

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM
DALI



**VANKOMİSİN ve DAPTOMİSİNİN RATLARDA
OLUŞTURDUĞU RENAL HASARIN KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Fatma SELVİ

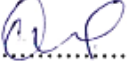
TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kadir SERVİ

ELAĞIĞ
2017

ONAY SAYFASI

.....
Prof.Dr.Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


.....
Prof.Dr.Gürdal DAĞOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.


.....
Prof.Dr.Kadir SERVİ
Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof.Dr.Gürdal DAĞOĞLU

Prof.Dr.Kadir SERVİ

Prof.Dr. Haki KARA


.....

.....

.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Fatma SELVİ', enclosed within a large, hand-drawn oval.

Fatma SELVİ

30.11.2017

TEŞEKKÜR

Çalışmalarında ve tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübesiyle bana araştırmacılığı, sistemli ve düzenli çalışmayı öğreten değerli danışmanım Prof. Dr. Kadir SERVİ'ye, çalışmalarına ve projeme katkısıyla yardımını ve ilgisini eksik etmeyen Prof. Dr. Hatice ERÖKSÜZ'e, biyokimyasal analizlerinde yardımını eksik etmeyen Yrd. Doç. Dr. Gonca OZAN'a, ayrıca tezimin hazırlanmasında finansman desteğini sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KAPAK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
RESİM LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Vankomisin	6
3.1.1. Yapı ve etki mekanizması	6
3.1.2. Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri	8
3.1.3. Etki spektrumu ve klinik kullanımı	9
3.1.4. Yan etkileri ve direnç gelişimi	9
3.2. Daptomisin	13
3.2.1. Yapı ve etki mekanizması	13
3.2.2. Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri	15
3.2.3. Etki spektrumu ve klinik kullanımı	17
3.2.4. Yan etkileri ve direnç gelişimi	20
4. GEREÇ VE YÖNTEM	22
4.1. Materyal	22

4.1.1. Kullanılan araç ve gereçler	22
4.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler	23
4.1.3. Deney hayvanları	23
4.1.4. Örneklerin alınması ve hazırlanması	24
4.1.5. Homojenatların hazırlanması	24
4.2. Metot	25
4.2.1. Böbrek dokusu MDA düzeylerinin ölçümü	25
4.2.2. Böbrek dokusu GSH düzeylerinin ölçümü	25
4.2.3. Böbrek dokusu CAT düzeylerinin ölçümü	25
4.2.4. Böbrek dokusu NAG düzeylerinin ölçümü	26
4.2.5. Kreatinin ve üre ölçümü ile kreatinin klirensi ve BUN hesaplanması	26
4.2.6. İmmunohistokimyasal analizler	27
4.2.7. İstatiksel analizler	29
5. BULGULAR	30
5.1. Ratların böbrek ağırlıklarının randomize edilmesi	30
5.2. Biyokimyasal parametreler	30
5.2.1. Böbrek dokusu MDA, GSH, CAT ve NAG düzeyleri	30
5.2.2. Plazmada Kreatinin, Üre ve BUN düzeyleri	31
5.2.3. İdrarda kreatinin ve kreatinin klirensi düzeyleri	32
5.2.4. Histopatolojik veriler	33
6. TARTIŞMA ve SONUÇ	37
7. KAYNAKLAR	46
8. ÖZGEÇMİŞ	52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Histopatolojik değerlendirme	29
Tablo 2. Rat böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması	30
Tablo 3. Nefrotoksisitenin böbrek dokusundaki parametrelere etkisi	31
Tablo 4. Nefrotoksisitenin plazmadaki parametrelere etkisi	31
Tablo 5. Nefrotoksisitenin kreatinin ve kreatinin klirensi düzeylerine etkisi	32
Tablo 5. Histopatolojik değişiklikler	33
Tablo 6. Çok merkezli 83 çalışmanın incelenmesiyle ortaya konulan veriler	38
Tablo 7. MRSA için alternatif antibiyotikler ve etkinlikleri	39
Tablo 8. Yıllara göre MRSA ve DYDİ tedavisi için tavsiye edilen antibiyotiklerin değerlendirilmesi	40

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Vancomycin: Martindale: The Complete Drug	8
Şekil 2. Gram + bakteri	11
Şekil 3. Enterekoklarda direnç sınıflandırılması	12
Şekil 4. Daptomisin	13
Şekil 5. Daptomisin etki mekanizması	14



RESİM LİSTESİ

Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu	34
Resim 2. Vankomisin grubu böbrek dokusu	34
Resim 3. Vankomisin grubu böbrek dokusunda hematoksilen eozilin, Caspas 3 ve tünel pozitifliği	35
Resim 4. Daptomisin grubu böbrek dokusunda hematoksilen eozilin, Caspas 3 ve tünel pozitifliği	35
Resim 5-6. Vankomisin grubu(üst) daptomisin grubu (alt) farklılıkları	36

KISALTMALAR LİSTESİ

AB-CORE	: Endokardit, intrakardiyak / intravasküler cihaz enfeksiyonu
AE	: Advers etki
BUN	: Kan üre azotu
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin kinaz
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CORE	: Osteomyelit ve ortopedik yabancı cisim aleti enfeksiyonu
CPK	: Kreatin fosfokinaz
CR	: Kreatinin
CrCl	: Kreatinin klirensi
CRRT	: Sürekli renal replasman tedavisi
CVVHD	: Sürekli veno-venöz hemodiyaliz
CVVHDF	: Sürekli veno-venöz hemodiafiltrasyon
CYP450	: Sitokrom p450 enzim
EMA	: Avrupa Birliği İlaç Ajansı
FBPI	: Yabancı vücut / protez enfeksiyonu
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
GISA	: Glikopeptid duyarlılığı azalmış <i>S. Aureus</i>
GSH	: Glutasyon
HAP	: Hastane kökenli pnömoni
HCAB	: Sağlık ilişkili pnömoni
hVISA	: Heterojen vankomisin-ara <i>S. aureus</i>
HE	: Hematoksilen eozin

I.M	: İntramuskuler
I.V	: İntravenöz
İ.P	: İntraperitonal
MDA	: Malondialdehit
MİC	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NAG	: N-asetil-B-glukosamidaz
PDP	: Penisiline dayanıklı penisilinaz
PG	: Fosfatidilgliserol
RMS	: Red man sendromu
SNP	: Genlerde tek nükleotid polimorfizmi
SSTI	: Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları
VAP	: Ventilatör ilişkili pnömoni
VCM	: Vankomisin
VISA	: Vancomisine orta düzeyde dirençli <i>S. aureus</i>
VRE	: Vankomisine dirençli enterokok

1. ÖZET

Ülkemizde son yıllarda artış gösteren metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda sıkça karşımıza çıkmaktadır. Mortalite oranı yüksek olan MRSA için kullanılan antibiyotiklerden vankomisin ve daptomisinin tedavideki yeri oldukça önemlidir. Ancak vankomisinin 1950’lilerdeki keşfinden sonra zamanla vankomisine karşı direnç oluşumu, uygulama sıklığı, uygulama sırasında yoğun ağrı oluşumu ve nadiren de olsa red man sendromu oluşması gibi birçok nedenden ötürü alternatif antibiyotik bulma eğilimi baş göstermiştir. 2009 yılında Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayıyla beraber piyasaya sürülen daptomisin kullanımının günde tek doz olması, ağrısız olması ve direnç gelişiminin az olması nedeniyle kısa sürede popülerite kazanmıştır. Ancak her iki antibiyotiğin de hastalarda belli oranlarda nefrotoksisite gösterdiği gözlenmiştir. Bu tez çalışmasında amaç, ratlara 2 hafta süreyle vankomisin ve daptomisin verilerek oluşan böbrek hasarının derecelerini ilgili parametreler kullanarak tespit etmektir. Araştırmada 21 adet, 8 haftalık, ortalama 200-250 g ağırlığında Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar, her grupta 7 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. 1. gruba (kontrol grubu) serum fizyolojik, 2. gruba vankomisin 200 mg/kg, 3. gruba daptomisin 4 mg/kg günde bir kez periton içi yolla 14 gün boyunca uygulandı. Enjeksiyonların bitiminden 24 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. Ratlardan alınan idrar örneklerinden kreatinin (CR) ve üre, alınan kan örneklerinden kan üre nitrojeni (BUN) ve CR değerleri tespit edildi. Bu değerlerden yola çıkılarak kreatinin klirensleri hesaplandı. Böbrek dokularında N-asetil glikozaminidaz (NAG), katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeyleri saptandı.

Ayrıca böbrek dokusu histopatolojik olarak incelendi ve immunohistokimya ile apoptotik hücreler tespit edilip böbrekteki bulgular ortaya konuldu.

Çalışmanın sonunda, vankomisin ve daptomisin uygulanan ratlarda böbrek hasarı gözlemlendi. Kontrol grubunda ise böbrek hasarı gözlenmedi. Ancak vankomisinin daptomisine oranla oluşturduğu renal hasar seviyesinin daha yüksek olduğu elde edilen bulgularla ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: Vankomisin, daptomisin, rat, böbrek, renal hasar.



2. ABSTRACT

THE COMPARISON OF RENAL DAMAGE CREATED BY VANCOMYCIN AND DAPTOMYCIN IN RATS

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), which has increased in our country in recent years, is frequently confronted with nosocomial infections. Vancomycin and daptomycin are of great importance in the treatment of antibiotics used for MRSA with a high mortality rate. However, after the discovery of vancomycin in the 1950s, over time, there has been a tendency to find alternative antibiotics for many reasons such as resistance to vancomycin, application frequency, intense pain during application and, rarely, red man syndrome. The use of daptomycin, marketed in conjunction with the approval of the FDA in 2009, has quickly gained popularity due to the single dose daily, painlessness and low resistance development. However, it was observed that both antibiotics showed nephrotoxicity in a certain proportion of patients. The aim of this thesis study is to determine the ratios of renal damage caused by administration of vancomycin and daptomycin to rats for 2 weeks using related parameters. 21 male Sprague Dawley rats weighing 200-250 g, 8 weeks old were used. The rats were divided into 3 groups with 7 animals in each group. 1. group (control group) was administered with saline, group 2 vancomycin 200 mg / kg, group 3 daptomycin 4 mg / kg once daily intraperitoneally for 14 days. Twenty-four hours after the end of the injections, the rats were sacrificed. CR (creatinine) and urea from urine specimens obtained from rats, BUN (blood urea nitrogen) and CR values were determined from blood samples taken from rats. Creatinine clearances were calculated from these values. NAG (N-acetylglucosaminidase), CAT (catalase) and GSH (reduced glutathione) enzyme activities and MDA (malondialdehyde) levels

were detected in kidney tissues. In addition, renal tissue was examined histopathologically and immunohistochemistry revealed apoptotic cells and findings in the kidney.

At the end of our study, kidney damage was observed in rats administered vancomycin and daptomycin. In the control group, kidney damage was not observed. However, we found that vancomycin had a higher level of renal damage than daptomycin.

Key Words: Vancomycin, daptomycin, rat, kidney, renal damage.



3. GİRİŞ

Farmasötik maddeler, hasta bakımının merkezinde bulunan teşhis ve tedavi protokollerinin vazgeçilmezidir. Bununla birlikte, tüm ajanlar advers ilaç etkisi profilleri taşırlar. Bunların çoğu klinik olarak önemsiz iken, bazı ilaçlar kabul edilemez seviyede toksisiteye neden olabilir ve bu da hasta morbiditesi ve mortalitesini olumsuz etkiler (1,2). Yan etkilerin fark edilmesi, uygun ilaç dozlarının uygulanması, koruyucu stratejilerin oluşturulması ve toksisiteye bağlı olarak rahatsız edici maddenin geri çekilmesi ve alternatif ilaç uygulanması önemlidir (1). Ampirik olarak MRSA'ya yönelik tedavi verilen hastaların %52'sine, MSSA'ya yönelik tedavi verilenlerin ise %21'ine uygun olmayan birinci basamak tedavi başlanılmaktadır ki bu oranlar oldukça yüksektir (2, 3).

En yaygın kullanılan ilaç grubunun antibiyotikler olması ve gelişigüzel kullanılmaları neticesinde antibiyotik direncinin artması son yıllarda sıklıkla karşılaşılan problemlerdendir (4). Antibiyotikler, ilaçlar arasında nefrotoksisiteye en çok yol açan bileşiklerdir. Bunun nedeni birçok antibiyotiğin ve metabolitlerinin idrarla atılması ve böbrekte yüksek konsantrasyona erişmesindendir (5, 6, 8). Antibiyotiklere bağlı nefrotoksisite çeşitli mekanizmalara bağlı olarak oluşabilmektedir. Hücrel hasar, immünolojik mekanizmalar veya hipersensitive reaksiyonları görülebilir ve bunların sonucunda genellikle akut böbrek yetmezliği tablosu ile karşılaşılır (5,7, 8, 9).

Bu çalışmada amacımız, özellikle son yıllarda oldukça sık rastlanılan MRSA da etkili olan iki kuvvetli rezerv antibiyotiğin, ortak kullanım alanlarında tercih edilebilirliklerini renal hasar düzeylerinin tespiti ile kıyaslamaktır. Deneysel olarak ratlarda daptomisin ve vankomisin ile nefrotoksisite meydana getirdikten sonra elde

ettiğimiz verilerle, mevcut olan hastalarda optimum etki ve minimum yan etki ile tedavilerinin yapılabilmesine katkıda bulunmak hedeflenilmektedir.

