

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ VİRÜLANS
FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

NESLİHAN CİHANOĞLU

DANIŞMAN
DOÇ. DR. YAŞAR NAKİPOĞLU

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2018

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Neslihan CİHANOĞLU tarafından Doç. Dr. Yaşar Nakipoğlu'nun danışmanlığında hazırlanan *Staphylococcus aureus* suşlarının virülans faktörlerinin araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 12/01/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı
Prof. Dr. ALİ AĞAÇFİDAN
İSTANBUL Üniversitesi,
İSTANBUL TIP Fakültesi,
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ Anabilim Dalı



Jüri-Danışman
Doç. Dr. YAŞAR NAKİPOĞLU
İSTANBUL Üniversitesi
İSTANBUL TIP Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



Jüri
Prof. Dr. TANJU KADİR
MARMARA Üniversitesi
DİŞ HEKİMLİĞİ Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Bölümü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Neslihan CİHANOĞLU



İTHAF

Babaannem Ruhiye Cihanoğlu'na ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Lisanüstü eğitimim boyunca ve tez sürecimin tüm her aşamasında bana desteğini ve teşviğini esirgemeyip sorunlarıma devamlı çözümleyici yaklaşımlar getirerek bana yol gösteren karşılık beklemezsin her zaman yanımda olduğunu bildiğim bilgi ve deneyimlerinden devamlı faydalandığım değerli hocam sayın Doç Dr. Yaşar Nakipoğlu'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca sahip olduğu engin bilgi ve tecrübeleri ile bana desteğini esirgemeyen Bakteriyoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nezahat Gürler'e ve manevi desteğini ayrıcalıklı olarak hissettiğim Prof. Dr. Betigül Öngen'e

Yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemde emeği geçen, Prof. Dr. Şengül DERBENTLİ, Prof.Dr.Arif Kaygusuz, Prof.Dr. M. Derya AYDIN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BORAL BÜYÜKBABA, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ ve Doç. Dr. Dilek ŞATANA'ya

Tez dönemimde ve sosyal hayatımda bana yol gösteren, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan Uzm. Dr Nurgül YAŞAR'a

İlgilerini hep hissettiğim, deneyimlerini paylaşan ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Bio. Öner Kipritçi, Lab. Mukaddes Ünsal ve Bil Uzm.Kutay SARSAR'a

Manevi desteğini bir an esirgemeyen, daima yanımda olan Muazzez UYAR'a

Başta Bio. Nermin Teksoy, Bio. Ayşegül Şahin AYDIN, Bilim Uzm. Ilgın KAYA olmak üzere birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, gösterdikleri ilgi ve dostlukları için minnettar olduğum tüm yüksek lisans, doktora ve uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma ve mikrobiyoloji laboratuvarının tüm çalışanlarına

Bütün hayatım boyunca her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme, sabır ve anlayışlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 58343

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER/ KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri.....	3
2.3. Üreme , Kültür Özellikleri.....	4
2.4. Hücre yapıları ve antijenik özellikleri.....	5
2.4.1. Kapsül.....	5
2.4.2. Protein A.....	5
2.4.3. Peptidoglikan Tabakası.....	6
2.4.4. Teikoik Asit.....	7
2.5. Virulans Faktörleri.....	7
2.6. Enzimler.....	8
2.6.1 Katalaz.....	9
2.6.2. Koagülaz.....	9
2.6.3. Nükleaz.....	9
2.6.4. Lipaz.....	10
2.6.5. Hiyaluronidaz.....	10
2.6.6. Stafilokinaz(Fibrinolizin).....	11
2.6.7. β -Laktamaz(Penisilinaz).....	11
2.6.8. DNAz.....	11
2.7.Toksinler.....	11
2.7.1 Ekzotoksinler.....	11
2.7.2. Epidermolit (eksfoliatif toksin).....	12
2.7.3. Enterotoksinler.....	12
2.7.4. Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1).....	12
2.8. Hemolizinler ve Lokosidinler.....	12
2.8.1. Alfa hemolizin.....	13
2.8.2. Beta hemolizin.....	13
2.8.3. Gama Hemolizin ve Panton Valentin Lökosidin (PVL).....	13
2.9. Patojenite ve Laboratuvar Tanı.....	14
2.10. <i>S.aureus</i> enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler ve direnç mekanizmaları... 1.....	19
2.10.1. Penisilin Direnci.....	19

2.10.2. Metisilin Direnci	21
2.10.3. Kinolon Direnci	22
2.10.4. Vankomisin Direnci	23
2.11. Slime Faktör	23
2.12. Fibronektin bağlayıcı protein	24
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	26
3.1. GEREÇLER	26
3.1.1. Besiyerleri	27
3.1.2. Kimyasal Maddeler, boyalar, antibiyotik diski, ve kitler	28
3.1.3. PZR malzemeleri	29
3.1.4. Bakteri suşları	31
3.2. YÖNTEMLER	31
3.2.1. Gram Boyama	31
3.2.2. Katalaz testi	31
3.2.3. Plazma Koagülaz Testi	32
3.2.4. Protein A Saptanması	32
3.2.5. Metisilin Direncinin Saptanması	32
3.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i> suşlarında virülans ve direnç genlerinin araştırılması	33
3.2.6.1. <i>Staphylococcus aureus</i> kolonilerinden kalıp DNA'nın hazırlanması	33
3.2.6.2. <i>pvl</i> genlerinin varlığının araştırılması	33
3.2.6.3. <i>mecA</i> genlerinin varlığının araştırılması	34
3.2.6.4. Fibronektin bağlayıcı protein genlerinin araştırılması	36
3.2.7. İstatiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
6. KAYNAKLAR	53
7. ETİK KURUL ONAYI	68
8. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	70
7. ÖZGEÇMİŞ	71

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. <i>Pvl</i> genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü.....	34
Tablo 2. <i>mecA</i> genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü.....	35
Tablo 3. <i>fnbA</i> genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü.....	36
Tablo 4. Çeşitli klinik örneklerinden izole edilen <i>S.aureus</i> suşların dağılımı.....	38
Tablo 5. Yara sürüntü örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.....	41
Tablo 6. Trakeal aspirat örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.....	42
Tablo 7. Doku biopsi örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.....	43
Tablo 8. Diğer klinik Örneklerinden (kan, kateter ucu, balgam, boğaz salgısı, burunun sürüntüsü, plevra sıvısı, BOS, kemik iliği ve vajinal salgısı) izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.....	44
Tablo 9. <i>S.aureus</i> suşlarında saptanan virülans faktörlerinin klinik örneğe göre dağılımı.....	45
Tablo 10. PZR ile <i>S.aureus</i> suşlarında saptanan <i>pvl</i> ve <i>fnbA</i> genlerin dağılımı.....	46

ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ

Şekil 1. β-laktam antibiyotik penisilin varlığında stafilokok β-laktamaz sentezinin indüksiyonu.....	20
Resim 1. <i>pvl</i> geninin jel görüntüsü.....	39
Resim 2. <i>mecA</i> ve <i>fnbA</i> genlerinin jel görüntüsü.....	40



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC: American Type Culture Collection

BÇ : Baz çifti

CLSI: Clinical Laboratory and Standards Institute

DDT : Disk Difüzyon Testi

ETA-ETB: Eksofoliyatif toksin A-B

Fnb: Fibronektin bağlayıcı protein

KNS: Koagülaz negatif *Staphylococcus spp.*

MHA : Mueller-Hinton Agar

MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MSSA: Metisiline hassas *Staphylococcus aureus*

PBP : Penisilin Bağlayan Protein

PVL: Panton-Valentin Lökosidin

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

S.aureus: *Staphylococcus aureus*

S.epidermidis: *Staphylococcus epidermidis*

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

YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

Staphylococcus aureus, stafilokok cinsi bakterilerin en önemli türü sayılmaktadır. Sağlıklı kişilerin %20-30'unun deri ve mukoz membranda özellikle burun boşluğunda geçici olarak kolonize olurlar. Ancak konağın savunma sistemi zayıfladığında cilt apsesi, sivilce, furunkül gibi yüzey enfeksiyonlar ve besin zehirlenmesi, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları, osteomyelit, menenjit, sepsis gibi ölümlü sonuçlanabilen ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. *S.aureus* suşlarının patojenitesinde rol oynayan bir çok virülans faktörü bulunmaktadır. *S.aureus* enfeksiyonunun ilk yapışma adımlarında yer alan fibronektin bağlama proteini (FBP) ve lökositlerin yıkımına ve doku nekrozuna yol açan Panton-Valentin Lökosidin (PVL) toksini bu virülans faktörlerinin başında gelmektedir. PVL, son yıllarda çeşitli ülkelerden bildirilen Toplum Kaynaklı metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarında önemli yeri olan virülans faktörüdür.

Çalışmamızda 29 yara sürüntüsü, 28 trakeal aspirat, 18 doku biopsisi ve 25 diğer klinik materyallerden olmak üzere izolasyonu yapılan toplam 100 adet *S.aureus* izolatında metisiline direnç, PVL ve FBP varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Metisilin direnci fenotipik disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Ayrıca genotipik yöntemi ile de polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak *mec A*, *pvl* ve *fnb A* genleri araştırılmıştır.

Çalışmamızdaki 100 *S.aureus* suşun 37 (%37.0)'si MRSA ve 63 (%63.0)'ü metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) olarak tanımlanmıştır. MSSA suşlarının 11/63 (%17,4)'inde ve MRSA suşların 26/37 (%70,3)'inde *pvl* pozitif saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca MSSA suşların 55/63 (%87,3)'ünde ve MRSA suşlarının 21/37 (%56,8)'inde *fnbA* geni saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

Çalışmamızda 13 (%13,0) *S.aureus* suşunda üç (*mecA*, *fnbA* ve *pvl*), sekiz *S.aureus* (%8.0) suşunda iki (*fnbA* ve *pvl*) ve 50 (%50,0) *S.aureus* suşunda *fnbA* veya *pvl* genleri görülmüştür. Dokuz suşta (%90.0) *fnbA* veya *pvl* genleri bulunmamıştır. Yara sürüntü örneğinin 27/29 (%93,1)'unda, doku biopsi örneğinin 16/18 (%88,9)'inde ve trakeal aspirat örneğinin 24/28 (%85,8)'inde *fnbA/pvl* görülmüştür.

Sonuç olarak, klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* suşlarımızın patojenitede çok önemli rol oynayan *fnbA* ve *pvl* ve çoklu antibiyotik direnci özelliği olan *mecA* genleri taşıdığı belirlenmiştir. Potansiyel patojen olan *S.aureus* suşların hastanelerde ve toplumda

yayılmasını önlemek için etkili bir enfeksiyon kontrol ve tedavi stratejinin uygulanması sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : *Staphylococcus aureus*, *panton valentin lökositin (PVL)*, *fibronektin bağlayıcı protein*, *metisilin*, *PZR*

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 58343



ABSTRACT

CİHANOĞLU N. MEDICAL MICROBIOLOGY, A.B. (2017). *INVESTIGATION OF VIRULENCE FACTORS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS*. ISTANBUL UNIVERSITY INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES, MEDICAL MICROBIOLOGY, DEPARTMENT OF MEDICINE MASTER'S THESIS. İSTANBUL.

Staphylococcus aureus is the most important species belonging to the genus *Staphylococcus*. It temporarily colonized in the skin and mucous membranes, especially in the nasal cavity of 20-30% of healthy people. But it can cause severe infections such as skin infection, pimples, furuncles, and food poisoning, pneumonia, urinary system infections, osteomyelitis, meningitis and sepsis in those with weak immunity. There are many virulence factors which play an important role in the pathogenicity of *S. aureus*. Among these factors are fibronectin binding protein (FBP) which takes place in the first step of adhesion, and Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) toxin which causes destruction of leucocyte and tissue necrosis. In recent years, many studies from different countries have been reported and considered PVL to be an important virulence factor in the Community Acquired methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA) infections.

In this study, we aimed to investigate methicillin resistance, PVL, and FBP of 100 *S. aureus* strains isolated from 29 wound swabs, 28 tracheal aspiration, 18 of tissue biopsy, and 25 of different clinical specimens. Methicillin resistance was phenotypically tested by disk diffusion method. Also, *mecA*, *pvl* and *fnbA* genes were genetically investigated by using of PCR method.

In the study, of 100 *S. aureus* strains 37 (37.0%) were identified as MRSA and 63 (63.0%) as methicillin susceptible *S. aureus* (MSSA) strains. Of 11/63 (17.4%) of MSSA strains and 26/37 (70.3%) of MRSA were detected to be positive for *pvl* and this difference was statistically significant ($P < 0.05$). Additionally, 55/63 (87.3%) of MSSA and 21/37 (56.8%) of MRSA strains were found to be positive for *fnbA* and this difference was also statistically significant ($P < 0.05$).

In the study, we found that 13 (13.0%) of *S. aureus* were contained three (*mecA*, *fnbA* and *pvl*), eight (8.0%) were existed two (*fnbA* and *pvl*) genes and 50 (50.0%) were shown to contain *fnbA* or *pvl* genes. Nine strains (9.0%) were not positive for any of virulence factor.

Also, 27/29 (93,1%) of wound swabs, 16/18 (88,9 %) of tissue biopsy, and 24/28 (85,8%) of tracheal aspiration fluid were positive for *fnbA/pvl*.

