureus* bacteremia: Incidence, characteristics of patients and outcome. *Scand J Infect Dis*. 2006; 38(1): 7–14.
 134. Stryjewski ME, Szczech LA, Benjamin DK, et al. Use of vancomycin or first-generation cephalosporins for the treatment of hemodialysis-dependent patients with

- methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(2): 190–6.
135. Kim SH, Kim KH, Kim H Bin, et al. Outcome of vancomycin treatment in patients with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Jan; 52(1): 192–7.
 136. Schweizer ML, Furuno JP, Harris AD, et al. Comparative effectiveness of nafcillin or cefazolin versus vancomycin in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *BMC Infect Dis*. 2011; 11:279.
 137. Park GE, Ko JH, Cho SY, et al. Empirical combination of a β -lactam to vancomycin may not improve outcomes of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia, compared to vancomycin monotherapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017; 36(7): 1091–6.
 138. Eby JC, Richey MM, Platts-Mills JA, Mathers AJ, Novicoff WM, Cox HL. A healthcare improvement intervention combining nucleic acid microarray testing with direct physician response for management of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2018; 66(1): 64–71.
 139. MacNeal WJ, Frisbee FC. One hundred patients with staphylococcus septicemia receiving bacteriophage service. *Am J Med Sci*. 1936; 191(2): 179–95.
 140. Mendell TH. Staphylococcic septicemia: A review of thirty-five cases, with six recoveries, twenty-nine deaths and sixteen autopsies. *Arch Intern Med*. 1939; 63(6): 1068–83.
 141. Van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, Espedido BA, Paterson DL, Gosbell IB. Predictors of Mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(2): 362-86.
 142. Yilmaz M, Elaldi N, Balkan II, et al. Mortality predictors of *Staphylococcus aureus* bacteremia: A prospective multicenter study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016; 15(1): 7.
 143. Wiggli Benedikt J, Reno F, Reto L, Sarah TS, Widmer Andreas F. Survival from methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bloodstream infections over 20 years: A cohort of 1328 patients. *Swiss Med Wkly*. 2017; 147(39–40): 14508.
 144. Rubio-Terrés C, Garau J, Grau S, Martinez-Martinez L. Cost of bacteraemia caused by methicillin-resistant vs. methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in Spain: A retrospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16(6): 722–8.
 145. Austin ED, Sullivan SS, Macesic N, et al. Reduced mortality of *Staphylococcus aureus*

- bacteremia in a retrospective cohort study of 2139 patients: 2007-2015. *Clin Infect Dis*. 2020; 70(8): 1666–74.
146. David MZ, Daum RS, Bayer AS, et al. *Staphylococcus aureus* bacteremia at 5 US Academic Medical Centers, 2008-2011: Significant geographic variation in community-onset infections. *Clin Infect Dis*. 2014; 59(6): 798–807.
 147. Papanicolas LE, Bell JM, Bastian I. Performance of phenotypic tests for detection of penicillinase in *Staphylococcus aureus* isolates from Australia. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(4): 1136–8.
 148. O’Callaghan CH, Morris A, Kirby SM, Shingler AH. Novel method for detection of beta-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1972; 1(4): 283–8.
 149. Voytas D. Resolution and recovery of large DNA fragments. In: Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, eds. *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley and Sons, 2003: 2.5A.1-2.5A.9
 150. Saeki M, Shinagawa M, Yakuwa Y, et al. Inoculum effect of high concentrations of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* on the efficacy of cefazolin and other beta-lactams. *J Infect Chemother*. 2018; 24(3): 212–5.
 151. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020; 33(2): 00047-19.
 152. Zygmunt DJ, Stratton CW, Kernodle DS. Characterization of Four β -Lactamases Produced by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992; 36(2): 440-445
 153. Song KH, Jung SI, Lee S, et al. Inoculum effect of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* against broad-spectrum beta-lactam antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019; 38(1): 67–74.
 154. Kernodle DS, McGraw PA, Stratton CW, Kaiser AB. Use of extracts versus whole-cell bacterial suspensions in the identification of *Staphylococcus aureus* β -lactamase variants. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990; 34(3): 420–5.
 155. Rincó S, Reyes J, Paola Carvajal L, Rojas N, Corté F, Panesso D, et al. Cefazolin high-inoculum effect in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from South American hospitals. *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(12), 2773-8
 156. Skov R, Frimodt-Moller N, Espersen F. In vitro susceptibility of *Staphylococcus aureus* towards amoxycillin-clavulanic acid, penicillin-clavulanic acid, dicloxacillin and cefuroxime. *APMIS*. 2002; 110 (7–8): 559–64.