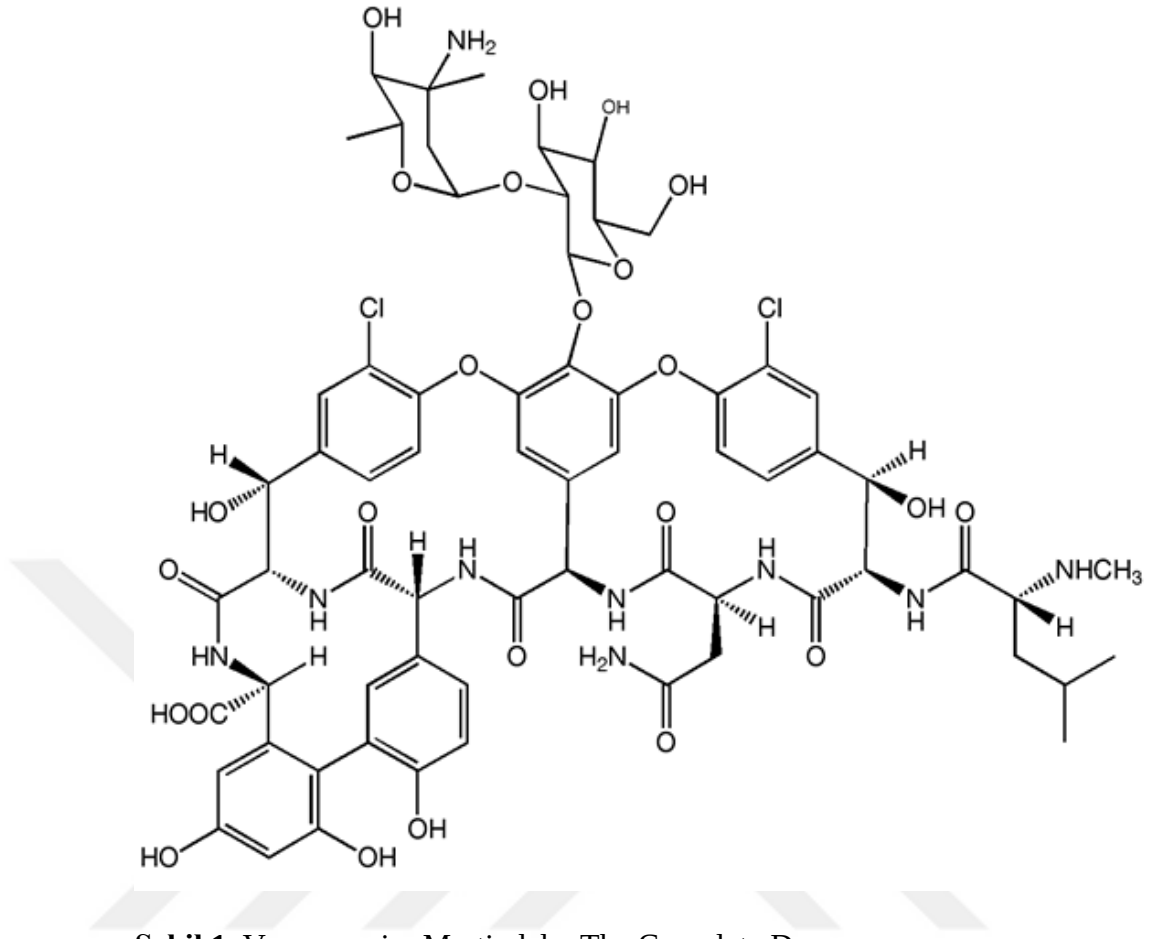
3.1. Vankomisin

1950'li yıllarda, penisiline dirençli stafilokok enfeksiyonlarını tedavi etmek için Eli Lilly şirketi, bu patojenlere karşı etkinliği olan antibiyotik keşfetme amaçlı bir program başlattı. 1952 yılında Borneodaki bir misyoner ormanlık alandan aldığı bir toprak örneğini Amerika'da Eli Lilly firmasında çalışan arkadaşı Dr. Edmund Cornfeld'a gönderdi (10, 11). Dr. Edmund 1953 yılında bu örnekte bulunan *Streptomyces orientalis* isimli organizmanın ürettiği bir bileşiği izole etti. Elde ettiği ilk bileşiğe 05865 denildi (12,13). Ancak penisiline dirençli *Staphylococcus aureus* tedavisinde etkili olması nedeniyle 'vanquish' yani yenmek manasına gelen kelime köken alınarak şimdiki jenerik adı olan vankomisin adı verildi (11, 12). Bunun nedeni izole edilen *Streptomyces orientalis* fermentasyonla elde edilen kültürlerinin denenmiş olduğu tüm stafilokokları öldürmüş olmasıydı. Vankomisini sentezleyen mikroorganizmanın adı önce *Nocardia orientalis*'e ondan sonra da *Amycolatopsis orientalis*'e dönüştürülmüş olsa da 1996 yılına kadar 40 yılı aşkın bir süre boyunca 'vanquish' kökenininin hakkını fazlasıyla vermiştir (11,12).

3.1.1. Yapı ve etki mekanizması

2 beta-hidroksiklorotiazin, 3 fenilglisin, 1 N-metisilin ve 1 aspartik asit amidinden oluşan yedi alt üniteli peptid zincirine glikoz ve vankozaminden oluşan bir disakkaridin bağlandığı çok büyük (1448 dalton) ve kompleks bir moleküldür. Bu karmaşık yapı, vankomisinin bulunuşundan yaklaşık 20 yıl sonra, 1978 yılında açıklanabilmiştir. Molekül büyüklüğünden dolayı gram-negatif çomaklarda hücre duvarı dış zarını geçerek hedef moleküllere ulaşamaz. Bu nedenle gram-negatif

bakteriler vankomisine intrensek dirençlidirler. Suda çözünebilir ve yüksek kararlılıktadır (14). Vankomisin tüm Gram (+) aerob ve anaerob bakterilere etkilidir. Bu bakterilerdeki peptidoglikan sentezinin temelini meydana getiren N-asetil glikozamin N-asetil müramik asit disakkaridindeki müramik aside bağlı pentapeptit zincirinin sonunda bulunan D-alanil-D-alanin dipeptidine bağlanarak etkinliğini gösterir. Bu bağlanma ile peptidoglikan sentezi için olması gereken transglikozilasyon ve transpeptidasyon prosesini engeller, yani vankomisin peptidoglikanın uzamasını ve çarpaz olarak bağlanmasını bloke eder. Böylece peptidoglikan yapı zayıflar ve hücre duvarı sentezinin önüne geçilir. Sonuç olarak ilacın etki mekanizması, bakteriyel hücre duvarı biyosentezinin inhibisyonundan oluşmaktadır. Gelişmekte ve çoğalmakta olan bakteriler üzerinde bakterisidal etki gösterir (15). Gram (-) bakterilerin hedef yapılarına lipid tabakalarından geçememeleri nedeniyle etkili olamazlar (16). İlaç, doruk plazma konsantrasyonunun ölçümünü zorlaştıran ve bireyin yaşından etkilenen yeniden dağılıma maruz kalır. İlacın sadece % 5'i metabolize olur ve eliminasyonu renal atılımlardır (17). Uygulanan ilacın yaklaşık % 90'ı glomerüler filtrasyonla yok edilir (18).



Şekil 1. Vancomycin: Martindale: The Complete Drug

(www.medicinescomplete.com)

3.1.2. Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri

Gastrointestinal sistem tarafından emilimi çok az olduğundan ve IM uygulama sonucu aşırı ağrıya yol açtığından, parenteral kullanımı ancak IV yolla yapılabilmektedir (12). *Clostridium difficile*'ye bağlı kolit tedavisinde metronidazole alternatif olarak oral vankomisin kullanımı söz konusu olsa da ülkemizde oral formu bulunmamaktadır. Normal böbrek fonksiyonu olan hastalarda yaklaşık 6 saat olan eliminasyon yarılanma ömrü, anüri varlığında 7.5 güne kadar ulaşabilmektedir. Fonksiyonel olarak anepatik hastalarda, vankomisinin yarı ömrü 6 ila 10 gün arasında değişmektedir. IV uygulama sonrasındaki 24 saat içinde ilacın % 70-90'ı değişmemiş şekilde glomerüler filtrasyonla atılmaktadır. Vankomisin, yaygın olarak kullanılan

hemodiyaliz ve periton diyalizi ile vücuttan tamamen atılamamaktadır (19). Ancak vankomisinin önemli bir miktarı (yaklaşık % 50'si) yüksek akışlı membran kullanıldığında standart bir hemodiyaliz sırasında atılır. Böbrek yetmezliği varlığında önemli birikim olabilir (15).

3.1.3. Etki spektrumu ve klinik kullanımı

Özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve penisiline dirençli pnömokok enfeksiyonların başlangıcından sonra beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının artmasıyla hastane enfeksiyonlarında MRSA ve penisiline dirençli koklarda öncelikli olarak tercih edilmektedir (20). Yetişkinlerde 1 g doz infüzyondan bir saat sonra plazma konsantrasyonları 15 ila 30 µg / ml değerleri arasında görülebilmektedir. Suşların minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC) ≤ 4 µg / ml ile hassas kabul edilir. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus viridans* üzerine etkili olduğu gibi bazı basil türlerinden *Actinomyces*, *Clostridium* ve *Corynebacterium* üzerine de genel olarak etkilidir. Yetişkin dozu, gerekirse 2 ila 3 fraksiyonlu doz olarak verilebilir. Çocuklarda dozlar yaşa göre değişir (18). Bununla birlikte, vankomisine ait pediatrik dozlar ile ilgili bir görüş birliğine henüz ulaşılmamıştır (20, 21).

3.1.4. Yan etkileri ve direnç gelişimi

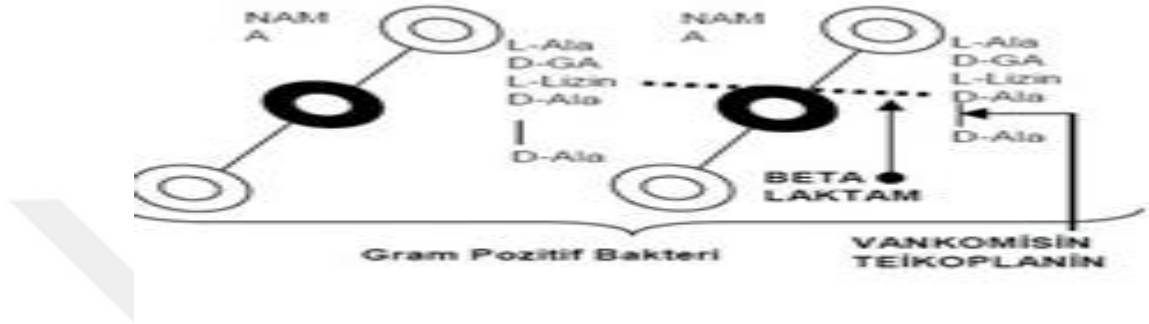
Vankomisin kullanımı sonucu görülen en yaygın etki bölgesel ağrı ile tromboflebit ve hastaların $\geq \% 1$ de görülmektedir. Nefrotoksisite ise hastaların $\% 0,1$ - $\% 1$ 'inde görülmektedir. Özellikle bazı protokollerde vankomisinle beraber kullanılması gereken aminoglikozid türevi ilaçlar da nefrotoksisite oranını önemli oranda yükseltmektedir (22). Ayrıca hipotansiyon, taşikardi, ototoksisite, tinnitus, aşırı duyarlılık reaksiyonları, titreme, baş dönmesi, ekzantem, nötropeni, lökopeni ve

ateş hastaların < % 0,1’inde görülen diğer yan etkiler arasındadır (23). Ototoksisite ilacın kesilmesiyle beraber yok olmaktadır. Ancak bazı hastalarda aşırı duyarlılık nedeniyle ‘red man sendromu’ adı verilen rahatsızlık gözlenmektedir. Genellikle hızlı vankomisin infüzyonuna bağlı olarak ortaya çıkan RMS’da ilacın kullanılması zaruri ise difenhidramin içeren antihistaminik kullanılıp infüzyon hızı düşürülmelidir. Aksi takdirde alternatif ilaç tedavisine geçilmesi önerilmektedir (24). Bununla birlikte, diğer antimikrobik maddelere ve penisilinlere dirençli olan mikroorganizmaların neden olduğu akut gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlarla sefalosporinlere alerjisi olan hastalarda kullanılması önerilir. Gebelik kategorisi C’dir (20, 25).

Bazı çalışmalarda, normal renal fonksiyonu olan hastalarda vankomisin düzeyinin yeterince hızlı terapötik serum seviyelerine ulaşamadığı tespit edilmiş ve bunun nedeni olarak da yayınlanmış talimatlardaki dozaj önerilerinin sıklıkla yetersiz olduğu gözlenmiştir (26, 27). Öktem ve ark.’nın (28) yaptığı çalışmada, vankomisinin kullanımından sonra reaktif oksijen türlerinin artışı ve kompleman ekspresyon genlerinin ekspresyonundaki artış göz önüne alındığında oksidatif stres indüksiyonunu ortaya koymaktadır ki; bu sonuç nefrotoksisite başlangıcını işaret eder. 2010 yılında yapılan bir deneysel çalışmada ise, ilacın vasküler tonusu doğrudan etkilediği bildirilmiştir (29). Vankomisin ile nefrotoksitenin indüklenmesiyle ilgili başlıca risk faktörleri; yüksek dozda ilacın kullanımı, uzun süreli tedaviler, diğer nefrotoksik maddelerle birlikte vankomisin kullanımı, obezite ve hastanın genel durumudur (30).

Direnç gelişimi vankomisin için intrinsek direnç ve kazanılmış direnç olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak 1997 yılında ilk kez Japonya’ da *S. Aureus* ile oluşan enfeksiyonların tedavisi sırasında, yaygın ve aşırı olarak vankomisin kullanılması sonucu, bakterilerde hücre duvarı sentezinin artması ve normalden 3 ila 5 kez daha

fazla D-alanil-D-alanin üretilmesi neticesinde fazla miktarda çözünür dipeptidin ortamda bulunan vankomisini tükettiği görülmüştür. Bu şekilde *glikopeptid duyarlılığı azalmış S. Aureus* (GISA) suşlarında bakteri duvarının içine sızan vankomisini bitirerek etkinliğini yok ettiği bildirilmiştir (31).



Şekil 2. Gram + bakteri (www.tipilmi.com)

Vankomisine dirençli enterokoklarda (VRE) temel ilacın hedefindeki değişikliktir. VRE’ lerde vankomisinin normalde transglikolizasyon ve transpeptidasyonu engellemesi için bağlandığı yer olan terminal D-ala-D-ala sentezlenmeyip bunun yerine bakteri D-ala-D-laktat veya serin sentezler. Bunu yapmak için yani terminal dipeptidin yapısını değiştirmek için bir ligaz enzimi kullanır. Yapısı değişen pentapeptide vankomisin ya çok az bağlanır ya da hiç bağlanamaz. Bu şekilde antibiyotik olmasına rağmen bakteri hücre duvarı sentezlenmeye devam edip bakteri üremeyi sürdürür (32, 33).

VRE’ lerde özel ligaz enzimlerinin varlığı 5 farklı direnç grubunu oluşturmaktadır. D-ala-D-laktat üretimini yapan gruplar; Van A, Van B ve Van D tipi direnç gruplarıdır. D-ala-serin üretiminden ise Van C ve Van E tipi dirençler sorumludur. Sadece *E. flavescens*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, gibi bazı Van C sınıfı türler intrinsik direnç oluşturur ve minimal seviyede bulunan vankomisin

direnciyle ilgilenmektedir. Van A, Van B, Van D, Van E tipleri ise kazanılmış direnç türleridir. Bu direnç tiplerinden en önemlileri Van A ve Van B'dir. Bunun nedeni nozokomiyal infeksiyonlarda sıkça rastlanılan *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin bu gruplarda olması ve yüksek seviyede dirence neden olmalarıdır (31, 32, 34).