As conclusion, we determined that our *S.aureus* strains carried *pvl* and *fnbA* which associated with pathogenicity and *mecA* which displaying multiple antibiotic resistance features. Applying of an active strategy for control and treatment of infections are necessary for prevention spread of potential *S.aureus* pathogens

Key words: *Staphylococcus aureus*, *panton valentine leukocidin (PVL)*, *fibronectin binding protein*, *methicillin*, *PCR*



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Staphylococcus aureus, en çok tespit edilen bakteriyel kaynaklı enfeksiyon sebeplerinden birisidir. *S. aureus*; cilt, yumuşak doku ve daha bir çok farklı doku enfeksiyonlarından yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlara kadar farklı klinik tablolara neden olabilmektedir.

Antimikrobiyal tedavi ile *S. aureus*'a bağlı klinik tablo seyirlerinde ciddi oranda olumlu sonuç alınsada antimikrobiallere karşı hızlı gelişen direnç nedeniyle, *S. aureus* suşlarının yol açtığı enfeksiyonlarda ciddi klinik tablolarla karşılaşmaktadır. *S. aureus*'un sebep olduğu enfeksiyonların kontrolü ve uygun tedavileri, enfeksiyonların patogeneğinde rol oynayan mekanizmaların aydınlatılmasına ve moleküler yöntemlerle kökenlerinin doğru tanımlanmasına ve tiplendirmelerine bağlıdır.

Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), hastane kökenli enfeksiyonların en önemli sebeplerinden biridir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) enfeksiyonları giderek artan oranlarda rapor edilmektedir (1,2). MRSA'larda tüm beta-laktam yapısındaki antibiyotikler dahil bir çok beta-laktam dışı antibiyotiklere de çoklu ilaç direnci görülmektedir (3). Bu yüzden Metisilin direncinin belirlenmesi, enfeksiyonların kontrol altında tutulması ve uygun tedavinin tercih edilmesinde büyük önem taşır. Metisilin direncine yol açan *mecA* gen bölgesinin moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmesi GOLD standart (altın standart) olarak belirlenmiştir(4).

S. aureus suşları, patojenitesini artıran birçok virülans faktörleri taşımaktadır. Bunların başında fibronektin bağlama proteini (FBP) ve Panton-Valentin Lökositidin (PVL) toksini sayılmaktadır. FBP, *S. aureus* enfeksiyonunun ilk yapışma adımlarında yer alan en önemli adhezin moleküllerinden biridir. PVL ise lökositlerin yıkılmasına ve doku nekrozuna sebep olur. Ayrıca çeşitli ülke insanlarında görülen Toplum Kökenli metisilin dirençli *S. aureus* (TK-MRSA) suşlarında önemli virülans faktörlerindedir. TK-MRSA suşların bir kısmı *mecA* genine sahip olsalarda metisilin için minimal inhibitör konsantrasyon aralıkları oldukça düşük olabilmektedir. Bu suşlar antibiyotik hassasiyet deneylerinde metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak belirlenebilmektedir. Bu yüzden PVL görülen MSSA suşlarında *mecA* geninin moleküler yöntem (polimeraz zincir reaksiyonu) ile gösterilmesi tercih edilmektedir (5).

Çalışmada yer alan, ayakta ya da hastanede yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden üreyen *S.aureus* suşlarının metisilin direncinin genotipik ve disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi, ayıca PVL ve FBP varlığının moleküler yöntemlerle gösterilmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

S.aures ilk olarak 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. Pasteur, stafilocokların 1880’de sıvı besiyerinde üremesini sağlamış, 1881 yılında Alexander Ogston ise kemirgenler için patojen olduğunu bildirmiştir. Staphylococcus sözcüğü, tipik kümelenmiş koklar halinde olduklarından dolayı Grekçe üzüm salkımı anlamına gelen ‘staphyle’ Ogston tarafından türetilmiştir (6). Rosenbach, 1884’te beyaz renge sahip stafilocokları *Staphylococcus albus* (*S.albus*) ve turuncumsu renge sahip stafilocok kolonilerini ise *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) diye adlandırmıştır. Ayrım yaparken bu yöntemin kullanılması günümüze kadar sürmüştür (7).

Alexander Fleming’in 1928 yılında penisilini bulması ile stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Ancak 1941 senesinde penisilin G’nin tedavide kullanılması ile penisiline dirençli olan stafilocok suşları ortaya çıkmaya başlanmıştır. Stafilocokların penisilnaz salgıladığı ilk kez 1944 yılında Kirby tarafından gösterilmiştir (8). Salgın klonlar daha sonra ki yıllarda birbiri ardına, kloramfenikol, streptomisin, oksitetrasiklin ve son olarakta makrolidlere direnç kazanmıştır (5). Penisilnaz ortaya çıkması ile direnç sorunu, 1959’da beta-laktamaz enzimine dirençli yarı-sentetik penisilin olan metisilin ile çözümlenmiştir. Bu çözüm kısa süreli olmuş ve 1961 senesinde İngiltere’de “COL izolatu” olarak isimlendirilen ilk MRSA suşu tanımlanmıştır. Önceleri "Archaic klonları" olarak isimlendirilen ve “COL izolatu”ndan kökenlenen MRSA’lar “CC8” olarak tanımlanan genetik soyda bulunur. “Archaic klonu” 1970-1980 yılları arasında İngiltere başta olmak üzere Avrupa’da salgınlara neden olmuştur. Bu yılların devamında da çoklu ilaç direncine sahip olan farklı MRSA suşları, hastane kökenli ve toplum kaynaklı enfeksiyonlara sebebiyet vermiştir. (9). MRSA şunda da dünya genelinde birçok hastanede önemli bir problem olmasının yanısıra bakımevleri ve toplumda da artan oranda görülmektedir.

2.2. Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri

1957’de yayımlanan Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’de stafilocokların sadece iki türü, *S.aureus* ve *S.epidermidis*, açıkça tanımlanmaktayken 1994 yılındaki baskısında, “Gram pozitif koklar” bölümünde 20 farklı cins

tanımlanmıştır (10). *Staphylococcus* cinsi, Micrococcaceae familyası içerisinde yer alır. *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Stomatococcus* cinsleri bu familyada yer alan ve insanda hastalık yapan cinslerdir, bunlar arasında insanlarda en sık hastalık etkeni olan stafilocoklardır (11). Ayrıca yapılan çalışmalarda *Staphylococcus* cinsinin, *Bacillus* cinsi ile filogenetik bağlantılarının bulunduğunu göstermiştir (12).

Stafilokoklar hareketsiz, spor oluşturma özelliği olmayan katalaz testi pozitif ve Gram boyamada pozitif boyanırlar. Ancak Gram boyama taze kültürlerden uygulanmalıdır çünkü çok eski kültürler kristal viyoleyi tutma özelliklerini kaybederek Gram değişken ya da Gram negatif görülebilirler (13). Stafilocok cinsinin üyeleri düzensiz üzüm benzeri kümeler oluşturan koklardır. Stafilocoklar sıklıkla kapsülsüzdür ya da sınırlı bir kapsüle sahiptirler (14).

S. aureus, diğer stafilocok türlerinden temel olarak sarı pigmentli kolonileri, koagülaz pozitif olması ve mannitol fermantasyonu, deoksiribonükleaz testleriyle ayrılır (15). Plazmayı pıhtılaştırma özelliği olan *S.aureus*'u diğer stafilocoklardan ayırt ederken en sık kullanılan identifikasyon yöntemi koagülaz deneyidir. Koagülaz deneyinden sonrada en çok Mannitole etki deneyi *S.aureus*'u diğer stafilocoklardan ayırt ederken kullanılan en yararlı yöntemdir (16,17). Mannitolu sadece *S.aureus* fermente eder ve kolonilerin rengi beyaz ile altın sarısı arasında değişir. Ancak taze koloniler renksizdir, kültür eskidikçe sarı pigmentler oluştururlar. Pigmentler hücre zarında bulunur, karotenoid yapısındadır. Genellikle pigment oluşumu ortam koşulları ile ilgili olup oksijen gereklidir. Anaerob şartlar altında ve buyyonda pigment yapmazlar (16, 7,18). Aynı stafilocok suşu, değişik ortamlarda değişik renkte pigment oluşturabilir (19).

2.3. Üreme , Kültür Özellikleri

Stafilokokların çoğu yaklaşık olarak %7.5-%10 oranında NaCl bulunan besiyerlerinde üreyebilmektedirler. Stafilocok suşlarının optimal üreme ortamı sıcaklık "32-37 °C" pH "7- 7.5" aralığındadır. En karakteristik üremeleri kanlı agarda olmasına rağmen çoğu besiyerinde üreyebilirler. Kolonileri düzgün, yuvarlak, kabarık yani S koloni tipine sahiptir. 24 saat inkubasyon ile koloni çapları 1-3mm olur. *Staphylococcus aureus* suşlarının çoğunda beta hemoliz ve sarı pigment görülür (20,21). Glikoz öncelikli olmak üzere karbohidratları fermente ederek parçalara ayırır, ürün

olarak gaz meydana getirilmeden “laktik asit” sentezler. Stafilokoklar, sporsuz bakteriler arasında dış koşullara ve antibakteriyellere en çok direnç gösterebilenlerdendir. Kültür ortamında +4 °C’de 3 ay, -20°C’de ise yaklaşık 6 ay canlılığını sürdürebilirler (18). *S.aureus*, tozlu yüzeylerde, metal, cam ya da porselen gibi yüzeylerde uzun süre yaşamlarına devam edebilirler ve 60°C sıcaklıkta 50 dakikaya kadar canlı kalabildiği gözlemlenmiştir (22).

2.4. Hücre yapıları ve antijenik özellikleri

2.4. Hücre yapıları ve antijenik özellikleri

S.aureus virulans özelliği en çok olan stafilokok türüdür. Ama enfeksiyona neden olması, *S.aureus* suşunun virulans özelliği ile konak immun sisteminin arasındaki dengeye bağlıdır. Stafilokokların; protein A, kapsül, teikoik asit, peptidoglikan tabakası gibi hücre duvarında yer alan elementler ile bağışıklık sistemine karşı mikroorganizmayı korur ve konak dokularına kolonize olmasını sağlar (17).

2.4.1. Kapsül

Staphylococcus aureus insan bağışıklığının tepkilerinden kaçmak için birçok mekanizma geliştirmiştir. Klinik *Staphylococcus aureus* suşlarının çoğundan bulunan polisakarit kapsül, bakteri yüzeyi ve opsoninler gibi yüzey ile ilişkili proteinleri etkin bir şekilde maskeleyerek fagositik hücreler tarafından tanınmasını engeller ve immun cevaplardan bakteriyi korur.

S.aureus suşlarında 11 polisakarit kapsül serotipi tanımlanmıştır (23,24). Serotip I ve Serotip II kalın bir kapsül yapısına sahip olup mukoid görümlü koloniler meydana getirir ve seyrek olarak insanda patojen olan tiplerle ilişkilidir (23). Klinik *S.aureus* suşları tarafından üretilen iki ana serotip Serotip 5 (CP5) ve serotip 8 (CP8)’dir. CP8 suşlarının en yaygın olduğu tüm klinik izolatların ~% 75’ini oluşturmaktadır. Penisiline dirençli *S. aureus* suşlarının çoğu serotip 5 kapsüle sahiptir (25,26). CP5 veya CP8’in ekspresyonunun, *S. aureus*’un virülansını ve hayatta kalmasını arttırdığı gösterilmiştir (27,28).

2.4.2. Protein A

Protein A, hem hücre yüzeyinde hem de büyüme sırasında ortamda bulunan 42000-Da MSCRAMMS (“Microbial Surface Component Recognizing Adhesive

Matrix Molecules”) adhesinidir. Bu benzersiz protein, IgG3 haricindeki tüm insan IgG alt sınıflarının Fc bölgesine bağlanır.

Protein A, polimorfonükleer hücreler tarafından organizmaların opsonizasyonu ve yutulmasını kontrol eder, komplimenti etkinleştirir ve ayrıca direk ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarını ortaya çıkarabilir. Protein A aynı zamanda bir "B-hücresi süperantijeni" nden dolayı belirli B-hücresi reseptörlerine bağlanabilir ve sonuç olarak spesifik antikörlerin sentezlenme yeteneklerini sınırlar.

Bazı B hücre reseptörlerini inhibe eder. Protein A aynı zamanda von Willebrand faktörünü ve komplement proteinini de C3'e bağlar ve böylece bakterilerin trombositlere yapışmasını hızlandırır ve C3'den C3b'ye dönüşümü katalize edebilir.

Protein A molekülü TNF reseptörüne de bağlanır ve böylece proenflamatuvar sitokin sinyalizasyonunu azaltır.

Kromozomal spa geni tarafından kodlanan Protein A *S.aureus* üzerinde bulunması ile organizmanın tanımlanması ve vücut sıvıları içindeki bakteri antijenlerinin saptanmasıyla bir çok klinik laboratuvarında kullanılan koagülasyon test prosedürlerinin temelini oluştururlar.