7 EKLER

EK 1: ETİK KURUL KARAR FORMU



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 469

Konu: Prof. Dr. Serap Şimşek YAVUZ hk.

Tarih : 01.04.2019

Sayın Prof. Dr. Serap Şimşek YAVUZ
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

İlgi : Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 25/12/2018 gün ve 349076 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dr. Moumperra CHRAL OGLOU' nun yürüteceği 2019/449 dosya numaralı "Bakteriyemi Etkeni Olan MSSA Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulum Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 29/03/2019 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Bakteriyemi Etkeni Olan MSSA Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulum Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Serap Şimşek YAVUZ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
Yüksek Doz Araştırması		☐			
Diğer ise belirtiniz :					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ■	ÇOK MERKEZLİ □	ULUSAL ■	ULUSLAR ARASI □	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Bakteriyemi Etkeni Olan MSSA Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulum Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi"			
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐			
	SİGORTA	☐			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐			
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐			
	İLAN	☐			
	YILLIK BİLDİRİM	☐			
	SONUÇ RAPORU	☐			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐			
KARAR BULGULARI	Karar No: 06		Tarih: 29/03/2019		
	Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Serap Şimşek YAVUZ'un sorumluluğunda ve Dr. Moumperra CHRAL OGLOU'nun yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI			19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:			Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Oguzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	TOPLANTIYA KATILMADI

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığının izni alınmak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığının iznine tabi değildir.

EK 2: HASTA TAKİP FORMU

Bakteriyemi Etkeni Olan MSSA Suşlarında Sefazoline Karşı İnokulüm Etkisinin, Bu Etkinin Nedenlerinin, Öngördürücülerinin ve Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

HASTA TAKİP FORMU

Ad Soyad:

Protokol No:

Yaş:

Yattığı Servis:

Cinsiyet:

Yatış Tarihi:

Hastaneye yatış nedeni:

Telefon:

Charlson komorbidite skorunda yer alan hastalıklar var mı ?

MI ☐ KKY ☐ Periferik vasküler hast ☐ Serebrovasküler hast ☐ Demans ☐

Kronik AC hast ☐ Bağ doku hast ☐ Ülser ☐ KC hast ☐ DM ☐

Hemipleji ☐ Orta/ağır böbrek hast ☐ Diyaliz ☐ TM ☐ Lösemi ☐

Lenfoma ☐ Uç organ hasarı olan DM ☐ Metastatik malign tm ☐ AIDS ☐

Orta/ağır KC hasarı ☐ MDS ☐ Organ Transplantasyonu ☐ KIT ☐

AML ☐ ALL ☐ GVHD ☐

İmmunosupresif Tedavi Var ☐ Yok ☐

Tedavi

Nötropeni Var ☐ Yok ☐ Süresi :

İnvazif girişimler Var ☐ Yok ☐

SVK ☐ Sonda ☐ Ventilatör ☐ Endoskopik girişim ☐ TPN ☐

Bakteriyeminin edinildiği ortam:

Toplum ☐ Sağlık Bakımı ☐ Nozokomiyal ☐

Kan kültürü üreme tarihi:

Üreme olduğunda almakta olduğu antibiyotikler, dozu, süresi:

Üreme sonrası başlanan antibiyotikler, dozu, tarihi:

Sefazolin tedavisine başlama tarihi ve aldığı dozu ve süresi:

Kaç şişede üreme olduğu:

Beta laktamaz tarama testi: Var ☐ Yok ☐

Beta laktamaz tipi : A ☐ B ☐ C ☐

Beta laktamaz PCR Dizisi:

Antibiyotik	Duyarlılık sonucu	Zon	MIC
Sefoksitin			
Penisilin			
Ampisilin-sulbaktam			
Sefazolin			
Amoksisilin			
Amoksisilin Klavulanat			
Sefuroksim			
Seftriakson			
Sefotaksim			
Linezolid			
Klindamisin			
Daptomisin			
Siprofloksasin			
Rifampisin			
Fusidik Asit			
Vankomisin			
Teikoplanin			
Kotrimoksazol			

Bakteriyemi kaynağı:

Primer bakteriyemi ☐ Kateter ☐

Sekonder bakteriyemi (kaynak belirtiniz).....☐ ÜSİ ☐ Deri-yumuşak doku inf. ☐
Pnömoni ☐ Batın içi infeksiyon ☐ Diğer ☐

Bakteriyemi veya kaynağı dışında uzak alanda başka infeksiyon

Kateter infeksiyonu inf ☐ Üriner sistem infeksiyonu ☐ Pnömoni ☐

Batın içi inf ☐ Yumuşak doku inf ☐ Diğer

Pitt bakteriyemi skoru (kan kültürü alındığı gün veya 2 gün öncesindeki):

***Ateş** $\leq 35^{\circ}\text{C}$ 2 puan ☐
36 $^{\circ}\text{C}$ 1 puan ☐
36.1-38.9 $^{\circ}\text{C}$ 0 puan ☐
39 $^{\circ}\text{C}$ 1 puan ☐
 $\geq 40^{\circ}\text{C}$ 2 puan ☐

***Hipotansiyon** 2 puan ☐
- Akut hipotansif durum- sistolik basıncın $>30\text{mmHg}$, diyastolik basıncın 20 mmHg'dan fazla düşmesi
- Vazopressor ihtiyacın olması
- Sistolik kan basıncın $<90\text{mmHg}$ olması

***Mekanik ventilasyon** 2 puan ☐

***Kardiyak arrest** 4 puan ☐

***Şuur değişikliği**
- Oryantasyon bozukluğu 1 puan ☐
- Stupor 2 puan ☐
- Koma 4 puan ☐

Toplam puan.....

Laboratuvar değerleri

Tarih:.....

Lökosit/ mm^3		ALT IU/L		CRP (mg/lt)	
(Hb gr/dl)		Kreatinin (mg/dl)		PCT (ng/ml)	
Trombosit ($10^3/\mu\text{l}$)		Albumin (gr/dl)			

Kontrol kan kültürleri (tarih ve sonucu):

Toplam tedavi süresi (gün):

Bakteriyemi komplikasyonları: (lokal komplikasyon-apse vb; metastatik odak, infektif ednokardit vb)

Sonuç **Tam iyileşme** ☐ **Ölüm** ☐
Tarih:



ÖZGEÇMİŞ

Dr. Moumperra Chral Oglou

Doğum Tarihi ve Yeri: 23.09.1989 ve İskeçe-Yunanistan

İlkokul: İskeçe Merkez Azınlık İlkokulu (1996-2002)

Ortaokul ve Lise: İskeçe Muzaffer Salihoğlu Azınlık Ortaokul ve Lisesi (2002-2007)

Üniversite: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (2007-2014)

Yabancı Dil: Yunanca, İngilizce

E-posta adresi: kmuberra@hotmail.com

Mesleki Deneyim:

Ağustos 2015'te İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık öğrencisi olarak göreve başladım ve halen bu görevimi sürdürmekteyim.