Direnç					
Özellik	Van A	Van B	Van C	Van D	Van E
Vankomisin	64 -1000	4 - 1000	2 - 32	64 - 256	16
Teikoplanin	16 - 512	0.5 - 32	0.5 -1	4 -32	0.5
Gen	Edinsel Tn 1546	Edinsel Tn 1547	Yapısal Kromozom	Edinsel Kromozom	Edinsel Kromozom
Peptidoglikan	D ala-D lac	D ala-D lac	Dala-D ser	Dala-D lac	DalaDser
Aktarılabılme	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Mikroorg.	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i> <i>E.gallinarum</i> <i>E.casseiflavus</i> <i>E.durans</i>	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i> <i>E.gallinarum</i> <i>E.casseiflavus</i>	<i>E.gallinarum</i> <i>E.casseiflavus</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecium</i>

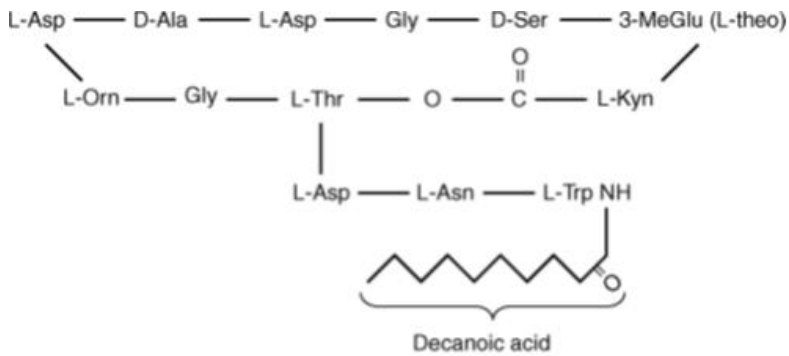
Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2000, 4:195

Şekil 3. Enterekoklarda direnç sınıflandırılması

3.2. Daptomisin

Daptomisin (LY 146032), *Streptomyces roseoporus*'un fermentasyon ürünlerinden türetilmiş bir siklik lipopeptittir (35). İlaç 1980'lerde keşfedilmiştir. Başlangıçtaki çalışmalar günde iki kez 4 mg'lık bir doz ile ilgiliydi ve muhtemelen iskelet kası toksisitesi ile ilişkili serum kreatin kinaz (CK) düzeylerinin sık yükselmesine bağlı olarak 1991'de durdurulmak zorunda kaldı (36). 1999'da ilaç, klinik olarak yeniden tanıtıldı. FDA 2003 yılında günde 4 mg / kg dozunda deri ve yumuşak doku enfeksiyonu (SSSI) tedavisi için daptomisin kullanımını onayladı (37, 38). 2006'da ek bir FDA onayı ile *metisiline duyarlı S. aureus* (MSSA) ve MRSA'nın yol açtığı kan dolaşımı enfeksiyonları ve endokardit için de onay aldı. Daptomisin Avrupa Birliği İlaç Ajansı (EMA) tarafından ise 19 Ocak 2006 tarihinde onaylandı (35). Türkiye' de ise daptomisin Ağustos 2010 tarihi itibarıyla sağlık bakanlığı tarafından onay almıştır (39).

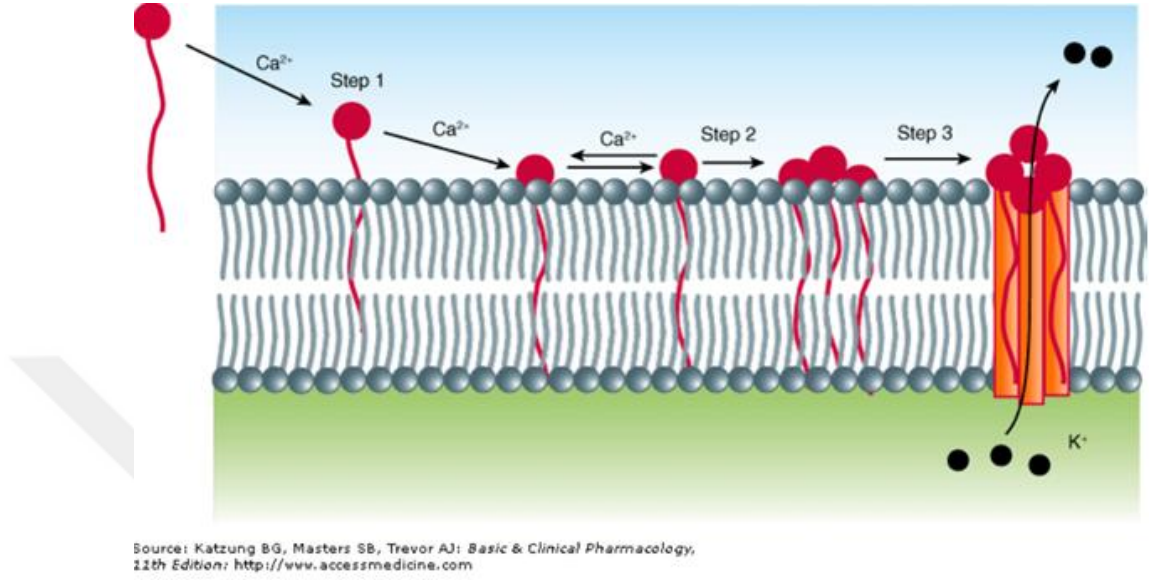
3.2.1. Yapı ve etki mekanizması



Source: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ: *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Şekil 4. Daptomisin

Daptomisin siklik lipopeptid yapıdadır. Bir dekanolik asit yan zincirine (lipofilik kuyruk) sahip 13 üyeli bir aminoasit siklik lipopeptitten (hidrofilik çekirdekten) oluşur (35).



Şekil 5. Daptomisin etki mekanizması

Bakteri membranında depolarizasyonuna neden olan farklı bir etki mekanizmasına sahiptir. Daptomisin hücre dışında bulunan kalsiyuma bağlanarak aktif hale geçer ve hücre membranı ile etkileşerek membranda iyon kanalları oluşturur. Bu iyon kanallarından da dışarı potasyum çıkışı olur. Bunun sonucunda hücre membranında hızlı depolarizasyon meydana gelir. Bu hızlı depolarizasyon mekanizması ile hücre duvarını yıkmadan bakteri ölümü gerçekleşir. Bu sayede toksin salınımına bağlı olan komplikasyonların gelişme riski azalır. Bu mekanizmanı sağladığı yararlar ise hızlı bakterisidal etki ile direnç gelişim riskinin minimize edilmesi ve tedavi süresi ile hastanede yatış süresinin kısaltılmış olmasıdır (40, 41).

Daptomisin, şimdiye kadar ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmış tek zar aktif antibiyotiktir. Membranla aktif antibiyotikler, direnç eğilimli konvansiyonel antibiyotiklere alternatif olabilmektedir. İlaç, gram pozitif patojenlerin

sitoplazmik membranları ile etkileşime girerek, iyonlara ve hücre ölümüne böylece membranın permeabilizasyonuna neden olur. Antibiyotik aktivite, kalsiyum iyonuna bağımlıdır ve fosfatidilgliserol (PG) içeriğindeki hedef membranın içeriğiyle ilişkilidir. Membranlarla böyle karmaşık bir reaksiyon için, antibakteriyel aktivitenin altında yatan moleküler süreci ortaya çıkarmak zordur. Kofaktör olan kalsiyum iyonlarının rolü kafa karıştırıcıdır. Birçok araştırmacı, daptomisine bağlanan kalsiyum iyonlarının, membran etkileşimi için bir önkoşul olduğunu öngörmektedir. D'Avolio ve ark. (42) özellikle düşük aralıktaki terapötik konsantrasyonlarda membran bağlama reaksiyonundan önce ve sonra daptomisinin moleküler durumu hakkındaki verileri dairesel dikroizma (CD) analizleri ile ortaya koyan bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada daptomisin moleküllerinin zara bağlamadan önce monomerik olduğunu belirlemek için yeterince düşük daptomisin konsantrasyonlarında küçük açılı x-ışını saçılması yaparak Ca^{2+} ve PG ihtiva eden membrana bağlanmadan önce ve sonra farklı iki durumun bulunduğunu tespit etmişlerdir. Membran bağlama reaksiyonunun stokiyometrik oranlarını belirleyen bu çalışmada daptomisinin kalsiyuma stokiyometrik oranının 2: 3 olduğu ancak sadece PG lipidlerine erişebiliyorsa daptomisinin PG'ye stokiyometrik oranının $\sim 1:1$ olduğu tespit edilmiştir (42).

3.2.2. Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri

Daptomisinin yarılanma ömrü ortalama 8 saatir ancak 6 ila 10 saatlik bir post antibiyotik etkiye sahip olduğundan infüzyon ya da enjeksiyonla günde tek doz uygulanması kullanım kolaylığı sağlamaktadır (15, 39, 43). Önerilen günlük miktar deri ve yumuşak doku enfeksiyonları için 4-6mg/kg olsa da mortalite oranı yüksek olan hastalarda 8 ila 10 mg a kadar doz yükseltilebilmektedir. Özellikle endokardit vakalarında kreatinin klirensleri 30ml / dk'nın altında kalmasına dikkat edilerek

kullanılmalıdır (15, 43, 44). Konsantrasyona bağılı olarak hızlı bakterisidal etki gösterir (15,45, 46). Bakterisidal etkinin hızlı olması direnç gelişim riskini azaltarak bakteri üreme hızını minimal seviyeye çeker. Proteine bağlanma oranı %90 'ın üzerinde olduğu için menenjit tedavisinde güvenilir değildir. Pulmoner sürfaktan daptomisini antagonize eder ve daptomisin inaktif olacağından pnömoni tedavisinde rolü yoktur. Renal yolla ilaç atılımı esastır ve % 60'ı değişmeden idrar yoluyla atılır. (15, 39, 43-45, 47, 48). Sitokrom p450enzimi ile etkileşmediğinden ilaç etkileşimi önemsenebilecek kadar azdır. 40 mikrogram serbest ilaç / mL'e kadar olan daptomisin konsantrasyonlarında bilinen inhibitörlerle karşılaştırıldığında CYP450 izoformlarının aktivitelerinin biyolojik olarak önemli bir inhibisyonu gözlenmemiştir. İnsan hepatosit sonuçları, daptomisinin, hepatik CYP450 aracılı ilaç metabolizması üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını ve bu nedenle daptomisinin, birlikte verilen ilaçlarla CYP450 izoformları tarafından metabolize edilen farmakokinetik etkileşimler için potansiyel gösterme olasılığının düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca aminoglikozidler, beta-laktamlar ve rifampisin ile sinerjik etkileri olmalarına rağmen statinler ile kullanıldığında kas toksisitesi dikkatle incelenilmelidir (50, 51). Bradley ve arkadaşları (47) 3 ila 24 aylık toplam 24 bebeği *Staphylococcus aureus* sebebiyle oluşan infeksiyonun tedavisinde doz belirlemek amacıyla 3-6, 7-12 ve 13-24 ay olarak 3 yaş grubuna ayırarak bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. İntravenöz daptomisin (tek doz), 13-24 aylık bebeklere 6 mg / kg'da 30 dakika içinde ve daha genç gruplarda 4 mg / kg'da uygulanmıştır. Alınan kan örneklerinde daptomisin düzeyi 3-6 ve 7-12 aylık olup 4 mg / kg dozda ilaç alanlarda benzer sonuçlar tespit edilmiştir (sırasıyla 215 ve 219 $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$). 13-24 aylık olanlar yani daha yüksek doz alan çocukların daptomisin düzeyi oranları (282 $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$) daha yüksek bulunmuştur. Yaş gruplarında ortalama

maksimum plazma konsantrasyonları sırasıyla 38.7, 37.1 ve 67.0 µg / mL tespit edilmiştir. Mg / kg dozuna dayanan daptomisin maruziyeti, muhtemelen artmış klirens, dağılım hacmi ve görünür eliminasyon yarı ömrünün azalması nedeniyle, daha yaşlı çocuklar ve yetişkinler için daha önce bildirilenlerden daha düşük çıkmıştır. Tek doz daptomisinin 4 ve 6 mg / kg iyi tolere edildiği bu çalışmanın sonucunda yetişkinlerde bilinen klinik ve mikrobiyolojik etkileri karşılamak için bebeklere daha yüksek mg / kg daptomisin dozu gerektiğini ortaya koymuşlardır (47). Hematolojik maligniteleri olan yetişkin hastalarda ise daptomisin kullanımında doz ayarlamaları 6, 8, 10, 12 mg/kg/gün olarak uygulanan bir çalışmada 30 adet onkohematolojik hasta için çeşitli klinik senaryolarla çıkan sonuç daptomisin ≥ 8 mg / kg / gün dozlarını düşünmek için güçlü bir gerekçe sunmuştur. 2017 de yapılan bu çalışmada çıkan sonuçlar ilaç dozlaması ve tedavide optimum dozun önemini vurgulamaktadır (48). Daptomisinin 30 dakikalık infüzyonu ile iki dakikalık enjeksiyonunun kıyaslandığı bir çalışmada AUC ve Cmax değerleri benzer olarak bulunmuştur (49).

3.2.3. Etki spektrumu ve klinik kullanımı

Daptomisin, aerobik ve anaerobik gram pozitif organizmalarda yüksek bir etkinlik spektrumuna sahiptir. MSSA, MRSA, penisiline dirençli *Streptokok pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium jeikeium*, *E.faecalis* ve *E. faecium* (VRE dahil), VISA, VRSA gibi enterokok ve stafilokoklarda oldukça etkilidir. *Clostridium difficile* gibi anaeroplara da etkilidir. Vankomisine direnci olan *Pediococcus*, *Lactobacillus* ve *Leconostoc* tipi bakterilere de etkinliği olduğu tespit edilmiştir (42, 52-55).

Daptomisin klinikte en çok MRSA, MSSA, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, sağ kalp enfektif endokarditi ile bakteriyemi tedavisinde sıklıkla yoğun bakımlarda kullanılmaktadır (35-39).

Namtu ve ark.'nın (56) yayınlandığı retrospektif çalışmada Ekim 2008 - Haziran 2014 tarihleri arasında kanıtlanmış gram pozitif enfeksiyonların tedavisinde daptomisin alan hastaneye yatırılan çocukların elektronik tıbbi kayıtları incelenmiştir. En az 3 gün daptomisin tedavisi alan 146 hastanın 109'unda kanıtlanmış bir gram-pozitif enfeksiyon tespit edilmiş ve daha ileri analiz için bu grup incelemeye alındı. 109 hastanın 71'i erkek (% 65) ve ortalama yaşları 12 olarak tespit edildi (aralık: 2.5 ay ila 24 yıl). Ortalama tedavi süresi 12 gün olarak hesaplandı (aralık: 3-21 gün, ortalama = 12 gün). Daptomisin tedavisi görenlerde kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları en sık görülen enfeksiyon türlerindendi (n = 81 hasta). Hastaneden taburcu edildiğinde 107 hastada (% 98) iyileşme ve kararlılık raporlandı. 104 hastada (% 95) başlangıçtaki kreatin fosfokinaz (CPK) düzeyi elde edildi (56).

Sürekli renal replasman tedavisi (CRRT) uygulanan hastalarda daptomisin doz aralığı için rehberlik sağlamak amacıyla 2017'de Xu ve ark.'nın (57) yaptığı çalışmada sürekli veno-venöz hemodiyaliz (CVVHD; n = 9) ve sürekli veno-venöz hemodiafiltrasyon CVVHDF, n = 8) uygulanan hastalardan alınan veriler kullanıldı. Çeşitli dozaj rejimlerinden (4, 6, 8, 10 ve 12 mg/kg/ ;24 saat ve 48 saatlik dozlar olarak uygulandı) sonra daptomisin'in 24 saatlik AUC, Cmax ve Cmin değerlerini karşılaştırmak için model tabanlı simülasyonlar gerçekleştirilen çalışmada Staphylococcus aureus nedenli bakteriyemi ve sağ taraflı enfektif endokardit tedavileri için güvenlik ve etkinliğe maruz kalma değerleri referans olarak alınmıştır. Sonuç olarak daptomisin'in 12 mg kg'a kadar 24 saat dozajlaması CVVHD ve CrCl $\geq$ 30 ml

dak-1 olan hastalarda kıyaslanabilir ilaç maruziyeti sağladığı, CVVHDF hastalarında ise 8 mg/kg doza kadar günlük daptomisin kullanımının uygun olduğu, ancak daha yüksek dozlar toksisite riskini arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca 48 saat dozlaması, tüm hastalarda 12 mg/kg'a kadar olan dozlarda önemli ölçüde daha düşük AUC₂₄₋₄₈ saat ile ilişkiliydi ve bu nedenle 24 saatlik dozlamaya kıyasla daha uygunsuz olduğu sonucuna varılmıştır (57).