2.4.3. Peptidoglikan Tabakası

Peptidoglikan tabaka *S. aureus*'un hücre duvarını, teikoik asit, protein A ve diğer yüzey proteinleriyle beraber oluşmaktadır. *S.aureus* hücre duvar yapısının %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Peptidoglikan tabakanın polisakkarit iskeleti; birbirine $\beta(1-4)$ bağları ile bağlı yinelenen "N-Asetil Glikozamin" (NAG) ve "N-Asetil Muramik asit" (NAM) birimlerinden oluşmaktadır (24). NAM'a bağlı D ve L aminoasitler sırasıyla "L-alanin", "D-glutamin", "L-lizin" ve "D-alanin" tetrapeptid zinciri oluştururlar. Üçüncü sıradaki L-lizin stafilokoklar ve streptokoklar için özeldir fakat çoğu mikroorganizmada ve Gram negatif bakterilerde bunun yerine diaminopimelik asit yer alır. Bir tetrapeptidin karboksil grubu ile komşu NAM'daki tetrapeptidin NH_2 grubu arasındaki çapraz bağ ve tetrapeptid zincirleri arasındaki bağlar peptidoglikan yapının bütünlüğünü sağlamaktadır (29).

Stafilokokların hücre duvarında penta peptid zincirde dördüncü pozisyonda yer alan "D-alanin" in karboksi terminali bir diğer pentapeptiddeki "L-lizinin" amin grubuna pentaglisin köprüleri aracılığıyla çapraz olarak bağlanır. Çapraz bağların sayısı,

suşun niteliğine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Örneğin, MRSA izolatlarındaki çapraz bağ sayısı, MSSA izolatlarına kıyasla azdır (7,30).

Ayrıca peptidoglikan tabakanın makrofajlardan sitokin salgılanmasını uyardığı belirtilmektedir. Kompleman aktivasyonuna ve trombosit toplanmasına sebep olan peptidoglikan tabaka ek olarak monositlerden “IL-1” salgılanmasını uyararak polimorf nükleer lökositlerin enfeksiyon alanında gelmelerine neden olur.

Stafilokoklardaki pentaglisin köprüleri lizostafin enzimine ve peptidoglikan tabakanın β 1-4 bağları, ter, gözyaşı ve lökositlerde bulunan lizozim (muramidaz) enzimine duyarlıdır (8,14,73,115,116).

2.4.4. Teikoik Asit

Fosfodiester bağları ile bağlanarak zincirler oluşturan “şeker-alkol-fosfat” polimerlerinden oluşan teikoik asit, hücre yüzeyinde bulunarak bakterilere antijenik özellik vermektedir. Ribitolteikoik asit hücre duvarından uzanır. Lipoteikoik asitte, ribitolteikoik asitten farklı olarak poligliserol fosfat bulunmakta ve plazma membranındaki diaçilgliserol molekülleriyle bağlanarak bütünlüğün korunmasında rol oynar. Makrofaj ve bazı immun sistem hücrelerinden sitokinlerin salınımını başlatarak inflamasyonda rol oynar.

2.5. Virülans faktörleri

S.aureus virülans özelliği en çok olan stafilokok türüdür. Ama enfeksiyona neden olması, *S.aureus* suşunun virülans özelliği ile konak immun sisteminin arasındaki dengeye bağlıdır. (31). *S.aureus* suşlarının birçok virülans faktörü bulunmaktadır. Virülans faktörleri olarak; enzimler, hücre duvar elemanları, slime faktörü ve toksinler belirlenmiştir.

S.aureus’un sahip olduğu çoğu virülans faktörü protein yapıdadır ve hücre duvarının yapısında yer alan peptidoglikan tabakaya bağlı olarak bulunurlar. Protein grupları bakterinin, kan proteinlerine ya da ekstrasellüler matriks proteinlerine bağlanmasını sağlamaktadır. Hücre duvar matriks proteinlerine bağlanan yüzey adezinleri, “Adezif Matriks Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Elemanları” (“Microbial Surface

Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules”) olarak adlandırılmaktadır. *S.aureus*'a ait yapışkan yüzey proteinlerinin olası görevlerinden biri olarak bakterinin kan ya da doku bileşenleriyle kaplanarak konağın immun sisteminden korunacağı ortamı temin etmek diğeriye dokuya bağlanmasını kolay hale getirmektir (32). *S.aureus*'un yüzeye tutunmasını sağlayan yüzey adezinler vücuda uygulanan kateter veya plastik cihazları kollajen, fibronektin benzeri doku proteinleriyle hızlıca kaplanarak *S.aureus* biyofilmi için ilk tabakayı oluşturur hücre içinde sentezlenen MSCRAMM, sonra sitoplazmik zar duvarına salgılanır. Burada bulunan molekül grupları “sortaz”olarak isimlendirilen enzim tarafından peptidoglikan tabakasında yer alan pentaglisin köprülerine kovalent bağlanır. Sortaz ve MSCRAMM sadece *S.aureus*'a ait değildir bir çok “Gram Pozitif” bakteride bulunmaktadır.

S.aureus yüzey adezinlerinin bazıları, örneğin, “poli-N-süksinil-V-1,6 glukozamin” (PNSG) polisakkarit yapısı olan yüzey adezindir. *S.aureus*'un yüzeylerde biyofilm oluşturmasıyla alakalı olarak polisakkariti sentezleyen enzim yapıları ica (The Intercellular Adhesion) genleri olarak adlandırılan yapılarca kodlanır (32).

Yüzey adezinleri bakteri yüzeyinde yer almaları ve de patojenitede rol oynamaları nedeniyle immun sistem için güzel birer hedef oluşturdukları düşünülebilir. Fakat fibronektin bağlayan protein yapılarına karşı oluşturulan antikorların özelliği sebebiyle konak immun sistemi *S.aureus* yüzey proteinlerine karşı antikor oluştursalar da enfeksiyonlara karşı bağışıklık gösteremezler. Antikorlar, stafilokokkal protein olan FNBP'nin fibronektine bağlanmasını engel olamaz. Bunun sebebi antikorların fibronektine bağlanabilmesi ve FNBP'ye özgün olduğu gösterilmiştir (32).

Diğer yüzeyle alakalı virulans faktörü Protein A ise, IgG yapısındaki antikorların “Fc” bölümüne bağlanır ve bundan dolayı antikor bağlanması bakterileri opsonize edemez ve bakterilerin immun yanıtından kaçmasına yardımcı olur (32).

2.6. Enzimler

S.aureus un sahip olduğu birçok enzim mikroorganizmanın virulans özellik kazanmasına neden olur.

2.6.1 Katalaz

Fagositik hücrelerce sindirilen stafilokoklar katalaz enzimi sayesinde hidrojen peroksidin ve miyeloperoksidaz sistemi tarafından oluşturulan toksik serbest radikallerin inaktivasyonuna yol açabilir ayrıca bakteriyi parçalı çekirdekli lökositlerin etkisinden korumaktadır (10).

2.6.2. Koagülaz

S.aureus ve insanda patojen olmayan bazı türleri örneğin *Staphylococcus epidermidis*, *S intermedius* tarafından salgılanan koagülaz, hücrenin dışında salınan ya da hücre yüzeyine bağlı olarak bulunabilen bir proteindir. Trombin ile bağlanması aktif hale gelmesini sağlar ve de fibrinojenden fibrin polimerizasyonunu sağlar (33,10).

Serbest halde bulunan koagülaz, plazmada bulunan “coagulase reacting factor”

(CRF) ile birleşerek aktif hale geçip plazma yapısını pıhtılaştırır (34,10). Enzim yapısında olan koagülaz ısıya dayanıklıdır ve proteolitik enzimlerle kolaylıkla pasif hale getirilebilir (7). Koagülaz, mikroorganizmanın patojenliğini belirler (10). Koagülaza sahip stafilokoklar girdikleri organizmada bu enzimleri sayesinde bir fibrin zırhı ile kaplanarak fagositoza karşı korundukları gibi normal serumun bakterisid aktivitesini de önlediklerinden patojenlik kazanmış olurlar (34). Hücre yüzeyine bağlı şekilde bulunabilen koagülaz tipine clumping factor (CF) denir. Serbest halde bulunan koagülazın ile CF'in immünolojisi ve etki mekanizması bakımından birbirinden ayrılır. CF *S.aureus*'un hücre duvarında yer alır ve fibrinojene bağlanarak onu fibrin yapısına çevirir.

2.6.3. Nükleaz

Bu enzimler endonükleaz ve ekzonükleaz aktivliğine sahiptir. Nükleik asitleri

“3'-fosfomononükleotid”lere ayıran fosfodiesterazlardır. *S.aureus* izolatlarının %90 oranından fazla bulunan ısıya dayanıklı enzimdir (7). Nükleik asitleri parçalar ve *S.aureus* suşlarının invazyon yeteneğini arttırmaktadır (35).

2.6.4. Lipaz

Lipaz enzimi lipitleri hidrolize eder. *S.aureus* izolatları ile KNS suşlarının bazıları farklı tiplerde lipaz üretme yeteneğine sahiptirler (17). Lipaz stafilokokların ciltte, kutan ve subkutan olarak (19) bulunmasını sağlayarak fronkül, karbonkül ve bül gibi enfeksiyonların oluşmasını sağlayabilir (17).

S.aureus suşlarının ortaya çıkardığı farklı lipaz enzimleri vardır;

Gliserol Ester Hidrolaz : Görevi tam olarak bilinmemekle birlikte bakterinin beslenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

PI-Fosfolipaz C : *S. aureus* tarafından iki ayrı fosfolipaz C oluşturulur; bunlardan biri, β hemolizine karşılık gelen, hemolitik sfingomiyelinazdır. Diğeri, PI-PLC (phosphatidylinositol-specific phospholipase) dir.

FAME (Fatty Acid-Modifying Enzyme) : *S. aureus* suşlarının yaklaşık %80'i tarafından meydana getirilen FAME, bakterisidal etkisi olan lipitleri inaktif hale getirir (36).

2.6.5. Hiyaluronidaz

Hyalüronik asit Lineer bir polisakarittir ve omurgalıların hücreler arası boşluklarında yer alır (36). *S. aureus* suşlarının çoğunu hyalüronidaz oluşturur (7). Bağ dokusunun yapısındaki hyalüronik asidin depolimerizasyonunu yapar ve böylece stafilokokların doku içerisinde yayılmasını kolaylaştırır. Yayılma faktörü olarak tanımlanan bu enzim antijenik özelliğe sahiptir ve özgül antikoru ile nötralize olur (16, 36).

2.6.6. Stafilokinaz (Fibrinolizin)

Stafilokoklar fibrinolitik etkiye sahiptir. Stafilokoklar tarafınca salınan kinazlar plazmada yer alan plazminojeni aktive ederek plazmin (fibrinolizin) oluştururlar (34). Plazmin, fibrini eriten proteolitik bir madde olduğundan bakterinin dokular arasında

yayılmasını sağlar. Bazı suşlarda kromozomal genler tarafından kodlanır, bazılarında ise faj genomunun kontrolündedir (10). Stafilokinaz aslında bir enzim değildir, ancak plazmin ile oluşturdukları kompleks yüksek aktiviteye sahiptir (36).

2.6.7. β -Laktamaz (Penisilinaz)

Stafilokoklarda penisilinaz enzimi plazmid aracılığı ile ekstrakromozal olarak kodlanmaktadır. Transdüksiyon ve transformasyon ile aktarılan bu plazmid, bazı metal iyonlarına ve eritromisin gibi başka antibiyotiklere direnci belirleyen genleri de içerebilir. Penisilinaz yapımı nadir olarak kromozomdaki genlerle de kodlanabilmektedir (37). Klinikte kullanılmaya başlandığı zamanlarda neredeyse tüm stafilokoklar penisiline duyarlıyken son yıllarda özellikle hastane kökenli suşlarda oran %5'lerin altına düşmüştür (17).

2.6.8. DNaz

Termostabil olan bu enzim *S. aureus* suşları için teşhis kriteri olarak kullanılabilir. Çoğu *S.aureus*, DNaz oluşturur. DNaz enzimi, DNA ve RNA'yı, nükleotidlere parçalayan ekstrasellüler bir enzimdir (12).

2.7. Toksinler

2.7.1 Ekzotoksinler

S.aureus suşları ekzotoksinler ile alakalı olarak bir çok hastalığa sebep olur. "Hastalık-spesifik" ekzotoksinler harici başka hücrelere litik etki gösteren ekzotoksinlere ("alfa, beta, gama ve delta toksinler ve lökosidinler") sahip olabilir. Plazma zarında hasara neden oldukları için, sitotoksin olarak isimlendirilebilir. Bu lizozom enzimlerin salgılanmasının neticesi olarakta doku yıkımına sebep olabilirler

2.7.2. Epidermolit (eksfoliatif toksin)

ET-a ve *Et-b* genleri tarafından üretilen bu toksin biyokimyasal ve immünolojik olarak birbirinden farklı olmasada benzer biyolojik aktiviteye ve süper antijenik aktivitelere sahiptir. *Et-a* bakteriyofaj ile taşınır et-b geni plazmidte kodlanır.

Serin proteaz aktivitesine sahip olan bu toksinler stratum granulosumun mukopolisakarit matriksinin epidermide eritilmesi ve hücre sel bağının intraepitelyal bölünmesine neden olur. Klinik olarak ‘‘Haşlanmış Deri Sendromu’’ndan (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome) sorumlu olan bu toksin tipi ayrıca süper antijen işlevide görür.

2.7.3. Enterotoksinler

Enterotoksinler tek zincirli ve polipeptid yapıdadır ve ısıya dirençli olup 100°c de ortalama yarım saat dayanmaktadır. *S.aureus* immünolojik açıdan farklı ‘‘A, B, C (C1-C3), D, E ve F’’ olarak isimlendirilen sekiz enterotoksine sahiptir. Bunlardan A aracılığıyla E, H ve I gıda zehirlenmesine yol açar. Büyüme yi destekleyen gıdalardaki önceden oluşturulmuş enterotoksinin yutulması ile 2-8 saat içinde diyare ya da kusma ile sonuçlanır. ‘‘Enterotoksin F’’ ‘‘Toksik şok Sendrom’’ olarak da adlandırılırken, ‘‘Enterotoksin B’’ genellikle hastane enfeksiyonlarına sebep olur.

2.7.4. Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)

Bakteriyofaj kökenli toksin, -TSST- , ‘‘tst’’ gen bölgesi aracılığıyla kodlanıp toksik şok sendromundan sorumludur. Özellikle adet görme sırasında tampon kullanan kadınlarda veya yara enfeksiyonu bulunan kişilerde toksik şoka neden olur, Burun kanamasını durdurmak için burnuna tampon konan olgularda da toksik şok görülebilir (38). Sitokinlerin sistemik salınması ve geniş fizyolojik etkisi multisistem hastalıkların hızlı gelişimine neden olabilir.

2.8. Hemolizin ve Lökosidinler

Stafilokok suşların salgıladıkları hemolizinler:

2.8.1. Alfa hemolizin

İnsan da bulunan çok çeşitli hücreler üzerinde öldürücü etkisi olduğu gibi çeşitli hayvan türlerinin eritrositlerini de parçalayıp yok edebilir. Subkutanöz enjeksiyonda dermonekrotiktir ve intravenöz uygulandığında hayvanlar için öldürücüdür. Nörotoksinite de alfa hemolizinin bir özelliğidir. Bu toksin koyun kanlı agarda üreyen bazı *S.aureus* suşlarının kolonileri etrafında eritrositlerin hemolizi sonucu gözlenen zonun oluşumundan sorumludur .

2.8.2. Beta hemolizin

Alfa toksin ile beraber sfingomyelin üzerine etkili olan beta toksin (sfingomyelinaz C) invaziv stafilokok enfeksiyonlarında karakteristik olarak doku hasarı ve abseye sebebiyet veren toksinler içinde önemlisidir.

Beta hemolizin, insan monositleri için sitotoksikken, granüositlere, lenfositlere ve fibroblastlara karşı inaktiftir.

2.8.3. Gama Hemolizin ve Panton Valentin Lökosidin (PVL)

Gama hemolizin ve PVL jel elektroforezinde yavaş (S=slow) ve hızlı (F= fast) olarak geçiş ile laboratuvarında farklılaşan polipeptidlerden oluşan iki bileşeni oluşturan toksinlerdir.

Gama hemolizin, hIgA ve hIgC polipeptidlerinin hIgB ile kombinasyonundan oluşur. Nötrofil ve makrofaj lizisi ile hemolitik aktivite gösterirler. Por oluşumu ile permeabilite artışı ve osmotik geçirgenliğin bozulması sonucu hücre lizisi gerçekleşir İnsan, koyun gibi konak eritrositleri bu toksine hassas iken bazı konak eritrositleri bu toksine dayanıklıdır.

PVL, lizojenik bakteriyofajlarla stafilokok suşları arasında bulaşır ve LukS ve LukF kombinasyonundan oluşur. Bu toksinlerin monomeri, duyarlı hücre membranlarına sırayla bağlanır ve gözeneklere oligomerize olur.

PVL'nin virulans belirleyicisi rolü

PVL, *S.aureus*'un bazı suşlarında, en çok toplumla ilişkili metisiline dirençli *S.aureus*'da (TK-MRSA) bulunan bir bakteriyofaj tarafından kodlanmış iki komponentli lökotokindir. PVL ilk kez 1894 yılında Van deVelde “substance leukocidine” (lökositleri öldüren madde) olarak tanımlarken, Panton ve Valentine adlı araştırmacılar bu toksinin yumuşak ve deri dokusu enfeksiyonlarıyla ilgili olduğunu 1932’de açıklamışlardır (39).

PVL geninin tanımlanmasıyla beraber TK-MRSA izolatlarının şiddetli yumuşak ve deri dokusu enfeksiyonları ve nekrotizan pnomoninin PVL ile ilişkisi olduğu kabul edilmeye başlanmıştır (40). PVL genleri ve TK-MRSA soyları arasında açık bir epidemiyolojik ilişki belirgindir. Dünya çapında, PVL-MRSA suşları çoğunlukla belirli bir bölgede poliklonaldır. PVL genlerinin yayılmasında TK-MRSA suşları sorumlu tutulmuş ve tüm dünyada PVL pozitif *S.aureus* suşlarına bağlı enfeksiyonlarında artış bildirilmiştir.

Bulgular PVL bulunan *S.aureus* enfeksiyonlarının PVL-negatif *S.aureus* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlardan şiddetli olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin PVL’ye sahip *S.aureus* hastalıklarında pnömoniye çoğunlukla yüksek ateş, sepsis, lökopeni, plevral efüzyon eşlik eder hatta ölüm görülebilir (40). Nekrotizan pnomoniler genç ve sağlıklı bireylerde şiddetli seyrederken çoğunlukla ölümlerle sonuçlanabilmektedir (41). Ayrıca çocuklarda da nekrotizan pnömoni nedenidir. Bunlara neden olan epidemik TK-MRSA suşlarının PVL pozitif olduğu da gösterilmiştir. PVL’nin patogenezdaki etkisi ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Ancak PVL’nin toksik etkisiyle lizise uğrayan lökositlerden açığa çıkan otolitik enzimler ve serbest oksijen radikallerinin doku nekrozunu meydana getirdiği düşünülmektedir.

2.9. Patojenite ve Laboratuvar Tanı

Folikülit

Yüzeysel derminin benign enfeksiyonudur. Küçük, kırmızımsı ağrılı lezyonların varlığı ve sistemik semptomların olmaması ile karakterizedir.

İmpetigo

İmpetigo dermiste görülen yüzeysel bir stafilokok enfeksiyonudur ve çoğunlukla çocuklarda görülür ve genellikle yüzde görülür. İki farklı formu vardır;

Non-büllöz ; Çocuklarda sık görülür. Küçük ve rengi kırmızı bir makül halinde başlar, hızla vezikül veya püstül alanlara dönüşür. Üzerinde tipik olarak sarımsı, bal mumu renginde krutlar olur. Postpiyodermal glomerulonefrite yol açabilir.

Büllöz impetigo: Büllü impetigo genellikle nemli intertriginöz alanlarda bulunur. Sistemik semptomlar yaygın değildir, ancak ateş ve bazen gastroenterit olabilir. Çoğu vaka birkaç hafta içinde yara izi olmaksızın çözülür.

Fronkül

Derinlere yerleşik inflamatuvar nodüllerle seyreder. Sıklıkla *S.aureus* bakteresi etkindir. Özellikle boyunun arka tarafı, koltuk altı, yüz ve kalçada yerleşir. Başlangıçta kıl folikülü ağırlı, kırmızı renkli, sert, fluktuasyon alınmayan bir nodül veya apse olarak görülür. Daha sonra bu nodülün üzerinde, ostium follikülaeye yerleşim gösteren bir püstül gelişir. Kronik bir durumdaysa furonkülozis denir. Tekrarlayan fronkülleri olan hastalarda burun delikleri ve aksilla, perine ve bağırsaklarda kronik stafilokok taşıyıcılığı, diyabet ve immüsupresyon düşünülmelidir.

Karbonkül

Kan çıbanı, şir-i pençe olarakta adlandırılabilir. Birkaç yan yana halde bulunan kıl folikülünün bir arada tutulduğu stafilokokal enfeksiyondur. Boynun arka bölümü, omuz, sırt bölgesi gibi bölgelere yerleşir ve lezyon tahtamsı bir sertliktedir. Yüzeyindeki birkaç odaktan drene olabilir. Ağır hastalarda septisemi görülme ihtimali vardır.Tanı konulduğunda diyabete de bakılmalıdır.

Hidradenitis Süpürativa (HS)

Etkilenen bölgede bir kaşıntı hissedilir, bunu ağırlı indüre papül ve derin subkutan nodüller takip eder. Daha sonra nodüller süpüre olur ve kötü kokulu materyal drene olur. Lezyonlar genelde tam iyileşmez ve nüksler sık görülür. Lezyonlar fibrozis ile

iyileşir ve dermal kontraktürler gelişebilir. Genellikle lezyonlar komşu dokuda yineler yaşam kalitesini düşüren bir şekilde gelişir. Bir araştırmada HS'li hastalarda melanoma dışı deri kanserlerinin daha fazla görüldüğü saptanmıştır (42).

Mastitis

Mastitis, doğum ve emzirme ile alakalı meme enfeksiyonlarını anlatır ve meme dokularında çoğunlukla ödem, şişme, ve eritem ile karakterizedir. İğne aspirasyonu ile yüzeysel apseler boşaltılabilirken, daha derin kalıcı lezyonlar için genelde kesi ve drenaj ile beraber antibiyotik kür tedavisi gerektirir.

Yara enfeksiyonları

Genelde cerrahi operasyon sonrası gelişen kızarıklık, şişme, operasyon bölgesinde ağrı, kan ve seros sıvıları içeren drenaj gibi belirtilerle varlığını gösterir. Stafilokoksik yara enfeksiyonu olan hastalarda yara bakımı yaklaşımı, enfeksiyonun bulunduğu bölgeye, konakçının durumuna, klinik ve semptomların varlığına ciddiyetine ve cinsteki yabancı cisimlerin varlığına bağlıdır.

Kan Dolaşımı Enfeksiyonları

S.aureus, kan dolaşımı enfeksiyonlarının en ölümcül ve en sık karşılaşılan nedenlerinden biridir. *S.aureus* ciddi kan dolaşımı enfeksiyonu olmasının sebebi yüksek mortalitedir. Yaşam niteliğindeki iyileşmelere rağmen, son 30 yılda tüm nedenlere bağlı 30 günlük mortalite oranları hâlâ% 17-39 seviyesindedir.

Sepsise ait belirtiler özgün değildir. Hipotermi, ateş, kusma, ishal, huzursuzluk, solunum sayısının artması, uyuma isteği, apne, sarılık, karaciğerde büyüme, kalp atım hızında değişiklikler, hipotansiyon, dolaşım bozuklukları görülebilir (43,44,45,46,47). Sepsis menenjit eşliğindeyse havale, uyuma isteği, apne ile belirtilerle karşılaşılabılır (48,45,49,47).

Endokardit

S.aureus kapak endokarditinin nedeni olup ayrıca protez kapak endokarditinin de önde gelen sebeplerinden biridir. *S.aureus* enfektif endokardit genellikle ateşin spesifik

olmayan semptomlarına ve yeni bir kardiyak üfürümüne neden olan bir akut sendrom olarak karşımıza çıkmaktadır. Kapakta vejetasyonlar oluşabilir, koparılabilir, koroner ve periferik arterlere ve çeşitli organ sistemlerine embolizasyon yapabilir.

MSSA'ya bağlı doğal kapak endokarditi için, aminoglikozidli veya aminsiz bir penisilinaz dirençli penisilin veya birinci kuşak sefalosporin kullanılmaktadır.

Menenjit

S.aureus'a bağlı menenjit, nöroşirurjik müdahaleler, stent ameliyatı veya hasarın yerleştirilmesi nedeniyle bakteriyemi veya lokal travmanın komplikasyonu olarak ortaya çıkabilir. *S.aureus* bakteriyemini komplike hale getiren meningitidis, genellikle başka yere bulaştırılmış enfeksiyonlara odaklanmış, zor durumda olan kişilerde görülür.

Perikardit

Erişkinlerde nadir olup tedavi edilmediğinde çoğu zaman ölümcüldür. Tedavi edilenlerde bile mortalite %40'lardadır. Sıklıkla akciğer, endokard veya mediastendeki bir odaktan direkt yayılım ile ulaşır. Ayrıca göğüs duvarının penetran yaralanmaları, torasik cerrahi ve daha nadiren hematojen yayılım yoluyla da bakteriyel perikardit gelişebilir.

Pulmoner Enfeksiyon

Aspirasyon veya başka bir bölgede hematojen yayılma sonucu ortaya çıkabilir. *S.aureus*, nozokomiyal pnömoninin en sık görülen nedeni olarak ortaya çıkmakta ve bu vakaların yarısından çoğu MRSA'ya bağlıdır.

TK-MRSA'ya bağlı pnömoni, şiddetli solunum semptomları, ateş hipotansiyonu ve pürülan kanlı solunum sekresyonları ile kendini gösterir. Bu vakalarda, göğüs radyografisinde genellikle çok sayıda kavite sızıntısı ve apseler şeklinde görülür. *S.aureus* pnömonisinin komplikasyonları plevral empiyem ve bronkoplevral fistül oluşumunu içerir. Bu komplikasyonlar genellikle akciğer dokusunda komşu bir

bölgeden enfeksiyonların doğrudan yayılımı sonucu ortaya çıkar ve çeşitli tarama prosedürleri teşhis edici olarak kullanılabilir.