Arbeit ve ark.'nın (58) MRSA ve MSSA 'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için 1092 hasta üzerinde vankomisin, daptomisin ve penisilinaza dayanıklı penisilinler kullanılmış; MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonlarda daptomisinle % 75 vankomisinle ise % 69 başarı elde edilmiştir. MSSS'ya bağlı enfeksiyonda başarı oranı PDP ve vankomisin için % 87 iken daptomisinde % 86 olarak saptanmıştır (58). Davis ve ark.'nın (59) yaptığı çalışmada ise MRSA kaynaklı deri ve yumuşak doku enfeksiyonlu 265 hastada daptomisin kullanılarak 4 günde tamamlanan tedavi vankomisin ile 7 günde tamamlanabilmıştır. Sağ kalp endokarditli hastalarda penisilin, vankomisin ve daptomisin ile yapılan tedavi sonucunda elde edilen veriler birbirine benzer bulunmuştur (60, 61). Fowler ve ark. (62) ise bakteriyemi ve sağ kalp endokarditli 265 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada penisilin, vankomisin ve daptomisinin etkinliklerinin istatistiksel olarak benzer olduğunu ortaya koymuştur.

Daptomisinin gram pozitif kaynaklı kemik ve eklem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmasına yönelik olarak Finney ve ark.'nın (63) yaptığı çalışmada hastaların tamamında iyileşme görüldü ve kemik dokusuna geçişinin iyi derecede olduğu tespit edildi. Ayrıca daptomisin ile yapılan 44 günlük tedavi süresince daptomisinin iyi şekilde tolere edildiği gözlemlendi (63). Daptomisin septik artritte primer patojen olan *Staphylococcus aureus*'a karşı *in vitro* bakterisidal özelliكتedir. Forrest ve

ark.'nın (64) 22 septik artiritli hasta üzerinde yaptığı çalışma sonucunda daptomisinin tedavi rejiminin parçası olarak kullanıldığında başarılı olduğu görülmüştür.

3.2.4. Yan etkileri ve direnç gelişimi

En sık bilinen yan etkileri ishal, bulantı, kusmadır. Genellikle iyi tolere edilir. Bununla birlikte anemi, baş ağrısı, hipokalemi, periferik ödem, artralji ve renal bozukluk görülen diğer yan etkilerdir. Doza bağlı olarak iskelet sisteminde toksisiteye neden olur. Miyalji, kas güçsüzlüğü ve kreatin kinaz seviyelerinde yükselme daptomisin uygulamasının 7 günü geçmesiyle beliren diğer yan etkilerden olup ilacın kesilmesiyle birlikte bu yan etkiler ortadan kalkmaktadır. Gebelik kategorisi B olarak belirlenmiştir (15, 43, 65, 66)

Daptomisine karşı oluşan direnç henüz çok düşük olmakla birlikte daptomisine duyarlılığı azalmış VISA suşu tespit edilmiştir (67). Çoğu diğer antimikrobiyallerin aksine, artmış daptomisin direncine yönelik bir eğilim bildirilmemiştir, ancak daptomisin duyarlılığı olmayan vakalar bildirilmiştir. 2015 yılında Stefani ve ark.'nın (68) yaptığı bir çalışmada 62 klinik vakayı tanımlayan 36 rapor incelenmiş, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda başarısız vankomisin tedavisi sonrası daptomisine duyarlılığın azaldığı tespit edilmiştir. Mevcut analiz, ciddi *S. aureus* enfeksiyonlu hastaları tedavi etmek için vankomisin kullanıldığında MIC'nin belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır ve başarısızlık şüphesi olduğunda, heterojen vankomisin-ara *S. aureus* (hVISA) testi de gerekli olabilir. Daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulsa da, daptomisin direncinin gelişmesine zemin hazırlayabilen uzun süreli bakteriyemi sırasında MRSA suşlarının hVISA haline geldiği varsayılabilir (68).

Kanada ve Amerika’ da 2009’da gerçekleştirilen bir çalışmada *Staphylococcus aureus* izolatları arasında direnç oranının daptomisin için % 0,01’den az olduğu saptanmıştır (69). Ancak son on yılda MRSA tedavisi için vankomisin ve daptomisin kullanımının artması MRSA suşlarının daptomisin duyarlılığında azalmaya neden olmuştur. Buna ek olarak, son zamanlarda daptomisine duyarlılığı azaltılmış giderek artan sayıda MSSA izoladı tanımlanmıştır. MSSA artmasından dolayı gözlemlenmesi, hızlı ve güvenilir daptomisin duyarlılık testi gerekmektedir. Bu nedenle 2017’de Weber ve ark.’nın (70) yaptığı çalışma, klinik mikrobiyolojik laboratuvarlarda daptomisin direncini saptamada sık kullanılan yöntemlerin yeteneğini değerlendirmeyi amaçlamıştır. MRSA ve MSSA izolatlarında daptomisin duyarlılığını tespit etmişlerdir. Veriler, rutin laboratuvarların, üreticinin tavsiyelerine göre piyasada bulunan test sistemleri kullanıldığı sürece, daha fazla daptomisin direnci geliştirmeye bakma riskinin sınırlı olduğunu göstermektedir (70).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Kullanılan araç ve gereçler

Alet ve cihazlar	Markası
Standart doku takip kasetleri	Citotest Embedding Cassette
Otomatik doku takip cihazında	Leica TP 1020
Parafin bloklama cihazı	Leica EG 1150 H
Rotary mikrotom	Leica RM 2125
Normal ışık mikroskobu	Olympus BX43
Kaspaz-3 kiti	Boster Biological Technology, poliklonal anti-caspaz-3 antybody
TUNEL kiti	Millipore Apop Tag Plus Peroxidase InSitu Apoptosis Detection Kit
Mikrodalga fırında	650 W
Pozitif şarjlı lam	Isolab
Plastik lameller	Isolab
Görüntü analiz sistemli ışık mikroskobu	Olympus BX43, DP 72
Spektrofotometre	Techcomp UV 7500
Spektrofotometre küveti (normal ve kuvarz)	Isolab
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal 320
Cam homojenizatör	Potter-Elvehjem
İnkübatör	Nüve FN500
Su banyosu	Nüve NB9
pH metre	WTW pH 340i
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik 2553 D
Manyetik karıştırıcı	Colara Magnetomix
Hassas terazi (0,001 g- 150 g)	Denver Instrument Apx-153
Cam tüp	Isolab
Ependorf	Isolab
Balon joje (5,10, 25, 50 ml)	Isolab
Beher (25, 50, 100 ml)	Isolab
TİT kabı	Isolab
NAG kiti	Elebscience
Microplate reader cihazı	Kayto RT-2100c
Mikropipet (10-100, 100-1000 µl)	Thermo Labsystems

4.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Araştırmada kullanılan daptomisin Cubicin 500 mg, vankomisin ise Anko-L 500 mg müstehzar isimleriyle temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan diğer sarf malzemeleri ise analitik düzeyde olup Sigma firmasından satın alındı.

4.1.3. Deney hayvanları

Bu çalışmanın deneysel protokolü Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 14.05.2014 tarihli ve 113 karar no'lu onayı doğrultusunda etik kurallara uygun olarak yapıldı. Araştırmada 200-250 gr ağırlığında olan 8 haftalık Spraque Dawley cinsi erkek ratlar (n=21) kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi. Deneylerde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyoduna uyulmuş, sıcaklığı 21–24 0C olarak ayarlanmış bir ortamda tutulmuştur. Hayvanların tümü 14 gün boyunca standart rat yemi ile beslenmiştir.

Deney Grupları

Her grupta 7 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı;

1. Grup (Kontrol): Kontrol grubunda bulunan ratlara günlük 1 ml % 0,9 serum fizyolojik biyolojik stresi ekarte etmek amacıyla intraperitoneal olarak uygulandı.
2. Grup (Vankomisin): Bu grupta bulunan ratlara vankomisin 200 mg / kg / gün olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulandı.
3. Grup (Daptomisin): Bu grupta bulunan ratlara daptomisin 40 mg / kg / gün olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulandı.

Deney süresi 14 gün olarak belirlendi. Ratlar deney boyunca her gün tartılarak doz ayarlaması yapıldı. Deney bitiminde canlı ağırlık tartımları yapılarak canlı ağırlık

ortalamaları değerlendirildi. Vankomisin ve daptomisin doz değerleri literatür ve hastane uygulamalarındaki terapötik dozlar dikkate alınarak hesaplandı.

4.1.4. Örneklerin alınması ve hazırlanması

Son ilaç uygulamasından 24 saat sonra metabolik kafes yardımıyla elde edilen idrarlar kreatinin ve kreatinin klirensleri tespit edilmek üzere -20 °C'ye konulduktan sonra ratlar ksilazin-ketamin anestezi altında sakrifiye edildi. Serumda; üre, kreatinin ve BUN düzeylerinin belirlenmesi için yeterli kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 15 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -20 °C'ye konuldu. Daha sonra laparotomi yapılarak her iki böbrek alındı. Sağ böbrekler histopatolojik muayene için % 10'luk formol içine bırakıldı, sol böbrekler de biyokimyasal analizler için -20 °C'ye konuldu. Histopatolojik muayene, immunohistokimyasal olarak Caspas-3 analizi ve TUNEL yöntemi kullanılarak yapıldı. Alınan böbrek dokularında GSH, CAT, NAG enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntem ve Elisa test yöntemi kullanılarak saptandı.

4.1.5. Homojenatların hazırlanması

Dokular -20 °C'den alındı ve tartılıp cam tüplere konuldu. Doku örnekleri % 1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilerek, 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlarda böbrek doku MDA tayini yapıldı. Geri kalan homojenat +4 °C' de 45 dakika süreyle 3500 rpm'de santrifüj edildi. Bu süpernatantlarda ise GSH, CAT aktivitelerinin tayini ve protein ölçümleri yapıldı.

4.2. Metot

4.2.1. Böbrek dokusu MDA düzeylerinin ölçümü

Böbrek dokusunda MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Placer (71) tarafından önerilen metoduna göre yapıldı.

Prensip: Bu yöntem lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansı 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır. Bu metoda göre dokudaki MDA düzeyi nmol/g doku olarak hesaplanır.

4.2.2. Böbrek dokusu GSH düzeylerinin ölçümü

Böbrek dokusunda GSH düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Chavan ve ark.'nın (72) yöntemine göre tayin edildi.

Prensip: Bu metod 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoik asit eklendiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. Oluşan sarı renkli çözeltinin absorbansı 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır. Bu metoda göre dokudaki GSH düzeyi nmol/g doku olarak hesaplanır.

4.2.3. Böbrek dokusu CAT düzeylerinin ölçümü

Böbrek dokusunda CAT enzim aktivitesi Aebi (73) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: CAT katalitik aktivitesiyle hidrojen peroksiti parçalayarak su ve oksijene dönüştürmektedir. Hidrojen peroksit 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. Deney ortamına ilave edilecek H₂O₂'nin CAT enzimi

tarafından parçalanması UV spektrumunda bir absorbands azalması olarak takip edildi. Absorbanstaki azalma enzim aktivitesiyle doğru orantılı olduğundan hesaplamada 1 dakikalık lineer absorbands azalmasının değeri esas alındı.

4.2.4. Böbrek dokusu NAG düzeylerinin ölçümü

Böbrek dokusunda NAG enzim aktivitesi Elabscience elisa kiti (74) tarafından immünokimyasal olarak tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Dokular -20 °C'den alındı ve tartılıp cam tüpe konuldu. Doku örnekleri 0,01 M ve ph:7,4 olan phosphate bufferde saline (PBS) kullanılarak, kırılmış buz içerisinde homojenizatörle homojenize edilerek, 5000rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlarda böbrek doku NAG enzim tayini yapıldı. N-asetil-β-D glukozaminidaz (NAG), böbrek hastalık ve hasarının tespiti amacıyla kullanılan bir enzimdir. Bu enzim proksimal tübül lizozomlarında bulunan glikozidazların en aktifidir. Yüksek moleküler ağırlığına bağlı olarak (M.A. ≥ 1300000 dalton) glomerüllerden filtrasyona uğramaz, bu nedenle miktarının artması tübüler hasarın duyarlı bir göstergesidir.

4.2.5. Kreatinin ve üre ölçümü ile kreatinin klirensi ve BUN hesaplanması

İdrarda ve serumda kreatinin ve üre ölçümleri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarlarından hizmet alımı şeklinde kolorimetrik kit kullanılarak Hitachi 705 otoanalizöründe yapıldı.

$$\text{BUN} = \text{ÜRE} \times 0,467$$

Kreatinin klirensi= İdrardaki kreatinin değeri*İdrar hacmi(24 saatlik)/Serum kreatinin değeri

4.2.6. İmmunohistokimyasal analizler

Histopatolojik muayene, immunohistokimyasal olarak Caspas-3 analizi ve TUNEL yöntemi kullanılarak yapıldı. Ötenazi edilen ratların böbrekleri, %10' luk tamponlu formaldehit içeren plastik numune kapları içerisinde oda sıcaklığında 2-3 saat bekletildikten sonra trimlendi. Tespit olması için tamponlu formaldehit içerisinde 2 gün bekletildikten sonra dokulardan, örnekler alınarak standart doku takip kasetlerine konuldu. Kasetlenen dokular normal çeşme suyu ile 8-10 saat yıkandıktan sonra otomatik doku takip cihazında takibi yapılan dokular, parafin bloklama cihazı yardımı ile bloklandı. Elde edilen parafin bloklara rotary mikrotom kullanılarak 3 mikron kalınlığında, her bloktan 5' er seri kesit, pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu kesitlerden 1'er adet alınarak rutin hematoksilen-eozin boyama yöntemi uygulandı (75).

Preparatlar görüntüleme sistemli normal ışık mikroskopunda incelenip histopatolojik değişiklikler fotoğraflandı. İmmunohistokimyasal olarak avidin- biotin-peroksidaz kompleks (ABC) tekniği kullanılarak kaspaz-3 tespiti yapıldı ve ticari kitin prosedürü modifiye edilerek uygulandı. Bu aşamalar ise kısaca şöyledir: Ksilende parafinizasyon ve azalan dereceli alkollerde dehidrasyonu takiben endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3'lük metanoldeki hidrojen peroksit solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Daha sonra sitratlı tampon çözeltisi içerisinde mikrodalga fırında (650 W) 8 dakika kaynatıldı. Phosphate saline buffer (PBS) içerisinde 3X5 dakika yıkandıktan sonra primer antikor (kaspaz-3) uygulanıp nemli ortamda, +4 °C de 1 gece tutuldu. Yine PBS te yıkadıktan sonra sekonder antikor oda ısısında 10 dakika uygulandı.

PBS ile yıkamayı takiben diaminobenzidinetetrahydrochloride (DAB) kromojen olarak kullanıldı, karşıt boyama ise mayer hematoksilin ile yapıldı (76). Kullanılan kromojene uygun yapıştırma materyali ile lamelle kapatılan preparatlar ışık mikroskopunda incelenip fotoğraflandı. Terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated deoxyuridinetriphosphate-digoxigenin nick-end labeling (TUNEL) apoptozis tespit metodu ile böbrek dokusunda apoptozisin varlığı ve derecesi araştırıldı. Metod uygulanırken kitin standart prosedürüne uyuldu. Pozitif şarjlı lama alınmış kesitler ksilende parafinizasyon ve azalan dereceli alkollerde dehidrasyonu takiben PBS ile 5 dakika yıkandı. Sitratlı tampon çözeltisi içerisinde mikrodalga fırında 5 dakika kaynatıldıktan sonra %3'lük metanoldeki hidrojen peroksit solüsyonunda 10 dakika bekletildi. PBS te 3X5 dakika yıkanmayı takiben equilibration tampon solüsyonü kesitlere damlatılarak üzerleri plastik lamel ile kapatılarak inkube edildi. Süre sonunda plastik lameller uzaklaştırıldı ve terminal deoxy nucleotidyl transferase (Tdt) enzimi kesitlere damlatılarak 1 saat, 37 derecede, nemli ortamda inkubasyona bırakıldı. Süre bitiminde reaksiyon durdurma tampon solüsyonunda kesitler 10 dakika yıkandı.

Sonrasında anti-digoxi genin konjugatı ile 30 dakika oda ısısında plastik lamel kapatılarak bekletildi. PBS solüsyonunda 3X5 dakika yıkandıktan sonra diaminobenzidinetetrahydrochloride (DAB) kromojen olarak, karşıt boya olarak Gill's hematoksilin kullanıldı.

İncelenen preparatlarda apoptotik değişiklikler incelenerek görüntü analiz sistemli ışık mikroskopunda fotoğraflandı. Dokular tubüler epitelyal değişiklikler (dilatasyon, desquamasyon, vakuolizasyon, nekroz, atrofi, silendir), interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem ve glomerüler değişiklikler açısından

değerlendirildi. Tüm histopatolojik parametreler Tablo' 1 de görüldüğü gibi derecelendirildi.

Tablo 1. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik bulgular	Derece
Değişiklik izlenmedi	-
Hafif dejeneratif değişiklikler, tek hücre nekrozu, az sayıda dilatasyon, silendir, inflamatuvar infiltrasyon ve ödem	+
Orta derecede değişiklikler	++
Ciddi derecede etkilenme	+++

4.2.7. İstatiksel analizler

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows 21 programı ile yapıldı. Tüm değerlendirmelerde non-parametrik testler kullanıldı. Veriler Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. İki grubu karşılaştırmak için Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi ve $p < 0,05$ değerleri istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Ratların böbrek ağırlıklarının randomize edilmesi

Ratların dekapitasyon sonrası alınan böbrekleri sağ ve sol olmak üzere tartıldı. Ratların son ağırlıkları ile böbrek ağırlıkları randomize edilerek böbreklerde ağırlık farklılığının anlamlı olup olmadığı istatistiksel olarak incelendi. Oluşan nefrotoksisitenin makroskopik olarak böbrek ağırlıklarına anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edildi.

Tablo 2. Rat böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması

	Kontrol	Vankomisin	Daptomisin	P: İstatistiki önem
Sağ böbrek (mg)	0.37 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.187
Sol böbrek (mg)	0.36 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.527

***Değerler Ortalama ± Standart hata olarak verildi. Karşılaştırmalar p < 0.05 anlamlı olacak şekilde değerlendirildi.

5.2. Biyokimyasal parametreler

5.2.1. Böbrek dokusu MDA, GSH, CAT ve NAG düzeyleri

Doku üzerinde yapılan analizler sonucu MDA ve NAG seviyelerinde anlamlı bir fark tespit edilememiş olmasına rağmen GSH ve CAT seviyeleri arasında açık bir şekilde fark tespit edildi. Tablo 3’ de verilen istatistiki bulgularımıza göre GSH ve CAT seviyelerinin daptomisin alan grupta diğer gruplara nazaran anlamlı bir farklılık gösterdiği görüldü. Glutasyon düzeyi daptomisinde 130.97 ± 3.50 nmol/g olarak vankomisinde ise 122.59 ± 3.90 nmol/g belirlenmesine karşın kontrol grubunda 108.10 ± 3.61 nmol/g olarak tespit edildi. Yani daptomisin ve vankomisinin GSH düzeylerindeki artışı kontrol grubundan fazla olarak görüldü ancak daptomisin ve vankomisin grupları arasındaki GSH düzeyinde anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Araştırmaya alınan hayvanların böbrek dokusu CAT aktivitelerine ait sonuçlar karşılaştırıldığında daptomisinde 254.34 ± 13.66 k/g protein, vankomisinde $212.56 \pm$

4.43 k/g protein, kontrol grubunda ise 209.35 ± 4.62 olarak bulundu. CAT aktivitesindeki artışın daptomisin alan grupta diğer gruplara göre daha yüksek olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı seviyede olduğu tespit edildi. Vankomisin ve kontrol grubu arasında ise CAT aktivitesindeki artışın anlamlı bir farklılık göstermediği gözlemlendi.

Tablo 3. Nefrotoksisitenin böbrek dokusundaki parametrelere etkisi

	Kontrol	Vankomisin	Daptomisin	P: İstatistiki önem
MDA(nmol/ml)	31.41 ± 3.30	38.35 ± 2.40	32.27 ± 1.99	0.154
GSH (nmol/g)	108.10 ± 3.61^b	122.59 ± 3.90^a	130.97 ± 3.50^a	0.001
CAT (k/g protein)	209.35 ± 4.62^b	212.56 ± 4.43^b	254.34 ± 13.66^a	0.003
NAG (U/L)	23.46 ± 1.45	23.63 ± 3.08	19.25 ± 2.34	0.359

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

5.2.2. Plazmada Kreatinin, Üre ve BUN düzeyleri

Plazma kreatinin, üre ve BUN değerleri Tablo 4’ de verilmiştir. Plazma kreatinin seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Üre ve BUN değerleri anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0.05$). Vankomisin alan gruptaki artış hem üre hem de BUN değerleri için kontrol ve daptomisin alan gruplardan yüksek iken kontrol grubu ve vankomisin grubu arasında üre ve BUN düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı olarak görülmedi.

Tablo 4. Nefrotoksisitenin plazmadaki parametrelere etkisi

	Kontrol	Vankomisin	Daptomisin	P: İstatistiki önem
Plazma CR (mg/dL)	0.26 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.299
Üre (mg/dL)	39 ± 1.21^b	51 ± 1.94^a	42.14 ± 2.94^b	0.003
BUN (mg/dL)	18.21 ± 0.57^b	23.82 ± 0.91^a	19.68 ± 1.37^b	0.003

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

5.2.3. İdrarda kreatinin ve kreatinin klirensi düzeyleri

İdrar örneklerinden elde edilen verilere göre idrarda tespit edilen kreatin seviyeleri arasındaki fark anlamlı olarak bulundu. Tablo 5’de sunulan veriler ışığında idrar kreatin seviyesi kontrol grubundaki denekler için vankomisin ve daptomisin alan gruba göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit edildi ($p < 0.05$). Vankomisin ve daptomisin alan denekler arasında ise idrar kreatin düzeyleri arasında fark istatistiki anlamda önemsiz olarak değerlendirildi. Kreatinin klirensleri ise kontrol grubunda 5.18 ± 1.10 ml/dk, vankomisin grubunda 2.57 ± 0.41 ml/dk ve daptomisin grubunda 1.30 ± 0.18 ml/dk olarak bulundu.

Kreatinin klirensi de idrar kreatininde olduğu gibi kontrol grubundaki denekler için vankomisin ve daptomisin alan gruba göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit edildi. Vankomisin ve daptomisin grupları arasında ise kreatinin klirensleri açısından anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Tablo 5. Nefrotoksisitenin kreatinin ve kreatinin klirensi düzeylerine etkisi

	Kontrol	Vankomisin	Daptomisin	P: İstatistiki önem
İdrar CR (mg/dL)	115.06 ± 15.63^a	66.14 ± 8.89^b	48.76 ± 4.74^b	0.001
CR Klirensi(ml/dk)	5.18 ± 1.10^a	2.57 ± 0.41^b	1.30 ± 0.18^b	0.003

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

5.2.4. Histopatolojik veriler

Makroskopik bulgular: Ötenazi edilen kontrol ve deney grubu ratlarda böbreklerin incelenmesi sonucu makroskopik bir değişim gözlenmedi.

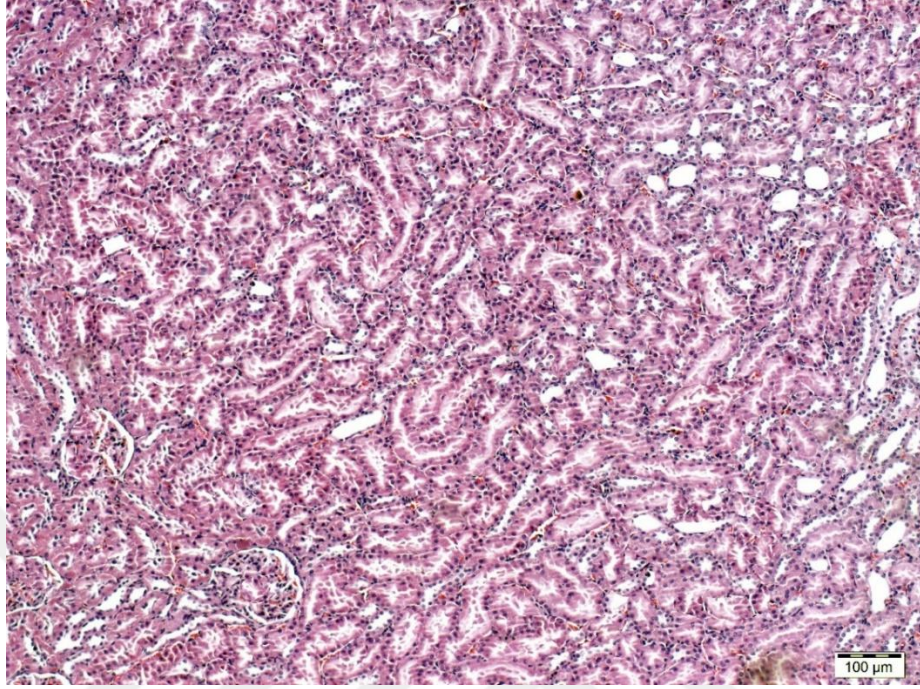
Mikroskopik bulgular: Kontrol grubu olarak alınan ve serum fizyolojik uygulanan ratlara ait böbrek doku kesitlerinin histolojik incelemesinde, bu organa ait histolojik yapılar dışında bir bulgu saptanmadı (Resim1). Vankomisin uygulanan grupta belirgin yapısal değişiklikler, tübüler epitelyal nekroz, dejenerasyon, vakuolizasyon, dilatasyon, hiyalin silindirleri, interstisyel hemoraji ve interstisyel hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 2-3-5). Daptomisin uygulanan grupta da benzer mikroskopik lezyonlar çok daha hafif düzeyde tespit edildi (Resim 3-6). Histopatolojik değişiklikler Tablo 5’ de gösterildiği şekilde karşılaştırıldı.

Tablo 5. Histopatolojik değişiklikler

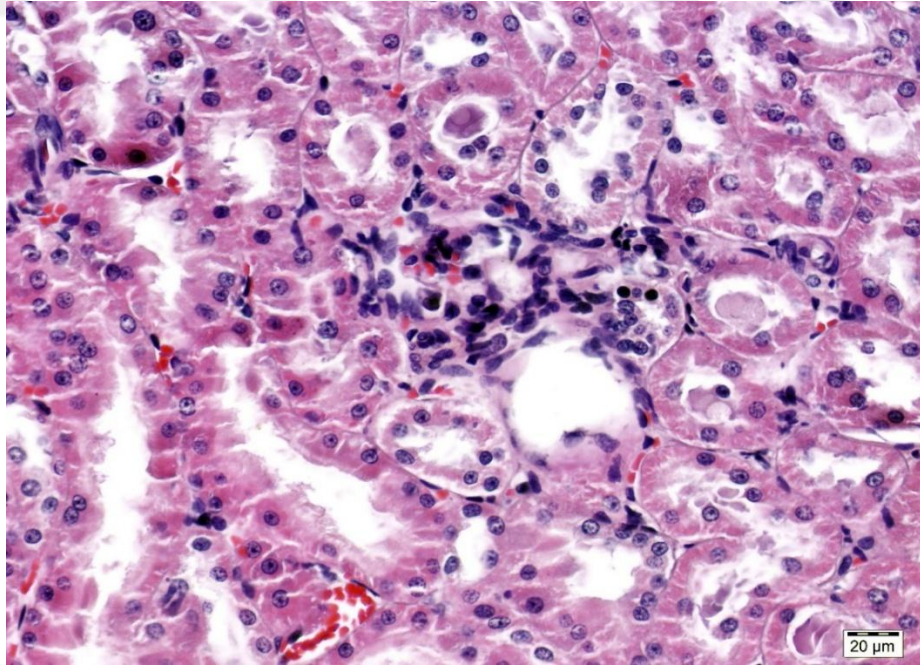
Histopatolojik parametreler	Kontrol grubu	Vankomisin grubu	Daptomisin grubu
Tübüler nekroz	-	+++	++
Tübüler dilatasyon	-	+	-
Tübüler epitelyal desquamasyon	-	+++	++
Tübüler vakuolizasyon	-	+	-
Tübüler silendir	-	++	+
İnterstisyel inflamasyon	-	++	+
İnterstisyel hemoraji	-	+	-

İmmunohistokimyasal incelemeler: Apoptotik değişikliklerin önemli indikatörü olan Caspas 3 pozitifliği incelendiğinde, vankomisin grubunda kuvvetli stoplazmik tübuler pozitiflik tespit edilirken daptomisin grubunda hafif pozitiflik durumu tespit edildi (Resim 3-5). TUNEL pozitifliğinin araştırılmasında ise vankomisin grubu hayvanlara ait böbreklerde apoptotik çekirdeklerin koyu kahve renkte

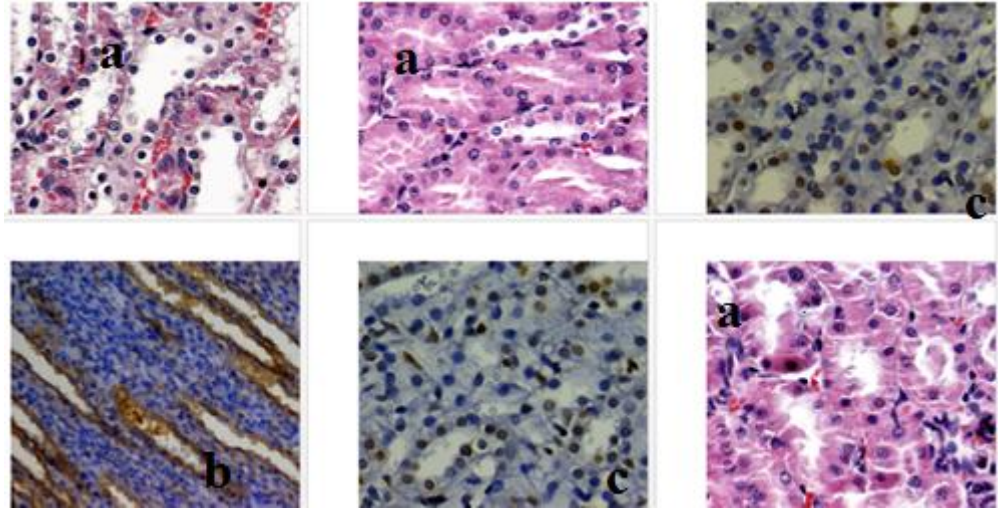
boyanması ile dikkat çekti. Daptomisin grubunda ise tubulus epitel hücrelerinde tünel pozitif hücre sayısı daha az olarak izlendi (Resim 4).