Kemik ve eklem Enfeksiyonları

S.aureus, yenidoğanlar dışında her yaştaki primer septik artrit ve osteomyelitin önde gelen nedenidir. Erken agresif tedavi olmaksızın, çoğunlukla cerrahi ve tıbbi girdilerin kombinasyonunu oluşturur, Eklem desteğini etkisiz hale getirme, nekrotik kemiğin kronik ağrısı ve sepsis'e neden olması, ya da deformite, felç hatta ölümle sonuçlanan spinal tahribata yol açabilir. Bu hastalıklar sırasında olayların temel sırası bakteriyemi, ardından bakteri üremesi ve artrit/osteomyelit gelişimi ve sonuç olarak doku hasarı ve kronikliklerdir.

Piyomiyozit (Kas enfeksiyonu)

Primer piyomiyozit, iskelet kasının çoğunlukla tropikal ve subtropikal bölgelerde görülen piyojenik enfeksiyonudur klinik tablo nadir de olsa, ateş, kalça ağrısı ve yürüyememe şikayeti olan hastalarda ayırıcı tanıda yer almalıdır. Genelde hastanın klinik (kan v.s.) kültürlerinden metisiline duyarlı *S.aureus* izole edilir. Hasta apse drenajı ve uygun antibiyotik tedavisiyle başarılı bir şekilde tedavi edilebilir.

Besin Zehirlenmesi

Stafiyokoklar suşlarına bağlı gıda zehirlenmesinin sebebi (Stafiloenterotoksikosis; Stafiloenterotoksemi) bazı *S.aureus* izolatlarının ürettiği enterotoksinlerdir. Bu zehirlenmenin başlangıç belirtileri konağın toksine olan duyarlılığı ve tüketilen kontamine besin ve besinde bulunan toksin miktarına ve hastanın sağlığıyla alakalı olarak hızlı ve aniden gelişim gösterir. En sık gözlemlenen belirtilerden bazıları kusma, karın ağrısı ve mide bulantısıdır. Zehirlenme şiddetliyse baş ağrısı, kramplar , ve kalp çarpıntısı görülebilir. Genel olarak hastanın iyi olma süreci iki gündür fakat kötü seyirli olan hallerde süreç üç günden fazla devam etmesi olağandır. Bu tip zehirlenmeye sebebiyet veren besinler; et ürünleri, salatalar, yumurtala,pasta tart gibi ürünler, sütlerdir.

Toksik Şok Sendromu

Toksik Şok Sendromu “TSS” olarak adlandırılır ve vücut bölgesinde toksin oluşturarak *S.aureus* enfeksiyonunda ortaya çıkan ölümcül de olabilen bir hastalık türüdür. TSS vakaların çoğunluğunda neden *S.aureus*’dan salınımı yapılan “toksik şok sendromu toksin-1 (TSST-1)” dir. Belirtileri ateş, ishal,zihin bulanıklığı ve böbrek yetmezliğidir. Bol sıvı tüketimi ve beta-laktamaza dirençli anitibiyotikle tedavisine başlanmalıdır.

İdrar Yolu Enfeksiyonu

İdrarında *S.aureus* bulunan bir çok hasta semptomatiktir. Metisilin direncinin ortaya çıkışı, idrar kültürlerinde MRSA sıklığında eşlik eden bir artış ile ilişkilendirilmiştir. *S.aureus* bakteriürinin risk faktörleri, ileri yaş, üriner sistem, kateterizasyon, üriner sistem tıkanıklığı ameliyatı veya maligniteyi içerir.

2.10. *S.aureus* enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler ve direnç mekanizmaları

Ciddi, yaşam riski bulunan enfeksiyonlar başta olmak üzere, bir çok vücut bölgesinde olan bakteriyel enflamasyonlardan sıklıkla izole edilmesinin yanında antibiyotik seçerken ve kullanırken bu mikroorganizmadaki direnç gelişimi sebebiyle problemler yaşanmaktadır (6, 50).

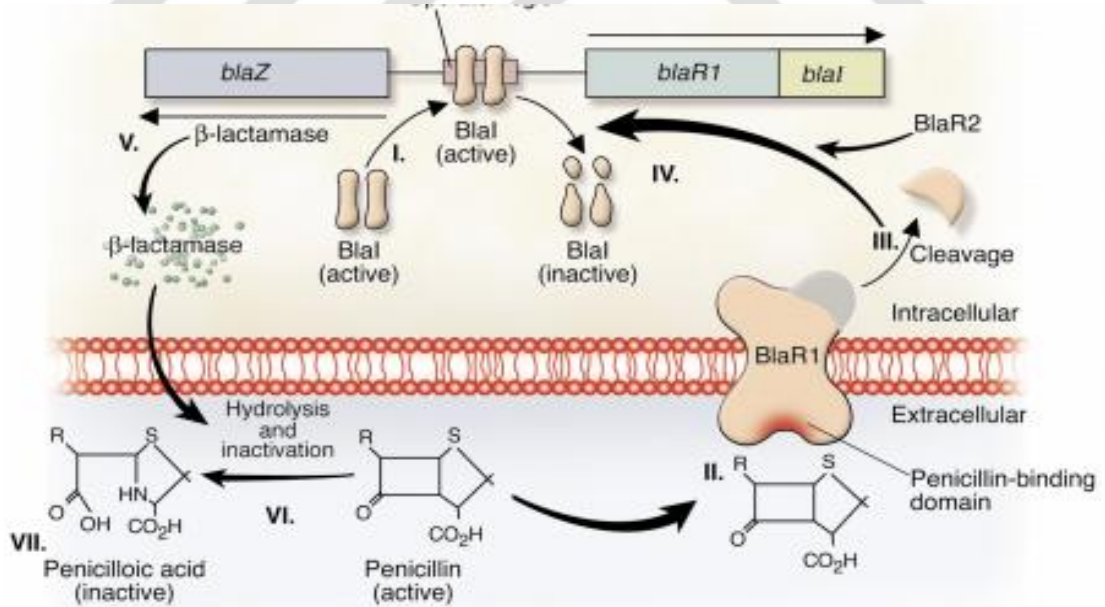
S.aureus direnç gelişimi bir çok yönden gelişebilir ve de hastalığın tedavisini geciktirebildiği gibi ölümlerde sebebiyet verebilir.

Son zamanlarda vankomisine dirençli olan *S. aureus* izolatlarının ortaya çıkmasıyla bu organizmaya karşı etkili bakterisidal antibiyotiklerin artık kolaylıkla bulunamayacağı kemoterapötik bir döneme işaret etmektedir. *S. aureus*'da direnç moleküler mekanizmaları seçilmiş antibiyotikler için alternatif ilaç hedeflerinin geliştirilmesi veya terapötik ya da profilaktik müdahale için yeni yaklaşımların ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

2.10.1. Penisilin Direnci

1940'ların başında penisilin kullanıma sokulması, stafilokok enfeksiyonu olan hastaların prognozunu çarpıcı biçimde arttırmıştır (50). Bununla birlikte, 1942 yılının başlarında, önce hastanelerde ve sonrasında toplulukta penisilin dirençli stafilokoklar tespit edilmiş olup 1960'ların sonlarına gelindiğinde hem toplum hem de hastane kaynaklı stafilokokların % 80'inden fazlası penisiline karşı dirençlidir. İlk olarak hastanelerde ortaya çıkan ve ardından topluluğa yayılmış direnç modeli, artık her yeni antimikrobiyal direnç dalgası ile tekrarlanan bir modeldir (52).

Stafilokok izolatlarının % 90'ından fazlası klinik ortamdan bağımsız olarak penisilinaz üretmektedir. B-laktamaz geni büyük miktarda ek bir antimikrobiyal direnç geni olan büyük bir plazmid üzerinde bulunan transpoze edilebilir bir elementin bir parçasıdır. Penisilin direncinin yayılması öncelikle dirençli suşların yayılmasıyla oluşur. Penisiline direnç stafilokoklarda β -laktamaz kodlayan direnç geni *blaZ*'dan kaynaklanır. Stafilokoklar β -laktam antibiyotiklere maruz bırakıldığında sentezlenen dominant ekstraselüler enzim, β -laktam halkasını hidroliz eder. *BlaZ*; iki bitişik düzenleyici genin, antirepresör *blaR1*'in ve represör *blal* in kontrolü altındadır (Şekil 1) (53).



Şekil 1. B-laktam antibiyotik penisilin varlığında stafilokok β -laktamaz sentezinin induksiyonu.

2.10.2. Metisilin Direnci

1961'de piyasaya sürülen metisilin, yarı sentetik penisilinaza dirençli penisilinlerin ilkiydi (54). Ama kullanımından hemen sonra hızla metisiline dirençli izolatlar rapor edildi. Özellikle klinisyenler için, metisiline dirençli suşların yayılımı kritik öneme sahiptir. MRSA'dan kaynaklanan enfeksiyonların terapötik sonucu, metisiline duyarlı suşlardan kaynaklanan sonuçtan daha kötüdür (55). Bu fark özellikle daha yaşlı olanlarda altta yatan tıbbi problemlerinden çok bu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan daha az etkili bakterisidal ilaçların, MRSA suşlarının virülansının güçlendirilmesinden kaynaklanmaktadır.

Penisiline dirençli suşlar gibi, MRSA izolatları da sıklıkla diğer antimikrobiyal ajanlara direnç genleri taşır. Başlangıç tedavisi olarak β -laktamların ampirik seçimi, bu enfeksiyonlarda artan morbiditeye katkıda bulunur ayrıca buna ek olarak, enterotoksinler veya Panton-Valentine lökositin gibi virülans genlerin varlığı, toplum kaynaklı enfeksiyonların bazılarında hastanın morbiditesine katkıda bulunabilir (56,57).

MecA geni (metisilin direncinden sorumlu gen) tüm MRSA suşlarında bulunan stafilokokkal kaset kromozomu mekanizması (SCCmec) olarak adlandırılan hareketli bir genetik takımın parçasıdır (58). Bugüne kadar 21 ila 67 kb arasında değişen dört farklı SCCmec elementi karakterize edilmiştir. Enfeksiyonlara neden olan metisiline duyarlı *S.aureus*'un (MSSA) sayısız farklı suşunun aksine, MRSA'nın salgın yayılımından yalnızca sınırlı sayıda klon sorumludur. Bu ayırım, mec elementinin yatay transferinin genetik kısıtlamaları olduğunu göstermektedir. Farklı ülkelerdeki hastalarda bildirilen, toplum tarafından edinilen MRSA enfeksiyonlarının yakın zamandaki artışı, SCCmec IV tipi 'in saptanmasıyla ilişkilendirildi (59). Diğer elementlerden daha küçük olan bu element daha genetik olarak hareketli görünmekte ve günümüzde ek antimikrobiyal direnç genleri taşımamaktadır. Aynı zamanda, MSSA genetik geçmişinden daha çeşitli bir alanda ortaya çıkmaktadır.

Metisiline direnç, kromozomal olarak lokalize mecA geninin varlığını gerektirir MecA, bir 78-kDa protein olan penisilin bağlama proteini 2a'nın (PBP2a; PBP2 'olarak da adlandırılır) sentezinden sorumludur (60,61). PBPler peptidoglikan zincirlerinin çapraz bağlanması için gerekli olan transpeptidasyon reaksiyonunu katalize eden membrana

bağlı enzimlerdir (62). Aktiviteleri, serin proteazlarıkiyle benzerdir ve buradan evrimleşmiş görünürler. PBP2a, diğer PBP'lerin yerini alır ve tüm β -laktam antibiyotikleri için düşük afinitesi nedeniyle, stafilokokların bu ajanlara yüksek konsantrasyonlarda maruz kalmaya devam etmesini sağlar. Böylece, metisiline direnç sefalosporinler de dahil olmak üzere tüm β -laktam ajanlarına direnç kazandırır. Son yıllarda yapılan çalışmalar PBP2a'nın çözünür bir türevinin kristal yapısını belirledi. PBP2a, diğer PBP'lerden farklı olarak aktif bölgesi tüm β -laktamları bağlanmasını bloke eder, ancak transpeptidasyon reaksiyonuna devam etmesini sağlar.

Metisilin direncinin fenotipik ekspresyonu değişkendir ve her MRSA suşu belirli metisilin konsantrasyonlarında büyüyen bakteri hücrelerinin oranının karakteristik bir profiline sahiptir (63). Bazı MRSA suşlarında direnç ifadesi, blaZ için düzenleyici genlerin homologları tarafından düzenlenir. Bu genler, mecI ve MecR1, penisiline maruz kaldıktan sonra blaR genleri tarafından blaR1 ve bla1 regülasyonuna benzer şekilde β -laktam antibiyotiklere karşı mecA tepkisini düzenler. Son zamanlarda ya mecI veya blaI'nin tüm MRSA'da işlevsel olması gerektiğini bulmuşlar ve bunun toksik bir proteinin fazla üretimini önleyen koruyucu bir mekanizma olabileceğini önermişlerdir (64). Ek bir dizi gen olan fem genleri metisilin direncine direnç için gerekli faktör olarak peptidoglikan ipliklerini çapraz bağlamada rol oynar ve aynı zamanda heterojenliğe katkıda bulunur.

2.10.3. Kinolon Direnci

Florokinolonlar başlangıçta 1980'li yıllarda Gram-negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde ve bununla birlikte, Gram-pozitif bakteriler olan pnömokoklar ve stafilokokların neden olduğu bakteri enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılmıştır. *S. aureus*'lar arasındaki kinolon direnci, metisiline dirençli suşlar arasında belirgin bir şekilde ortaya çıktı. Buna bağlı olarak, florokinolonların antistafilokok ajanlar olarak kullanma özelliği önemli ölçüde azalmıştır. MSSA ve MRSA suşları arasındaki kinolon direnci oranlarındaki farklılığın nedenleri belirsizdir.