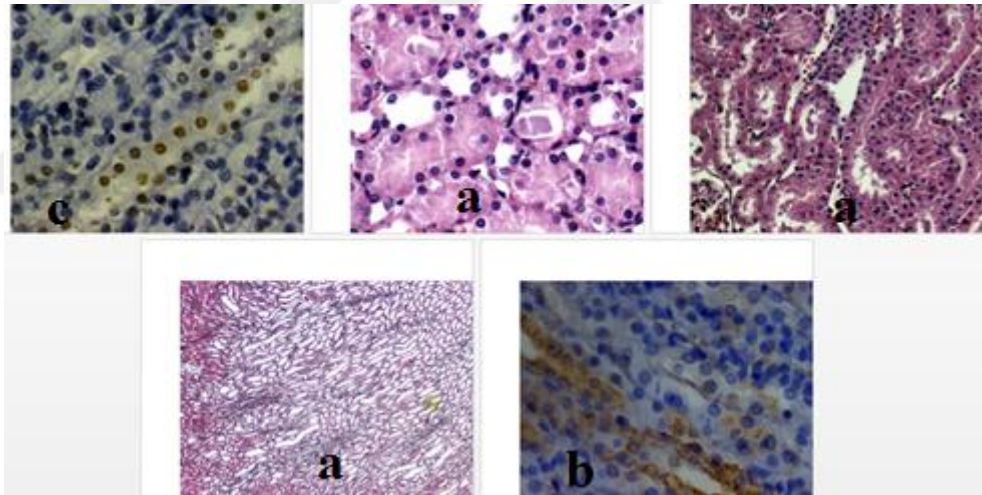
Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu



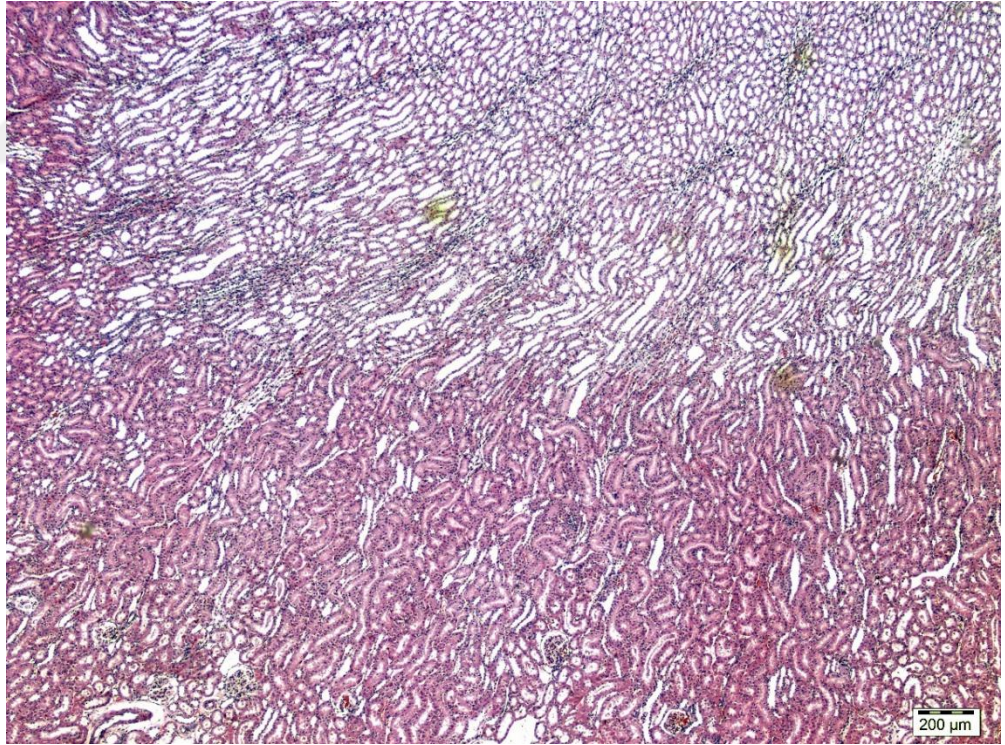
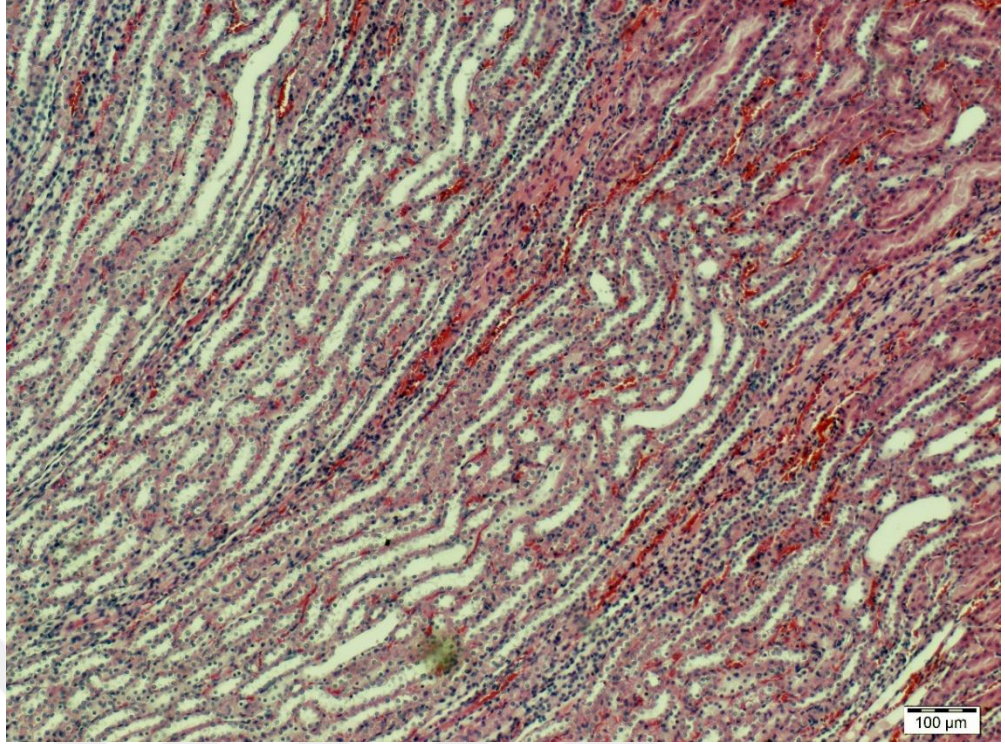
Resim 2. Vankomisin grubu böbrek dokusu (İnterstisyel alanda yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu ve tübüler nekroz görülmekte (HE, 20X)



Resim 3. Vankomisin grubu böbrek dokusunda hematoksilin eozin(a), Caspas 3(b) ve tünel pozitifliği(c) (Tübüllerde dilatasyon, proksimal tübüllerde vakuolizasyon, hyalin silindir yapıları ve tübüler nekroz görülmekte, interstisyel alanda hemoraji mevcut.)



Resim 4. Daptomisin grubu böbrek dokusunda hematoksilin eozin(a), Caspas 3(b) ve tünel pozitifliği(c) (Tübüllerde nekrotik hücreler, hyalin silindirler ve interstisyel inflamasyon görülüyor, hemoraji yok)



Resim 5-6. Vankomisin grubu(üst) daptomisin grubu (alt) farklılıkları (HE)

6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), dünya genelinde sağlık ve toplumla ilişkili enfeksiyonların başlıca nedenidir. MRSA enfeksiyonlarının yalnızca Avrupa Birliği'nde (AB) 150.000'den fazla hastayı etkilediği ve bu nedenle AB sağlık sistemi için 380 milyon avroluk ek hastane masrafına neden olduğu tahmin edilmektedir. Pan-Avrupa gözetim verilerine göre, kan dolaşımı enfeksiyonları üzerine olan çalışmada metisiline dirençli *S. aureus* oranı AB üyesi ülkeler arasında % 1 ila % 50 arasında belirgin bir değişkenlik göstermektedir. 2005-2010 yılları arasında yüksek oranda endemik MRSA enfeksiyonu oranı olan 10 AB ülkesinde MRSA bakteriyemi oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak Avrupa Birliği yeni üye devletlerdeki yeni MRSA suşları ortaya çıkmasıyla alınması gereken korucuyucu ve tedavi edici önlemler için klavuzlar yayınlanmaya başlanmış ve bu konuda verilen eğitimin artırılması planlanmıştır (77). Pek çok örnek, MRSA'nın sağlık hizmeti ortamlarındaki yaygınlığının hedeflenen enfeksiyon kontrol önlemleri ile azaltılabileceğini göstermiştir. Kock ve ark. (78) 2000 ve 2012 yılları arasında yayınlanan 83 çalışmayı inceleyerek sistematik literatür analizi ile, aktif gözetim için bakteri kültürlerinin hızlı tarama testlerinin faydasının yanı sıra dekolonizasyon terapileri ve farklı izolasyon önlemleri kullanımının kanıtlarını özetlemeyi. Genel olarak, bu gözden geçirme, koruyucu müdahalelerin uygulanmasını planlarken, MRSA yaygınlığını, enfeksiyon insidansını, standart kontrol önlemlerinin (örn. El hijyeni) rekabet etmesi ve ilgili hastalarda bulaşma ihtimalini dikkate almaya ihtiyaç olduğunu vurgulamıştır.

Tablo 6. Çok merkezli 83 çalışmanın incelenmesiyle ortaya konulan veriler

Estimates of mortality of MRSA bacteraemia compared with MSSA bacteraemia from studies published between 2001 and 2009*

Type, place and period of study	Number of patients with <i>S. aureus</i> infection (% of MRSA cases)	Percentage mortality in MRSA patients	Percentage mortality in MSSA patients	Odds ratio/hazard ratio for MRSA-associated mortality (95% CI)	Reference
Single-centre, university hospital, Taiwan, 1990–2004	1,148 (74)	50% ^a	28% ^a	1.78 (1.3–2.44)	Wang <i>et al.</i> [12]
Single-centre, university hospital, Belgium, 1992–1998	85 (44.7)	64% ^b	24% ^b	1.93 (1.18–3.18)	Blot <i>et al.</i> [13]
Single-centre, teaching hospital, UK, 1995–2000	815 (46.9)	12% ^c	5% ^c	1.72 (0.92–3.20)	Melzer <i>et al.</i> [14]
Veterans affairs healthcare system, USA, 1995–2003	438 (44)	34% ^d	20% ^d	1.8 (1.2–3.0)	Shurland <i>et al.</i> [15]
Single-centre, university hospital, USA, 1996–2001	143 (38)	35% ^d	12% ^d	5.4 (1.5–18.7)	Reed SD <i>et al.</i> [16]
Single-centre, university hospital, France, 1997–1998	99 (30)	43% ^e	20% ^e	2.97 (1.12–7.88)	Talon <i>et al.</i> [17]
Single-centre, tertiary–care teaching hospital, USA, 1997–2000	348 (28)	23% ^f	20% ^f	1.2 (0.68–2.12)	Cosgrove SE <i>et al.</i> [18]
Multi-centre, Germany, 1997–2002	378 (25.1)	17% ^g	6% ^g	3.84 (1.51–10.2)	Gastmeier <i>et al.</i> [19]
Two centres, teaching hospital UK, 1997–2004	461 (50)	34% ^h	27% ^h	1.49 (0.99–2.26)	Wyllie <i>et al.</i> [8]
Single-centre, teaching hospital, USA, 1999–2001	353 (48)	31% ^h	15% ^h	1.4 (0.7–3.0)	Lodise <i>et al.</i> [20]
Single-centre, teaching hospital, Brazil, 2000–2001	111 (55)	55% ^h	25% ^h	2.52 (0.96–6.6)	Guilarte <i>et al.</i> [21]
Single-centre, university hospital, Taiwan, 2001–2006	215 (14)	10% ^h	13% ^h	0.73 (0.21–2.60)	Wang <i>et al.</i> [22]
Single-centre, university hospital, Belgium, 2002–2004	154 (43)	42% ⁱ	24% ⁱ	3.04 (1.15–8.04)	Libert <i>et al.</i> [23]
Single-centre, university hospital, Germany, 2002–2007	521 (13)	42% ^j	19% ^j	2.6 (1.4–4.9)	Rieg <i>et al.</i> [24]
Single-centre, tertiary care, USA, 2004–2005	68 (53)	47% ^k	19% ^k	5.1 (1.1–22.9)	Malani <i>et al.</i> [25]

CI: confidence interval; MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA: methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; UK: United Kingdom; USA: United States of America.

^a Thirty-day mortality.

^b Mortality at the end of hospital stay.

^c Time frame of mortality not provided.

^d Ninety-day/12-week mortality.

^e Fourteen-day mortality.

^f Seven-day mortality.

^g Bloodstream infection-related mortality.

^h Six-month mortality.

Köck R. Euro Surveill 2010; 25(41)

Bununla beraber ciddi cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları da (SSTI'ler) son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Bu vakaların büyük bir kısmı MRSA kaynaklı vakalara karışmaktadır. MRSA sıklıkla deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının gelişiminde de rol oynamakta ve morbidite, mortalite ve genel sağlık masraflarında önemli artışlara neden olmaktadır (79). SSTI'lerin yönetimi için çok sayıda uzman görüşü, kılavuzu ve önerileri 2010'dan bu yana yayınlanmaktadır. Montravers ve ark.'larının (80) yaptığı bir çalışmada SSTI'lerin yönetimi için toplam altı resmi yayın incelenerek karşılaştırılmış ve tavsiyelerde bulunulmuştur. Reçete yazanlar, ampirik antibiyotik tedavisine, hastanın başlangıç şiddetini, enfeksiyonun derecesini ve esasen sağlıkla ilişkili koşullarla ilişkili dirençli mikroorganizmalar için risk faktörlerini göz önüne alarak pragmatik bir yaklaşımın seçilmesi önerilen bu çalışmada klavuzların uygulanabilirliği tartışmaya açıktır.