Kinolonlara direnç, kromozomal genlerin aşamalı mutasyonu ile oluşur. Kinolonlar, DNA süperior sargısını gidermek için DNA girazı ve DNA zincirlerini birbirinden ayıran topoizomeraz IV üzerinde hareket eder, topoizomeraz IV mutasyonları Da

kinolon direnci için en kritik faktörlerdendir. Tekli aminoasit mutasyonları bazen klinik direnci sağlamak için yeterlidir, ancak daha aktif florokinolonlar için ek mutasyonlar gerekli görünmektedir. Virülansın antimikrobiyal dirence ilginç bir bağlantısında, yeni bir araştırma, bir kinolona bir kinolona dirençli izolatın maruziyetinin, organizmanın doku yüzeylerine yapışmasına aracılık eden bir yüzey proteini olan fibronektin bağlayıcı protein ifadesini arttırdığını gösterdi.

2.10.4.Vankomisin Direnci

Metisilin dirençli *S.aureus* ve enterokokların yol açtığı enfeksiyonları tedavi etmek için vankomisin kullanımındaki artış, vankomisine dirençli stafilokokların ortaya çıkmasını sağlamıştır. Vankomisine dirençli *S. aureus* un (VRSA) neden olduğu enfeksiyonların son zamanlarda bildirilen iki raporu büyük endişe kaynağıdır. Çünkü hem dirençli hem de yaygınlaştırma için farklı bir mekanizma gösterirler. VISA suşları için kromozomal aracılı dirençlerin aksine, VRSA suşları, bir *Enterococcus faecalis*'ten vanA operonunun eşlenik aktarımı ile direnç kazanır ve *Staphylococcus* suşları arasında direnç geninin yayılması için çok daha etkili araçların artmasını sağlar.

VanA ihtiva eden enterokok plazmitinin aynı zamanda *S. aureus* tarafından sentezlenen bir cinsiyet feromonunu kodladığı bildirildi, bu da eşlenik aktarımın potansiyel kolaylaştırıcısı olduğunu düşündürdü. D-Ala-D-Lac sentezi, ancak düşük vankomisin konsantrasyonlarına maruz kalındığında gerçekleşir. Sonuç olarak, ek biyosentetik talepler sınırlıdır ve VRSA suşu ekolojik olarak uygundur. Bu ekolojik uygunluk, bu plazmid değişiminin (hastaların hem MRSA hem de vankomisine dirençli enterokoklarla kolonize olma ihtimalinin artması nedeniyle) daha sık ortaya çıkma ihtimali ve bu suşların hem β -laktamlara hem de glikopeptidlere direnci artmaktadır.

2.11. Slime Faktör

Bir organizmanın slime üretme kabiliyeti, çeşitli hastalıklar üretme kabiliyeti ile önemli derecede ilişkilidir.Stafilokoklarda da adheransı kolaylaştırabilen “slime” meydana getirme kabiliyetleri mevcuttur.Slime faktör, protein, teikoik asit ve de ekzopolisakkaritten meydana gelen yapıdır (65). Slime meydana getiren mikroorganizmalar biyomateryalleri (kateter ve suni kalp kapakları gibi), kaplayarak

biyofilmler oluşturulmasını kolaylaştırır ve sepsis tablosu ortaya çıkmasını sağlar (66). Ayrıca biyofilm formda bakteriyi konağın immun sisteminden gizlenmesini kolaylaştırır ve antibiyotiklere karşı olan direncin artmasını sağlar (67).

2.12. Fibronektin bağlayıcı protein

Fibronektin, plazmada çözünebilir hücre dışı matriste ise çözünmeyen multimerik formda bulunan bir glikoproteindir. Aynı zamanda, implante edilen biyomalzemelerin yüzeyinde biriken birçok ana proteinden biridir. Hasar sonrası hücreyel adezyon ve doku onarımı gibi çok sayıdaki işleve ek olarak, fibronektin;heparin, kollajen, fibrin ve spesifik integrinler gibi çeşitli moleküller için yapışkan alanlara sahiptir (68). *S. aureus'un* fibronektin bağlama proteini A (FnBPA), fibronektin, fibrinojen ve elastin'i tanıyan çok işlevli MSCRAMM'lerden biridir. *S. aureus'un* fibronektin bağlama proteini, fibrinojeni ve elastin'i bağlayan bir N-terminal bölgesi ve bir C terminal alanı fibronektinle etkileşen *S. aureus* enfeksiyonunun ilk yapışma adımlarında yer alan en önemli adhesin moleküllerinden biridir. Bu nedenle, potansiyel aşı adayları olarak incelenmiştir (69).

Ayrıca bu sebeple *S. aureus* bakterilerinin kan dolaşımına girmesiyle ve burada implante kardiyovasküler cihazlarda enfeksiyon oluşturabilirler. Bu enfeksiyonlarda kritik basamak olarak, *S. aureus* üzerindeki fibronektin bağlama proteini (FnBP) ile implantların yüzeyini in vivo olarak kaplayan fibronektin (Fn) gibi konak proteinleri arasında oluşur. İmplant biyomalzemeler, fibronektin de dahil olmak üzere serum bileşenleri ile kaplanır ve dolayısıyla fibronektin bağlama proteini, bu ortamda önemli bir virölans belirleyicisi olacaktır.

Son yapılan çalışmalarda araştırmacılar FnBP'ler çok işlevli olduklarından, septik enfeksiyonda kesin rollerinin tespit edilmesinin zor olduğunu ama bakteriler intravenöz olarak enjekte edildiğinde, FnBP'lerin nötrofillerden kaçınmada yardımcı olduğunu, ve bakteriyemi safhasında bakterilerin hayatta kalmasına yardımcı etmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. Endotel hücrelerine invazyonunda kan dolaşımından

kaçmanın, iç organlarda abseler oluşumunda ve septik artrit eklemlerin enfeksiyonunda yardımcı olabildiğini ortaya koymuştur (70).

S.aureus ta FNBP'yi sırasıyla FnBPA ve FnBPB ile de ifade edilen iki yakın ilişkili gen, *fnbA* ve *fnbB* tarafından kodlar (71,72). Ayrıca bu iki gen, *fnbA* ve *fnbB*'nin tanımlanması, çeşitli klinik ortamlardan elde edilen izolatlar arasındaki genetik ve fenotipik çeşitliliğin değerlendirilmesine de izin vermiştir. Bu nedenle *S. aureus*'un fibronektin bağlanması büyük bir virulans belirleyiciyse, o halde fibronektin bağlanma seviyesinin virulan ile ilişkili olacağını öngördüğü düşünülmektedir. İlgili olarak çalışmalarda invaziv hastalıklarla bağlantılı izolatlarda iki gen bulunma ihtimalinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (73,74).



3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER:

Cihazlar

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan cihazlardan yararlanılmıştır:

- Santrifüj cihazı (IEC)
- Isı döngü cihazı(Techne)
PZR işlemlerinin yapılmasında programlanabilen üst kapak ısıtmalı otomatik therma cycler
- Vorteks cihazı (Velp, ABD)
- Elektroforez cihazı (BioRad)
- inkübatör (Nüve, Almanya)
- Otoklav (NÜVE)
- Manyetik karıştırıcı (IKA)
- PH Ölçer
- 5 ml'lik steril cam tüp
- Steril ependorf tüpleri
- Otomatik pipet
- Steril pipet ucu olarak 2 µl, 10 µl, 200 µl ve 1000 µl'lik filtreli plastik pipet (Eppendorf Reference, Germany)
- Steril eküvyon çubuğu

3.1.1. Besiyerleri

Koyun Kanlı Agar

<u>Bileşimi:</u>	<u>g/l</u>
Kazein	12
Maya Ekstraktı	3
Sığır Eti Ekstraktı	3
Mısır Nişastası	1
Sodyum Klorür	5
Agar	13,5

Toz haliden bulunan besiyerinden 40 gram alınarak 1 litrelik konsantrasyonda manyetik karıştırıcı ile ısıtılır ve distile suda eritilerek, otoklava konulur 121 °C'da 15 dakika da steril edilir. Otoklav sonrasında ortalama 50°C'a soğutulur ve %5'lik oranda koyun kanı eklenerek karıştırılır ve petri kutularına dökülür. Sterilizasyon sonrası besiyeri berrak, sarımsak kahverengidir oda sıcaklığında pH:6,8 civarındadır

Tryptic Soy Agar (TSA)

<u>Bileşimi:</u>	<u>g/l</u>
Kazein	15
Soya Unu	5
NaCl	5
Agar-agar	15

Toz halinde bulunan besiyeri, 1 litrede 45 gram olacak şekilde manyetik karıştırıcı ile ısıtılır ve distile suda eritilerek, otoklava konulur 121 °C'da 15 dakika da steril edilir. Otoklav sonrasında el değecek kadar soğutulur petri kutularına dökülür. Sterilizasyon sonrası besiyeri sarımsak kahverengidir oda sıcaklığında pH:6,8 civarındadır.

Mueller Hinton Agar (MHA)

<u>Bileşimi:</u>	<u>g/l</u>
Et ekstraktı	2,0
Kazein hidrolizat	17,5
Nişasta	1,5
Agar-agar	13,0

Toz halinden bulunan besiyerinden 17 gram alınarak 500ml'lik konsantrasyonda manyetik karıştırıcı ile ısıtılır ve distile suda eritilerek, otoklava konular 121 °C'da 15 dakika da steril hale getirilir. Otoklav sonrasında el değecek kadar soğutulur ve ortalama 12.5ml olarak petri kutularına dökülür. Sterilizasyon sonrası besiyeri berrak, sarımsak kahverengidir oda sıcaklığında pH:7,3 civarındadır

Mueller Hinton Buyyon (MHB)

<u>Bileşimi:</u>	<u>g/l</u>
Et ekstraktı	2,
Kazein hidrolizat	17,5
Nişasta	1,5

Toz halinde bulunan besiyerinden 34 gram/litre konsantrasyonda distile-su içinde manyetik karıştırıcı ile ısıtılıp eritilir ve otoklava konular, orada 121°C'da 15 dakika steril hale getirilir ve sterilize edilmiş cam tüplere döküldü. Besiyeri rengi berrak, sarımsı kahverengidir. Sterilizasyon sonrası pH, 25°C'da 7,4±0,2'dir.

3.1.2 Kimyasal Maddeler, boyalar, antibiyotik diski, ve kitleler

- Kristal Viyole
- Lugol
- Alkol
- Sulu Fuksin
- PZR 50-2000bp Marker (Sigma, ABD) (Promega™ 100bp)

- Koagülaz Tavşan plazması ve EDTA (BD,Fransa)
- Hidrojen peroksit (Şifa Kimya,Türkiye)
- Distile su
- STAPH AUREUS Hemagglutination (FUMOZE,Fransa)
- Cefoxitin FOX-30 disklik

3.1.3 PZR Malzemeleri

- EDTA (Sigma) 0,1 M EDTA Hazırlanışı
 - 3.722 gr EDTA
 - 100 ml Distile su
 - 0,2 EDTA

Behere konuldu, distile su ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözüldü.

- PantonValentin Lökosidin Virülans Gen Primerleri
- Fibronektin bağlayıcı protein Virülans Gen Primerleri
- MecAgen primerleri
- *Staphylococcus aureus* Master Mix (Promega/ABD)
 - Distile su
 - PZR tampon
 - MgCl₂
 - dNTP miks
 - Taq DNA polimeraz
- Etidyum Bromür (Sigma, ABD)

0,1 g etidyum bromür, 10 ml distile su içinde çözüldü. Işığa hassas olduğu için alüminyum folyo ile sarılarak + 4 ° C'de saklanmıştır.

- Agoroz (PRONA, ABD)
- 10 x TBE(*Tris/Borate/EDTA*),
- 121.1 gram Tris-baz

- 55.67 gram Borik asit
- 7.45 gram EDTA

Su ilave edilerek son hacim 1 litreye tamamlanmıştır. 37.5 mililitre 10xTBE tamponun pH'ı HCl ile 6.7'ye ayarlanır son hacim su ile 50 ml'ye tamamlanır.

- Yükleme Tamponu 10X, 100mL (DNA Loading Dye) (Promega/ABD)
- Bromfenol Mavisi 250 mg
- Tris pH 7,6 150 mM 33 mL
- Gliserol 60 mL
- dH₂O 7 mL
- PZR marker 50-2000 bp (Sigma/ABD)

Toz halindeki primer ajirojen distile su ile sulandırılarak 10 pikomol olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.1.4 Bakteri suşları

Aralık 2014–Nisan 2015 zaman aralığında Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.'na gönderilen ayaktan ve yatan hastaların bir çok farklı klinik örneklerden izolasyonu yapılan toplam 100 tane *Staphylococcus aureus* izolatu çalışmaya alınmıştır. Bu suşlardan 63'ü MSSA ve 37'si MRSA olarak tanımlanmıştır. Aynı hastaya ait birden çok defa gönderilmiş örneklerden sadece tek bir *S.aureus* suşu çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan *S. aureus* suşları -80 °C saklanıp daha sonra konfirmasyonu yapılarak çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. YÖNTEMLER

Saklanan *S.aureus* suşlar, %5 koyun kanlı agar besiyerlerine ekilmiştir. 36 ± 2 °C'da , ortalama 1 günlük inkübasyon döneminde koyun kanlı agarda üreyebilen bakterilerin tanımlaması için konvasiyonel yöntemler kullanılmıştır.