Tablo 7. MRSA için alternatif antibiyotikler ve etkinlikleri

MRSA DYDİ Tedavi; IDSA Önerileri

Antibiyotik	Veriliş yolu			Öneriler
	PO	IM	IV	
Vankomisin			+	Penisilin alerjisi olan hastalarda, MRSA kaynaklı infeksiyonların tedavisinde seçilecek parenteral ilaç
Linezolid	+		+	Bakteriyostatik, sınırlı klinik deneyim; diğer antibiyotik sınıflarıyla çapraz direnç yok ; pahalı
Daptomisin			+	Bakterisidal, olası miyopati
Seftarolin			+	Bakterisidal ,klinik deneyim sınırlı
Klindamisin	+		+	Bakteriyostatik, indüklenebilir klindamisin direncinin olup olmadığı bilinmelidir,
Doksisiklin, minosiklin	+			Bakteriyostatik, klinik deneyim sınırlı
Trimetoprim-sulfametoksazol	+		+	Bakterisidal, klinik deneyim sınırlı

Telavansin

IDSA Practice Guidelines for SSTIs • CID 2014:59

Birçoğu retrospektif olan tek merkezli ve daha çok MRSA enfeksiyonu olan hasta bireylerde yapılmış çalışmalarda yüksek vankomisinin MİK değeri klinik yanıtla ilintili bulunmuş ve MİK değerinin 2 mg / L altında L olması tedavinin başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir (81-83).

Tablo 8. Yıllara göre MRSA ve DYDİ tedavisi için tavsiye edilen antibiyotiklerin değerlendirilmesi

Vankomisin, tüm dünyada MRSA infeksiyonlarında halen en çok kullanılan antibiyotiktir.

Table 4. Antimicrobial therapy recommended for methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> skin and soft tissues infections						
	BSAC 2009 [8]	SIS 2009 [3]	GISIG 2010 [9]	ISID/ISC 2011 [4]	IDSA 2011 [10]	SEQ 2013 [11]
Vancomycin			A	A-1	A-1	+
Teicoplanin			A	A-1		+
Glycopeptides	A-1					
Daptomycin	A-1		C	A-1	A-1	+
Telavancin					A-1	
Linezolid	A-1	C-1	D	A-1	A-1	+
Clindamycin		C-1			A2/A3	
Erythromycin		C-1				
Tigecycline	B-1		B	A-1		

Strength of recommendation: A, good evidence; B, moderate evidence; C, poor evidence. Quality of evidence: 1, at least one randomized controlled trial; 2, at least one nonrandomized trial; 3, expert's opinion. No strength of recommendation was given for the SEQ 2013 guidelines. The drugs proposed in this article are indicated by '+'. BSAC, British Society of Antimicrobial Chemotherapy; GISIG, Gruppo Italiano di Studio Infezioni Gravi; IDSA, Infectious Diseases Society of America; ISID/ISC, Italian Society of Infectious Diseases/International Society of Chemotherapy; SEQ, Sociedad Española de Quimioterapia; SIS, Surgical Infection Society.

Montravers P ve ark. Curr Opin Infect Dis 2016, 29:131–138

Brink AJ. Curr Opin Crit Care 2012;18:451–459.

2017 yılının ekim ayında Katayama ve ark.'larının (84) yaptığı Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*'da Yavaş Büyüme Vankomisin Duyarlılığının Yaygınlığı başlıklı yayında daha önce rapor edilen VISA'nın yeni bir fenotipi, yani "yavaş VISA" rapor edilmiş, kolonileri ancak 72 saat inkübasyondan sonra ortaya çıktığı görülmüştür. Yavaş VISA suşlarının algılanması zor olmasının nedeni, uzun inkübasyon gerektirmesi ve fenotip olarak dengesiz olmasındandır. Pürin / pirimidin sentezi, hücre metabolizması ve hücre duvarı peptidoglikan sentezi gibi katı yanıtta rol alan çeşitli yollardaki genlerde tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP'ler) tespit eden Katayama ve ark. mupirosinin, vankomisin direncinin istikrarlı ekspresyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak, yavaş-VISA suşlarının 0.032 ug / ml mupirosin (Yuki Katayama, 7 Mart 2017, patent başvurusu PCT / JP2017 /

008975) kullanılarak tespiti için bir yöntem geliştirmiş ve bu metodu kullanarak klinik metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatları arasında 53 (% 15.6) yavaş VISA izolatu tespit edebilmiştir. Aksine, VISA fenotipi izolatların % 1'den azında yavaş VISA izolatu tespit edilmiştir. Derin sekans analizi, yavaş VISA klonlarının hVISA izolatları arasında az sayıda ve vankomisin varlığında çoğaldığını gösterdiğinden bu yavaş VISA alt popülasyonu kısmen MRSA enfeksiyonunun tekrarlanması ve kalıcılığından sorumlu olabileceği neticesine ulaşmışlardır.

2016 yılında yayınlanan Seaton ve ark.'nın (85) 2004 - 2012 yılları arasında Amerika, Avrupa, Latin Amerika ve Asya'da Gram (+) enfeksiyonu olan hastalarda daptomisin tedavisinin klinik sonuçlarını analiz eden iki büyük çalışması, geniş coğrafi bölgelerde dirençli patojenlerden kaynaklananlar da dahil olmak üzere çeşitli Gram-pozitif enfeksiyonların tedavisinde daptomisinin etkili ve güvenilir olduğunu gösterdi. Hastaların bir alt kümesi için (CORE: osteomyelit ve ortopedik yabancı cisim aleti enfeksiyonu; AB-CORE: endokardit, intrakardiak / intravasküler cihaz enfeksiyonu, osteomyelit ve ortopedik cihaz enfeksiyonu) tedavi sonrasındaki takip verileri toplanarak yapılan çalışmada daptomisin ile tedavi edilen 11.557 hastada (CORE, 5482; AB-CORE, 6075) en sık tedavi edilen primer enfeksiyonlar, komplike cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu (kistik fibrozis% 31.2) ve bakteriyemi (% 21.8) oldu. Klinik başarı oranı% 77.2 (komplikasyonsuz SSTI,% 88.3, cSSTI,% 81.0, osteomyelit,% 77.7, yabancı vücut / protez enfeksiyonu (FBPI),% 75.9, endokardit% 75.4 ve bakteriyemi% 69.5 idi. Klinik başarı oranı *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlu hastalarda% 79.1 (MRSA,% 78.1) idi. Zamanla yüksek doz daptomisin (> 6 mg / kg / gün) reçete paterninde artan bir eğilim gözlemlendi. Endokardit ve FBPI için yüksek doz daptomisin tedavisi ile klinik başarı oranları daha yüksek olduğu

görülen çalışmada daptomisin tedavisine bağlı advers olaylar (AE) ve ciddi AE'ler sırasıyla 628 (% 5.4) ve 133 (% 1.2) hastada rapor edilmiştir. Az sayıdaki yan etkilerin geçici kreatin fosfokinaz yüksekliklerinden kaynaklanması da daptomisin tedavisinin etkili ve güvenilir olduğunu gösterdi (85).

Daptomisin, geniş bir Gram-pozitif patojen spektrumuna karşı in vitro olarak hızlı konsantrasyona bağlı bakterisidal aktivite sergileyen bir siklik lipopeptid olmasıyla 70'den fazla ülkede ve bölgede cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarını tedavi etmek için onaylanmıştır. Daptomisin'in karmaşık SSTI'ler için uzun zamandan beri standart tedavi olarak kabul edilen vankomisin ile diğer antibiyotikler arasındaki güvenlilik ve etkililiğini karşılaştırmak amacıyla Wang ve ark.'larının (86) randomize kontrollü çalışmaların meta analizi şeklinde yaptıkları çalışmada PubMed, EMBASE, Cochrane Central veri tabanlarını tarayarak toplamda 1710 hasta bulunan 6 çalışma incelenmiştir. Bu meta-analiz, daptomisinin güvenirliliği ve etkinliğinin, diğer birinci basamak ilaçlarından daha düşük olmadığını ve vankomisin veya SA enfeksiyonları için karşılaştırmacılarla karşılaştırıldığında üstün etkinlik sergilediğini göstermiştir. Bununla birlikte, daptomisin, diğer antibiyotiklerle kıyasla benzer bir tedavi ile ilişkili advers etki (AE) insidansına sahip olma eğilimi görülmüştür. Bu eğilim daptomisinin, diğer birinci basamak antibiyotiklere kıyasla AE ve ölüm nedeniyle daha az kesilmesine neden olabileceğini göstermiştir. Daptomisin grubundaki hastaların çoğunda, kreatin fosfokinaz yükselmesi kontrol grubuna göre daha fazla olmuş ancak tedavi sona erdiğinde tersine çevrilebilmiştir (86).

Antibiyotik kullanımındaki artış ve bu artışa bağlı gelişen direnç nedeniyle yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi kaçınılmaz hale gelmektedir. Ancak bilinçsiz uygulama akıllı patojenlerin artmasına ve üremesine neden olup mortalite ve morbidite

oranının yükseltmektedir. Uygulanan antibiyotiklerin majör organlara verdiği hasarın büyüklüğü değişiklik gösterse de yarar/zarar oranı dikkate alınarak tedavilerin gerçekleştirilmesi önem taşımaktadır. Yoğun bakım ünitelerinin de artmasıyla oluşan nozokomiyal enfeksiyonlar, antibiyotik kullanımı ve antibiyotik çeşitliliğin artmasıyla azalacağı yerde antibiyotik direnç ve duyarlılığının artması nedeniyle pik yapmıştır. Yaptığımız deneysel çalışmada oldukça tecrübeli (1950'den beri) ve hala vazgeçilemeyen bir antibiyotik olan vankomisin ile 2010'da ülkemizde kullanımı başlayan daptomisin kullanımına bağlı gelişen nefrotoksisitenin derecesini, biyokimyasal ve oksidatif parametrelerini inceleyip (MDA, CAT, GSH, NAG, BUN, üre, kreatinin, kreatinin klirensi) ek olarak histopatolojik olarak değerlendirerek karşılaştırdık.

Işık mikroskobu altında böbrek morfolojisini yakından incelediğimizde elde edilen veriler yapılan çalışmalarla paralellik gösterdi. Hodoshima ve ark.'nın (87) yaptıkları bir çalışmada uygulanan vankomisin tedavisi sonrası tubuler dilatasyon, nekroz ve dejenerasyon görülmüştür. Yaptığımız çalışmada da vankomisin grubunda interstisyel infiltrasyon, hemoraji, tubüler epitelyal hücre deskuamasyonu ve nekroz izlendi ve değerlendirildi. Bu bulgular vankomisin kullanımının kortikal tubüler hücrelerin ağır hasarına neden olduğunu göstermektedir. Vankomisinin yüksek oranda böbrekler tarafından tutulumunun verdiği patolojik olarak belirgindir.

Bir başka çalışmada ise vankomisinle beraber bir antioksidan madde (hekzametilendiamin ile konjuge SOD) uygulaması gerçekleştirmiş BUN ve kreatinin düzeylerinde anlamlı düzelmeler tespit edilmiş ve histopatolojik bulgularla düzelmenin morfolojik seviyesini göstermişlerdir (88).

Vankomisin uygulaması sonucu serbest radikallerin oluşturduğu hasar doğrudan olabileği gibi dolaylı olarak da oluşabilmektedir. Vankomisin hücrel ATP seviyesini arttırıp oksijen tüketiminin uyarılmasını sağlar ve oksidatif fosforilasyonu arttırır. Bu şekilde serbest radikallerin üretimi artmış olur (89). Vankomisin ile indüklenen nefrotoksisitenin giderilmesine yönelik antioksidan uygulamaların yapıldığı bir çalışmada ginkgo biloba, alfa-lipoik asit ve melatoninin serbest oksijen radikallerinin inhibisyonunu sağlayarak böbrekte koruyucu etkilerini gösterilmiştir (90).

Çalışmamızda, vankomisin ve daptomisin uygulanan ratların böbrek dokusundaki antioksidan enzim düzeyleri GSH ve CAT aktivitelerinde artış, oksidatif stres göstergesi olarak saptanmıştır. MDA ve NAG düzeylerinde anlamlı bir farklılık tespit edilememesine rağmen BUN, üre, kreaatin ve kreatinin klirensi seviyeleri böbrek hasarının seviyesini destekler nitelikte bulunmuştur. Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde vankomisin uygulanan ratlarda nefrotoksisite seviyesi daptomisene oranla yüksek olarak tespit edildi. Vankomisin grubunda yoğun karşılaşılan nekroz daptomisinde çok daha az olarak tespit edildi. Oksidatif stres parametreleri istatistiksel olarak incelendiğinde, daptomisin ve vankomisinin GSH düzeylerindeki artışı kontrol grubundan fazla olarak görüldü ancak daptomisin ve vankomisin grupları arasındaki GSH düzeyinde anlamlı bir fark tespit edilmedi. CAT aktivitesindeki artışın daptomisin alan grupta diğer gruplara göre daha yüksek olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı seviyede olduğu tespit edildi. Vankomisin ve kontrol grubu arasında ise CAT aktivitesindeki artışın anlamlı bir farklılık göstermediği gözlemlendi.

Sonuç olarak böbrek nefrotoksisitesi, vankomisin alan grupta daptomisin alan grubu göre daha çok gözlenmiştir. Ancak vankomisin tedavideki etkinliği yadsınamaz ölçüde değerlidir. Maliyet ve etkinlik açısından incelendiğinde vankomisinin uzun vadede kullanılmaya devam edileceği gerçeği daptomisinin daha az yan etki ve daha az direnç oluşumu gerçeğiyle uzun yıllar mücadele edeceğini göstermektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Pazhayattil GS, Shirali AC. Drug-induced impairment of renal function. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014 Dec 12; 7: 457-68.
2. Ammerlaan H, Seifert H, Harbarth S, Brun-Buisson C, Torres A, Antonelli M, Kluytmans J, Bonten M; European Practices of Infections with Staphylococcus aureus (SEPIA) Study Group. Adequacy of antimicrobial treatment and outcome of Staphylococcus aureus bacteremia in 9 Western European countries. *Clin Infect Dis.* 2009 Oct 1; 49(7): 997-1005.
3. Segreti J. Empirical therapy for serious Gram-positive infections: making the right choice. *Clin Microbiol Infect.* 2009 Dec; 15 Suppl 6: 5-10.
4. Virk A, Steckelberg JM. Clinical aspects of antimicrobial resistance. *Mayo Clin Proc.* 2000 Feb; 75(2): 200-14.
5. Leblanc M, Kellum JA, Gibney RT, Lieberthal W, Tumlin J, Mehta R. Risk factors for acute renal failure: inherent and modifiable risks. *Curr Opin Crit Care.* 2005 Dec; 11(6): 533-6.
6. Chow AW, Azar RM. Glycopeptides and nephrotoxicity. *Intensive Care Med.* 1994; 20 (Suppl 4): S23-S29.
7. Bozfakioğlu S, Antibiyotik Nefrotoksitesisi. *Ankem Dergisi* 2000; 14 no.3: 374-376
8. Kaloyanides GJ. Metabolic interactions between drugs and renal tubulointerstitial cells: role in nephrotoxicity. *Kidney Int* 1991; 39: 531
9. Hoste EA, Kellum JA, Katz NM, Rosner MH, Haase M, Ronco C. Epidemiology of acute kidney injury. *Contrib Nephrol.* 2010; 165: 1-8.
10. Levine, P. Vancomycin: A History. *Clin Infect Dis.* 2006 Jan 1; 42 Suppl 1: S5-12.
11. Moellering, RC. Vancomycin: A 50-year reassessment. *Clin Infect Dis.* 2006 Jan 1; 42 Suppl 1: S3-4.
12. Griffith RS. Introduction to vancomycin. *Rev Infect Dis.* 3 1981: 200-204
13. Hodoshima N, Masuda S, Inui K. Decreased Renal Accumulation and Toxicity of a New VCM Formulation in Rats with Chronic Renal Failure. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2007; 22(6): 419-427
14. Bryskier A, Veyssier P. Glycopeptides and lipoglycopeptides. In: Byskier A, ed. *Antimicrobial Agents. Antibacterials and Antifungals.* Washington, DC: ASM Press, 2005: 880-905
15. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ: *Basic & Clinical Pharmacology*, 11 th Edition 2009; 1011-1012
16. Van Bambeke F: Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives, *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4(5): 471-8.
17. Jelassie ML, Benlmouden A, Lefeuvre S, Mainardi JL and Billaud EM. Level of evidence for therapeutic drug monitoring of vancomycin. *Therapie* 2011; 66: 29-37.
18. Chambers HF. Antimicrobial agents: Protein Synthesis Inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. In: Hardman JG and Limbird LE (Eds), *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 2010, New York: McGraw-Hill, New York, USA, p. 1074-1077

19. Wilhelm MP, Lynn E. Vancomycin. Mayo Clin Proc 1999; 74: 928-35
20. Dehority W. 2010. Use of vancomycin in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 29: 462-464
21. Oudin C, Vialet R, Boulamery A, Martin C and Simon N. 2011. Vancomycin prescription in neonates and young infants: Toward a simplified dosage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 96: 365-370
22. Farber BF, Moellering RC Jr. Retrospective study of the toxicity of preparations of vancomycin from 1974 to 1981, *Antimicrob Agents Chemother.* 1983 Jan; 23(1): 138-41.
23. Rossi S, editör. Australian Medicines Handbook; 2006
24. Sivagnanam S, Deleu D. Red man syndrome. *Crit Care.* 2003 Apr; 7(2): 119-120.
25. Hicks RW and Hernandez J. Perioperative Pharmacology: A Focus on Vancomycin. *AORN J* 2011; 93: 593-599
26. Nunn MO, Corallo CE, Aubron C, Poole S, Dooley MJ and Cheng AC. 2011. Vancomycin dosing: assessment of time to therapeutic concentration and predictive accuracy of pharmacokinetic modeling software. *Ann Pharmacother* 45: 757-763
27. Eiland LS, English TM and Eiland EH. Assessment of vancomycin dosing and subsequent serum concentrations in pediatric patients. *Ann Pharmacother* 2011; 45: 582-589
28. Oktem F, Arslan MK, Ozguner F, Candir O, Yilmaz HR, Ciris M and Uz E. In vivo evidences suggesting the role of oxidative stress in pathogenesis of vancomycin-induced nephrotoxicity: protection by erdosteine. *Toxicology* 2005; 215: 227-233
29. Richter J, Zhou J, Pavlovic D, Scheibe R, Bac VH, Blumenthal J, Hung O, Murphy MF, Whynot S and Lehmann C. Vancomycin and to lesser extent tobramycin have vasomodulatory effects in experimental endotoxemia in the rat. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010; 46: 37-49.
30. Gupta A, Biyani M and Khaira A. Vancomycin nephrotoxicity: myths and facts. *Neth J Med* 2011; 69: 379-383
31. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother.* 1997 July; 40(1): 135-6.
32. Xie J, Pierce JG, James RC, Okano A, Boger DL. A redesigned vancomycin engineered for dual D-Ala-D-ala And D-Ala-D-Lac binding exhibits potent antimicrobial activity against vancomycin-resistant bacteria. *J Am Chem Soc.* 2011 Sep 7; 133(35): 13946-9
33. Pootoolal J, Neu J, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002; 42: 381-408.
34. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. *Ankem Derg.* 2003; 17; No: 3; 192-204
35. Beiras-Fernandez A, Vogt F, Sodian R, Weis F. Daptomycin: a novel lipopeptide antibiotic against Gram-positive pathogens. *Infect Drug Resist.* 2010; 3: 95-101
36. Tally FP, DeBruin MF. Development of daptomycin for gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46: 523-526

37. Kirst HA, Thompson DG, Nicas TI. Historical yearly usage of vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 1303–1304
38. Cubist Pharmaceuticals. Cubicin full prescribing information; 2006
39. Yılmaz Bozkurt G, Kutlu H, Arslan A, Memikoğlu O. Yeni Bir Antibakteriyel Ajan: DAPTOMİSİN. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2010; 63(3)
40. Hobbs JK, Miller K, O'Neill AJ, Chopra I. Consequences of daptomycin-mediated membrane damage in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Nov; 62(5): 1003-8.
41. Tedesco KL, Rybak MJ. Daptomycin. *Pharmacotherapy.* 2004 Jan; 24(1): 41-57.
41. Lee MT, Hung WC, Hsieh MH, Chen H, Chang YY, Huang HW. Molecular State of the Membrane-Active Antibiotic Daptomycin. *Biophys J.* 2017 July 11; 113(1): 82-90.
42. Panavelil TA, Wolowich WR. Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology 5th edition 2012; Unit7, chapter31; 392-393
43. Safdar N, Andes D, Craig WA. In vivo pharmacodynamic activity of daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Jan; 48(1): 63-8.
44. D'Avolio A, Pensi D, Baietto L, Pacini G, Di Perri G, De Rosa FG. Daptomycin Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Septic and Critically Ill Patients. *Drugs.* 2016 Aug; 76(12): 1161-74.
45. Matsumoto K, Kitaoka M, Kuroda Y, Ikawa K, Morikawa N, Sasaki J, Iketani O, Iwata S, Horino T, Hori S, Kizu J. Pharmacokinetics and skin-tissue penetration of daptomycin in rats. *Clin Pharmacol.* 2015 May 21; 7: 79-82.
46. Bradley JS, Benziger D, Bokesch P, Jacobs R. Single-dose pharmacokinetics of daptomycin in pediatric patients 3-24 months of age. *Pediatr Infect Dis J.* 2014 Sep; 33(9): 936-9.
47. Cojutti PG, Candoni A, Ramos-Martin V, Lazzarotto D, Zannier ME, Fanin R, Hope W, Pea F. Population pharmacokinetics and dosing considerations for the use of daptomycin in adult patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Aug 1; 72(8): 2342-2350.
48. Chakraborty A, Roy S, Loeffler J, Chaves RL. Comparison of the pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection. *J Antimicrob Chemother.* 2009 July; 64(1): 151-8.
49. Oleson FB, Berman CL, Li AP. An evaluation of the P450 inhibition and induction potential of daptomycin in primary human hepatocytes. *Chem Biol Interact.* 2004 Nov 20; 150(2): 137-47.
50. Kosmidis C, Levine DP. Daptomycin: pharmacology and clinical use. *Expert Opin Pharmacother.* 2010 Mar; 11(4): 615-25.
51. Carpenter CF, Chambers HF. Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clin Infect Dis.* 2004; 38(7): 994-1000.
52. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Lonks JR, Boyce JM. Comparative in vitro activities of daptomycin and vancomycin against resistant gram-positive pathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(2): 3447-50.
53. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. In vitro activities of daptomycin against 2,789 clinical isolates from 11 North American medical centers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(6): 1919-22.

54. Critchley IA, Blosser-Middleton RS, Jones ME, Thornsberry C, Sahm DF, Karlowsky JA. Baseline study to determine in vitro activities of daptomycin against gram-positive pathogens isolated in the United States in 2000-2001. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47(5): 1689-93.
55. Namtu KC, Crain JC, Messina AF, Dumois JA, Berman DM. Clinical Experience with Daptomycin in Pediatrics. *Pharmacotherapy*. 2017 Jan; 37(1): 105-108
56. Xu X, Khadzhynov D, Peters H, Chaves RL, Hamed K, Levi M, Corti N. Population pharmacokinetics of daptomycin in adult patients undergoing continuous renal replacement therapy. *Br J Clin Pharmacol*. 2017 Mar; 83(3): 498-509
57. Arbeit RD, Maki D, Tally FP, Campanaro E, Eisenstein BI; Daptomycin 98-01 and 99-01 Investigators. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin structure infections. *Clin Infect Dis*. 2004; 38(12): 1673-81.
58. Davis SL, McKinnon PS, Hall LM, Delgado G Jr, Rose W, Wilson RF, Rybak MJ. Daptomycin versus vancomycin for complicated skin and skin structure infections: clinical and economic outcomes. *Pharmacotherapy* 2007; 27(12): 1611-1618
59. Gold HS, Pillai SK. Antistaphylococcal agents. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Mar; 23(1): 99-131.
60. Gould IM, Cauda R, Esposito S, Gudiol F, Mazzei T, Garau J. Management of serious meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: what are the limits? *Int J Antimicrob Agents*. 2011 Mar; 37(3): 202-9.
61. Fowler VG, Boucher HW, Corey GR, Abrutyn E, Karchmer AW, Rupp ME, Levine DP, Chambers HF, Tally FP, Vigliani GA, Cabell CH, Link AS, DeMeyer I, Filler SG, Zervos M, Cook P, Parsonnet J, Bernstein JM, Price CS, Forrest GN, Fätkenheuer G, Gareca M, Rehm SJ, Brodt HR, Tice A, Cosgrove SE; S. aureus Endocarditis and Bacteremia Study Group. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *N Engl Med J* 2006; 355(7): 653-665.
62. Finney MS, Crank CW, Segreti J. Use of daptomycin to treat drug-resistant Gram positive bone and joint infections. *Curr Med Res Opin* 2005; 21(12): 1923-1926
63. Forrest GN, Donovan BJ, Lamp KC, Friedrich LV. Clinical experience with daptomycin for the treatment of patients with documented gram-positive septic arthritis. *Ann Pharmacother* 2008; 42(2): 213-217
64. Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(6): 2137-2145
65. Streit JM, Jones RN, Sader HS. Daptomycin activity and spectrum: a worldwide sample of 6737 clinical Gram positive organisms. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 669-674.
66. Graber CJ, Wong MK, Carleton HA, Perdreau-Remington F, Haller BL, Chambers HF. Intermediate Vancomycin Susceptibility in a Community associated MRSA Clone. *Emerging Infectious Diseases* 2007; 13(3): 491-493

67. Stefani S, Campanile F, Santagati M, Mezzatesta ML, Cafiso V, Pacini G. Insights and clinical perspectives of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: A review of the available evidence. *Int J Antimicrob Agents*. 2015 Sep; 46(3): 278-89.
68. Stryjewski ME, Corey GR. New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Crit Care*. 2009 Oct; 15(5): 403-12
69. Weber RE, Layer F, Klare I, Werner G, Strommenger B. Comparative evaluation of VITEK® 2 and three commercial gradient strip assays for daptomycin susceptibility testing of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2017 Aug 7. doi: 10.1093/jac/dkx255.
70. Placer ZA, Cushmann LL, and Johnson, B.C. 1966. Estimation of products of lipidperoxidation (as malondialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16: 359-364.
71. Chavan S, Sava L, Saxena V, Pillai S, Sontakke A, Ingole D. 2005. Reduced glutathione: Importance of specimen collection. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 20(1): 150-152.
72. Aebi, H. 1983. Catalase. In: H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods In Enzymatic Analysis*, Academic Press, New York: 276-286.
73. Elabscience Elisa Kit 2015. Rat NAGase ELISA Kit For Research Use Only Handbook.
74. Luna L.G; *Manuel of histologic staining methods of the armed forces inst. Of pathology*. 1968 Third ED. McGraw-HillBook Com. Newyork
75. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin–biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577–80.
76. Kock R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, Peters G, Skov RL, Struelens MJ, Tacconelli E, Navarro Torné A, Witte W, Friedrich AW. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill*. 2010 Oct 14; 15(41): 19688.
77. Kock R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, Peters G, Skov RL, Struelens MJ, Tacconelli E, Witte W, Friedrich AW. Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Euro Surveill*. 2014 Jul 24; 19(29)
78. Bassetti M, Carnelutti A, Righi E. The role of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2017 Apr; 30(2): 150-157.
79. Montravers P, Snauwaert A, Welsch C. Current guidelines and recommendations for the management of skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2016 Apr; 29(2): 131-8.
80. Sakoulas G, Moise-Broder PA, Schentag J, Forrest A, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Clin Microbiol*. 2004 Jun; 42(6): 2398-402.
81. Hidayat LK, Hsu DI, Quist R, Shriner KA, Wong-Beringer A. High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: efficacy and toxicity. *Arch Intern Med*. 2006 Oct 23; 166(19): 2138-44.

82. Lodise TP, Patel N, Lomaestro BM, Rodvold KA, Drusano GL. Relationship between initial vancomycin concentration-time profile and nephrotoxicity among hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2009 Aug 15; 49(4): 507-14.
83. Katayama Y, Azechi T, Miyazaki M, Takata T, Sekine M, Matsui H, Hanaki H, Yahara K, Sasano H, Asakura K, Takaku T, Ochiai T, Komatsu N, Chambers HF. Prevalence of Slow-Growth Vancomycin Nonsusceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Oct 24; 61(11). pii: e00452-17. Print 2017 Nov.
84. Seaton RA, Gonzalez-Ruiz A, Cleveland KO, Couch KA, Pathan R, Hamed K. Real-world daptomycin use across wide geographical regions: results from a pooled analysis of CORE and EU-CORE. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016 Mar 15; 15: 18.
85. Wang SZ, Hu JT, Zhang C, Zhou W, Chen XF, Jiang LY, Tang ZH. The safety and efficacy of daptomycin versus other antibiotics for skin and soft-tissue infections: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open*. 2014 Jun 24; 4(6): e004744.
86. Hodoshima N, Nakano Y, Izumi M, Miromi N, Nakamura Y, Aoki M, Gyobu A, Shibasaki S, Kurosawa T. Protective effect of inactive ingredients against nephrotoxicity of vancomycin hydrochloride in rats. *Drug Metab. Pharmacokin*. Feb; 19(1): 68-75, 2004.
87. Nishino Y, Takemura S, Minamiyama Y, Hirohashi K, Ogino T, Inoue M, Okada S, Kinoshita H. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells attenuates vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Free Radical Research* Apr; 37(4): 373-379, 2003.
88. King DW, Smith MA. Proliferative responses observed following vancomycin treatment in renal proximal tubule epithelial cells. *Toxicol In Vitro*. Dec; 18(6): 797-803, 2004.
89. Çelik İ, Cihangiroglu M, İlhan N, Akpolat N, Akbulut HH. Protective effects of different antioxidants and amrinone on vancomycin-induced nephrotoxicity. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology* Nov; 97(5): 325-332, 2005.

8. ÖZGEÇMİŞ

1985 Karaman doğumluyum. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 2008 yılında mezun oldum. 2,5 yıl kendi eczanemde çalıştıktan sonra 2012 de 1 yıl özel hastanede çalıştım.2013 yılı itibariyle Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesinde eczacı olarak çalışmaktayım, 1 çocuk annesiyim.