3.2.1. Gram Boyama

Temiz bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatıldıktan sonra besiyerinde üreyen bakteri kolonisi daha önce damlatılan damlanın içinde iyice ezildi ve ince bir tabaka şeklinde lama yayıldı ve havada kurutulması sağlanmıştır. Havada kurutulan preparat alevden 3 kez geçirilerek fiziksel olarak tespit edilerek ve gram boyama yöntemi uygulanmıştır. Kristal viyole damlatılıp yaklaşık 2 dakika beklendikten sonra lam üzerinde boya su ile yıkandı daha sonra Lugol damlatılarak ortalama 2 dakika beklenerek su ile yıkandı, alkol ile renksiz sıvı gözlenene kadar giderilmiş olup son olarak Sulu fuksin damlatılıp 30 saniye beklenerek suyla yıkanmıştır. Kurutma kağıdı kullanarak hafifçe kurutulan preparat mikroskopun 100x 'lük objektifiyle lama immersiyon yağı damlatıldıktan sonra incelenmiştir. *S.aureus* bakterisi, Gram pozitif olup üzüm salkımı şeklinde topluluklar oluşturan kok morfolojisinde görülmüştür.

3.2.2. Katalaz testi

Katalaz testi lam üzerinde %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ile uygulandı. Testin sonucunda baloncukların görülmesi H_2O_2 'nin su ve oksijene dönüşümünün gösterir ve

test pozitif olarak yorumlaması yapılır. Çalışmada Kontrol suş olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı ve çalışmada kullanılacak tüm Stafilocokların doğrulaması yapılmıştır.

3.2.3. Plazma Koagülaz Testi

Koagülaz, özellikle patojen stafilocoklar tarafından oluşturulan ve kan plazmasını pıhtılaştırıcı bir enzimdir. Koagülaz pozitif olan stafilocokların patojen oldukları kabul edilmekte ve “koagülaz pozitif stafilocok” deyimini *S.aureus* için kullanılmaktadır. Plazma koagülaz testi tavşan plazması içermekte olup, ticari bir firmanın (BD/France) önerileri doğrultusunda üzerine bakteri ilave edilen plazmanın pıhtılaşması pozitif olarak değerlendirildi. Bu testin pozitif kontrolü olarak *S.aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.

3.2.4. Protein A Saptanması

Protein A'nın belirlenmesi koagülaz testinin alternatifidir. Protein A'yı saptamak için ticari olarak kullanılan STAPH AUREUS Hamagglutination (FUMOZE/Fransa) insan fibrinojeni ve “immunoglobulin G” ile kaplanmış lateks partikülleri ayrıcağan reaksiyon kartına damlatılır. Stafilocok kolonisinden bir tahta çubuk yardımıyla alınır ve damlanın içinde ezildikten sonra kart üzerindeki bu karışım 20 saniye dairesel hareket sonunda aglutinasyon gözlenirse *S.aureus* pozitif (+) kabul edildi negatif olan testlerde ise herhangi bir aglutinasyon gözlenmemiştir.

3.2.5. Metisilin Direncinin Saptanması

Metisilin direnci CLSI önerileri temel alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi uygulanmış olup yorumlanması CLSI standartlarına göre yapılmıştır.

Çalışmaya alınan suşların MHB besiyerinde 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonları, MHA besiyerine ekildi ve sefoksitin diski (BD/USA) diski konulmuştur. 24 saat 35°C'de inkübasyondan sonra, inhibisyon zonu ölçülmüştür. Bu kritere göre 21 mm'ye kadar olan zon çapı dirençli ve 22 mm ve sonraki zon çaplarının duyarlı olduğu kabul edilmiştir. Negatif kontrol suşu olarak metisiline duyarlı *S.aureus* ATCC 25923 suşu kullanılırken, pozitif kontrol suşu olarak da metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 700699 (Mu50) suşu kullanılmıştır.

3.2.6. *Staphylococcus aureus* suşlarında virülans ve direnç genlerinin araştırılması

3.2.6.1. *Staphylococcus aureus* kolonilerinden kalıp DNA'nın hazırlanması:

Isı yöntemi ile bakterinin kalıp DNA eldesi.

Katı besiyerinde üreyen bakteri kültüründen 100 µl steril distile su içeren Eppendorf tüpüne yoğun bir şekilde alındı. Sıcak blok'ta 96 °C de 10 dakika ısıtılmıştır. Daha sonra santirfüj de 12000 devirde (rpm) 15 dakika çevirdikten sonra DNA içeren üst sıvı steril bir Eppendorf tüpüne aktarılmıştır.

Isı yöntemi ile kalıp DNA izolasyonu *fnbA* ve *pvl* virülans genlerini saptamada uygun olmadığı anlaşıldıktan sonra hazır DNA kiti kullanılmıştır.

Hazır kit ile bakteri kalıp DNA izolasyonu

ROCHE marka High Pure PCR Product Purification Kiti kullanılmış olup firmanın önerdiği talimatlar takip edilerek DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.2.6.2. *pvl* genlerinin varlığının araştırılması

PZR için Taq polimeraz karışımı (master miks) için hazır kit kullanılmıştır (PROMEGA)

Hazır kitte bulunan maddeler ve miktarlar:

PZR tampon (10 x)	5µl
MgCl ₂ (25 mM)	5µl
dNTP miks (2 mM)	4µl
Taq DNA polimeraz (5U)	0.25µl

PZR solüsyonun hazırlanması:

<u>Bileşim</u>	<u>Miktar (µl)</u>
Master miks	12.5
Kalıp DNA	3
Primerden 2.5x2	5
Distile su	4.5

25 mikrolitrelik bir final solüsyonu hazırlanmıştır. Steril Eppendorff tüplerinde hazırlanan PZR solüsyonu Thermal Cycler cihazına yerleştirildi ve amplifikasyon programı aşağıdaki gibi düzenlenmiştir.

Tablo 1. *Pvl* genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü

Primer	oligonükleotid zinciri	ürün(bç)	PZR döngüsü
Luk-PV-1	5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3' ⁽⁷⁵⁾	433 bç ⁽⁷⁵⁾	94°C, 2 dk, 35 x (94°C 30 saniye; 55°C 45 saniye.; 72°C 75saniye) final (72°C 4 dakika) ⁽¹⁰¹⁾
Luk-PV-2	5'-GCATCAACTGTATTGGATAGCAAAAAGC-3' ⁽⁷⁵⁾		

Elektroforez hazırlanması: 1 gram agaroz 100ml 1X TBE'lik tampon içerisinde eritildi soğutulduktan sonra donmadan 0,5µg/ml olarak etidyum bromür ilave edildi. Karışım jel kalıbına döküldü ve jel donduktan sonra elektroforez tankına yerleştirildi. PZR ürünlerinden e 10µl yükleme tamponundan 2µl alınarak 1X'e dilüe edilerek kuyucuklara yüklenmiştir ve PZR marker 50-2000 bp da jel kuyucuğuna aktarılmıştır. Jel tank içerisinde kapağı kapatılıp 100 V'da 1 saat yürütüldü ve UV aydınlatıcıda görüntülenmiştir. Kontrol olarak negatif; Mu50 (*S.aureus* ATCC 700699), pozitif ;*S.aureus* ATCC 25923 suşunu kullanılmıştır.

pvl genleri PZR ile araştırılması amplifikasyonları bağlanma sıcaklığı 55°C ile denendi ancak istenilen sonuçlar alınmayınca sıcaklık 57°C'e yükseltilmiştir.

3.2.6.3. *mecA* genlerinin varlığının araştırılması

PZR için Taq polimeraz karışımı (master miks) için hazır kit kullanılmıştır (PROMEGA)

Hazır kitte bulunan maddeler ve miktarlar:

PZR tampon (10 x)	5µl
MgCl ₂ (25 mM)	5µl
dNTP miks (2 mM)	4µl

Taq DNA polimeraz (5U) 0.25µl

PZR solüsyonun hazırlanması:

Master miks, 12.5 µl
Kalıp DNA 3 µl
Primerden 2.5x2 5 µl
Distile su 4.5 µl

25 µl'lik bir final solüsyon hazırlandı:

Tablo 2. *mecA1* genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü

	Oligonükleotid zincir	ürün(bç)	PZR zinciri
<i>mecA</i>	F:5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3' ⁽⁷⁷⁾ R: 5-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3' ⁽⁷⁷⁾	532 bç ⁽⁷⁷⁾	94°C, 2 dk, 35 x (94°C'de 30 saniye.; 55°C'de 45 saniye.; 72°C'de 75saniye) final 72°C, 4 dk. ⁽⁷⁶⁾

Steril Eppendorff tüplerinde hazırlanan PZR solüsyonu ThermalCycler cihazına yerleştirildi ve amplifikasyon programı yukarıdaki tablo gibi düzenlenmiştir.

Elektroforez hazırlanması: 1 gram agaroz 100ml 1X TBE'lik tampon içerisinde eritildi soğutulduktan sonra donmadan 0,5µg/ml olarak etidyum bromür ilave edildi. Karışım jel kalıbına döküldü ve jel donduktan sonra elektroforez tankına yerleştirildi.PZR ürünlerinden e 10µl yükleme tamponundan 2µl alınarak 1X'e dilüe edilerek kuyucuklara yüklenmiştir ve PZR marker 50-2000 bp da jel kuyucuğuna aktarılmıştır. Jel tank içerisinde kapağı kapatılıp 100 V'da 1 saat yürütüldü ve UV aydınlatıcıda görüntülenmiştir. Negatif kontrol suş olarak *S. aureus* ATCC 25923 kontrol Pozitif suş olarak metisiline dirençli Mu50 (*S.aureus* ATCC 700699) suşu kullanılmıştır.

mecA geni PZR ile araştırılması amplifikasyonları bağlanma sıcaklığı 55°C ile denendi ancak istenilen sonuçlar alınmayınca sıcaklık 57°C'e yükseltilmiştir.

3.2.6.4. Fibronektin bağlayıcı protein genlerinin araştırılması

fnbA gen bölgesi FNBP's tespit etmek için incelendi. PZR için Taq polimeraz karışımı (master mik's) için hazır kit kullanılmıştır (PROMEGA)

Hazır kitte bulunan maddeler ve miktarlar:

PZR tampon (10 x)	5µl
MgCl ₂ (25 mM)	5µl
dNTP mik's (2 mM)	4µl
Taq DNA polimeraz (5U)	0.25µl

PZR solüsyonunun hazırlanması:

Master mik's,	12.5 µl
Kalıp DNA	3 µl
Primerden 2.5x2	5 µl
Distile su	4.5 µl

25 µl'lik bir final solüsyon hazırlandı:

Steril eppendorf tüplerinde hazırlanan PZR solüsyonu ThermalCycler cihazına yerleştirildi ve amplifikasyon programı aşağıdaki tablo gibi düzenlenmiştir.

Tablo 3. *fnbA* genin araştırılmasında uygulanan PZR'nun sıcaklık döngüsü

Primer	oligonükleotid zincir	ürün(bç)	PZR zinciri
<i>fnbA</i>	F-5'-GCGGAGATCAAAGACAA-3' ⁽⁸⁸⁾ R-5'-CCATCTATAGCTGTGTGG-3'	1279 bç ⁽⁸⁸⁾	95°C 3dakika. 35 siklus (95°C'de 30 saniye, 51°C'de 30 saniye 72°C'de 1 dakika.) 1 final 72°C'de 5 dakika ⁽⁷⁹⁾ .

PZR protokolü için amplifikasyon karışımı yukarıdaki gibi hazırlandı.

Elektroforez hazırlanması: 1 gram agaroz 100ml 1X TBE'lik tampon içerisinde eritildi soğutulduktan sonra donmadan 0,5µg/ml olarak etidyum bromür ilave edildi. Karışım jel kalıbına döküldü ve jel donduktan sonra elektroforez tankına yerleştirildi. PZR ürünlerinden 10µl yükleme tamponundan 2µl alınarak 1X'e dilüe edilerek kuyucuklara yüklenmiştir ve PZR marker 50-2000 bp da jel kuyucuğuna aktarılmıştır. Jel tank içerisinde kapağı kapatılıp 100 V'da 1 saat yürütüldü ve UV aydınlatıcıda görüntülenmiştir. Kontrol olarak negatif suş *S. aureus* ATCC 25923, pozitif kontrol suş olarak *S. aureus* NCTC 8325 kullanılmıştır.

“3.2.7. İstatiksel Değerlendirme”

“MRSA ve MSSA suşlarında saptanan *pvl* ve *fnbA* genlerin varlığı yönünden istatiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığı “ki-kare” ile araştırılmıştır. Altın standart ile karşılaştırılan yöntemler için spesifite değerleri ve %95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama \pm std.sapma değerleri vermiştir”. “İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 16.0 paket programı kullanılmıştır. Buna göre $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.”

4.BULGULAR

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerinden izole edilen ve tarafımızca koloni morfolojisi, Gram boyama, kanlı agar da hemoliz tipi, lam koagülaz deneyi, katalaz testi ve DNaz testi gibi deneyler ile doğrulanması yapılan 100 *S.aureus* suşu çalışmaya alınmıştır (Tablo4).

Çalışılan *S.aureus* suşların metisilin direncini belirlemek için sefoksitin diski (30 µg) ile disk difüzyon testi ve moleküler metisilin direncini ortaya çıkarmak amacıyla PZR yöntemi kullanılarak *mecA* gen bölgesi belirlenmesi yapılmıştır. Yapılan bu deneyler sonucunda 100 *S.aueus* suşunun 37'si MRSA ve 63'ü ise MSSA olarak belirlenmiştir. MRSA ve MSSA izolatlarının tespit edildikleri klinik materyallere göre dağılımları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 4).

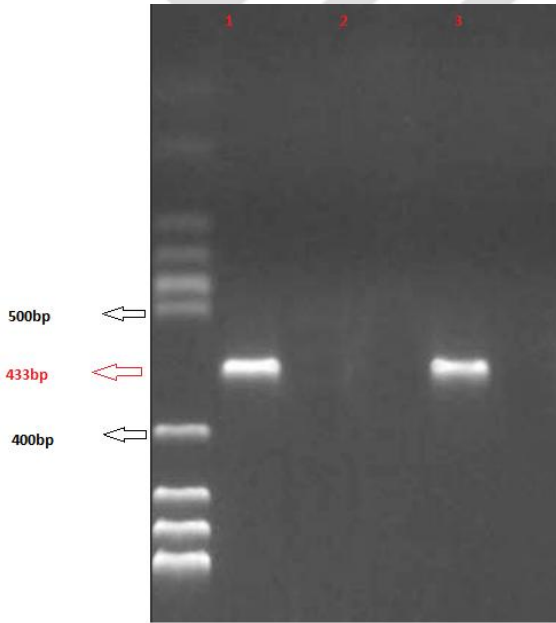
Tablo 4. Çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *S.aureus* suşların dağılımı.

Klinik Örnek	MSSA	MRSA	TOPLAM
Yara sürüntüsü	19	10	29
Trakeal aspirat	16	12	28
Doku biopsisi	11	7	18
Kan	1	7	8
Kateter ucu	4	0	4
Balgam	3	0	3
Boğaz sürüntüsü	2	1	3
Burun sürüntüsü	2	0	2
Plevra sıvısı	2	0	2
Beyin omur ilik sıvısı (BOS)	1	0	1
Kemik iliği	1	0	1
Vajinal salgısı	1	0	1
Toplam	63	37	100

İzole edilen 63 MSSA suşun, 19 (%30,2)'u yara sürüntüsü, 16 (25,4%)'sı trakeal aspirat, 11 (%17,5)'i doku biopsisi, dördü (%6,3) kateter ucu, ve 13 (%20,6)'ü balgam, BOS, kan, kemik iliği, boğaz sürüntüsü, burun sürüntüsü, vajinal salgısı ve plevra sıvısı gibi diğer klinik örneklerinden izole edilmiştir. Ayrıca izole edilen 37 MRSA suşun, 12 (%32,4)'si trakeal aspirat, 10 (%27,0)'u yara sürüntüsü, 7 (%18,9)'si doku biyopsisi, 7 (%18,9)'si kan, ve biri (13,5%)'i boğaz sürüntüsü örneklerden izole edilmiştir.

İncelenen 100 *S.aureus* suşun, 91 (%91.0)'inin %5'lik koyun kanlı besiyerinde beta hemoliz, 4 (%4.0)'ünün alfa hemoliz yaptığını ve beş (%5.0) suşta her hangi bir hemoliz görülmemiştir. Metisilin direncini belirlemek için indikatör olarak kullanılan sefoksitin diski, disk difüzyon yönteminde dört (%4.0) MSSA suşunu MRSA olarak göstermiştir (Tabo 5, 6,7 ve 8) .

Çeşitli klinik örnekten izole edilen 100 *S.aureus* suşun %90'nında *pvl/fbnA* saptanır iken 9 suşun negatif olduğu belirlenmiştir. Virülans faktörü taşıyan 91 *S.aureus* suşunun klinik örneklerle göre dağılımı ise; 27/29 (%93,1)'si yara sürüntüsü, 24/28 (%85,7)'ü trakeal aspirat, 16/18 (%88,9)'sı doku biopsisi, ve 24/25 (%96,0)'ü diğer klinik örneklerden olduğu belirlenmiştir (Resim 1 ve 2).



Resim 1. *pvl* genin jel görüntüsü

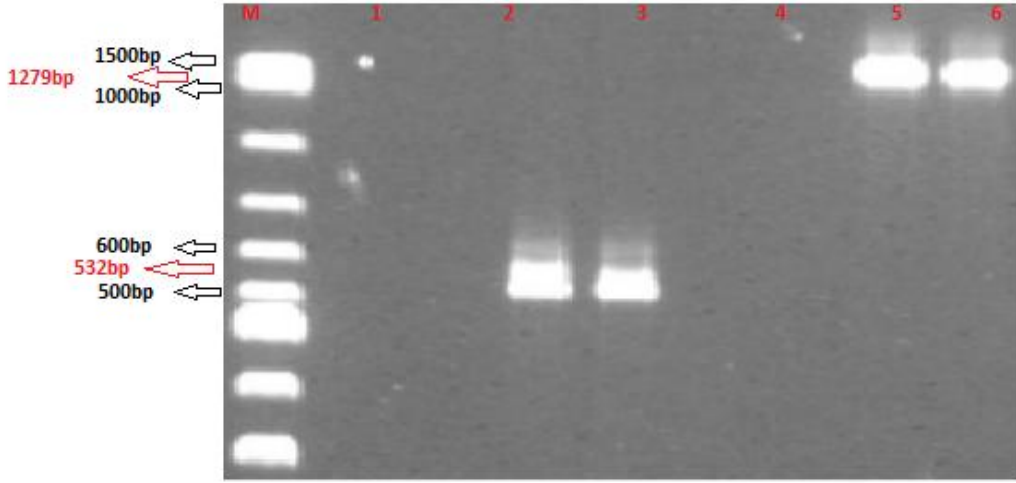
M: Moleküler ağırlık standardı

1 no'lu kuyucuk *pvl* pozitif kontrol suş (ATCC25923)(433 bp)

2 nolu kuyucuk *pvl* negatif kontrol suş (*S.aureus* ATCC 700699=MU50)

3 nolu kuyucuk *pvl* negatif klinik suş

4 no'lu kuyucuk *pvl* pozitif klinik suş



Resim 2. *mecA* ve *fnbA* genlerin jel görüntüsü

M Moleküler ağırlık standardı

1. Kuyucuk *mecA* negatif kontrol suş (ATCC 25923)
2. Kuyucuk *mecA* negatif klinik suş
3. Kuyucuk *mecA* pozitif kontrol suş (*S.aureus* ATCC 700699=MU50) (532 bp)
4. Kuyucuk *mecA* pozitif klinik suş
5. Kuyucuk *fnbA* negatif kontrol suş (ATCC25923)
6. Kuyucuk *fnbA* negatif klinik suş
7. Kuyucuk *fnbA* pozitif kontrol suş (NCTC 8325) (1279 bp)
8. Kuyucuk *fnbA* pozitif klinik suş

Yara sürüntüsünden izole edilen 29 *S.aureus* suşunda 4 *pvl* (13,8%), 18 *fnbA* (62,0%) ve 5 suşta (17,3%) *pvl+* *fnbA* genleri saptanmıştır. İki MSSA suşta (%6,9) ise aranan genler bulunmamıştır. Genlerin suşlara göre dağılımları ise;

19 MSSA suşunda 0 *pvl* (%0), 17 *fnbA* (%89,4) ve 0 *pvl + fnbA* (%0) ve 10 MRSA suşunda ise 4 *pvl* (%40,0), 1 *fnbA* (%10,0) ve 5 *pvl + fnbA* (%50,0) saptandığı görülmüştür (Resim 1 ve 2, ve Tablo 5).

Tablo 5. Yara sürüntü örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.

NO	<i>S.aureus</i>	Hemoliz Tipi	Lateks aglutinasyon	Sefoksitin	PZR		
					<i>mecA</i> geni	<i>Pvl</i> geni	<i>fnbA</i> geni
1	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
2	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
3	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
4	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
5	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
6	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
7	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
8	MRSA	Yok	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
9	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
10	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
11	MSSA	Yok	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
12	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
13	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
14	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
15	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
16	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
17	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
18	MSSA	Yok	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
19	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
20	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
21	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
22	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
23	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
24	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
25	MSSA	β	Pozitif	Dirençli	Negatif	Negatif	Pozitif
26	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
27	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
28	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
29	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif

Trakeal aspirat örneklerinden izole edilen 28 *S.aureus* suşunda 6 *pvl* (21,4%), 15 *fnbA* (53,6%) ve 3 suşta (10,7%) *pvl* + *fnbA* genleri saptanmıştır. İkişer MRSA ve MSSA

suşunda aranan genler saptanmamıştır. Bu iki genin suşlara göre dağılımları ise; 16 MSSA suşunda 2 *pvl* (%12,5), 10 *fnbA* (%62,5) ve 2 *pvl+ fnbA* (%12,5) ve 12 MRSA suşunda ise 4 *pvl* (%33,4), 5 *fnbA* (%41,6) ve 1 *pvl + fnbA* (%8,4) saptandığı belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Trakeal aspirat örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.

NO	<i>S.aureus</i>	Hemoliz tipi	Lateks aglütinasyon	Sefoksitin	PZR		
					<i>mecA</i> geni	<i>pvl</i> geni	<i>fnbA</i> geni
1	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
2	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
3	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
4	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
5	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
6	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
7	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Negatif
8	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
9	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Negatif
10	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
11	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
12	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
13	MSSA	β	Pozitif	Dirençli	Negatif	Pozitif	Negatif
14	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
15	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
16	MSSA	β	Pozitif	Dirençli	Negatif	Negatif	Pozitif
17	MSSA	A	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
18	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
19	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
20	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
21	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
22	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
23	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
24	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
25	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Negatif
26	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
27	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
28	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif

Doku biopsi örneklerinden izole edilen 18 *S.aureus* suşunda 3 *pvl* (%16,7), 7 *fnbA* (%38,9) ve 6 suşta (%33,4) *PVL+* *fnbA* genleri saptanmıştır. 1 MRSA ve 1 MSSA suşunda ise aranan genler saptanmamıştır. Bu iki genin suşlara göre dağılımları ise;

11 MSSA suşunda 0 *pvl* (%0), 7 *fnbA* (%63,6) ve 3 *pvl + fnbA* / (%27,3) ve 7 MRSA suşunda ise 3 *pvl* (%42,8), 0 *fnbA* (%0) ve 3 *pvl+ fnbA* (%42,8) olarak belirlenmiştir (Resim 1 ve 2, ve Tablo7).

Tablo 7. Doku biopsi örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.

NO	<i>S.aureus</i>	Hemoliz tipi	Lateks aglütinasyon	Sefoksitin	PZR		
					<i>mecA</i> geni	<i>PVL</i> geni	<i>fnbA</i> geni
1	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
2	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Negatif
3	MRSA	Yok	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
4	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
5	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
6	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
7	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
8	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
9	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
10	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
11	MSSA	Yok	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
12	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
13	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
14	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
15	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
16	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
17	MSSA	α	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
18	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif

İncelenen diğer klinik örneklerinden (8 kan, 4 kateter ucu, 3 balgam, 3 boğaz salgısı, 2 burun sürüntüsü, 2 plevra sıvısı, birer BOS, kemik iliği ve vajinal salgısı) izole edilen 25 *S.aureus* suşunda 3 *pvl* (%12,0), 14 *fnbA* (%56,0) ve 7 suşta (%28,0) *pvl + fnbA* genleri saptanmıştır. Bir MSSA suşunda aranan genler saptanmamıştır. Bu iki genin suşlara göre dağılımları ise; 17 MSSA suşunda 1 *pvl* (%5,9), 12 *fnbA* (%70,6) ve 3 *pvl*

+ *fnbA* / (%17,6) ve 8 MRSA suşunda ise 2 *pvl* (%25,0), 2 *fnbA* (%25,0) ve 4 *pvl+ fnbA* (%50,0) olarak belirlenmiştir (Resim 1 ve 2, Tablo 8 ve Tablo 9).

Tablo 8. Diğer klinik Örneklerinden (kan, kateter ucu, balgam, boğaz salgısı, burunun sürüntüsü, plevra sıvısı, BOS, kemik iliği ve vajinal salgısı) izole edilen MSSA ve MRSA suşların fenotipik ve genotipik özellikleri.

NO	S.aureus*	Hemoliz Tipi	Lateks aglütinasyon	Sefoksitin	PZR		
					<i>mecA</i> geni	<i>pvl</i> geni	<i>fnbA</i> geni
1	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
2	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
3	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Negatif
4	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
5	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
6	MRSA	A	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Pozitif	Pozitif
7	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
8	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
9	MSSA	A	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
10	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
11	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Negatif
12	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
13	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
14	MSSA	β	Pozitif	Dirençli	Negatif	Pozitif	Negatif
15	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
16	MRSA	β	Pozitif	Dirençli	Pozitif	Negatif	Pozitif
17	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Pozitif	Pozitif
18	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
19	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
20	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
21	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
22	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
23	MSSA	α	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
24	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif
25	MSSA	β	Pozitif	Duyarlı	Negatif	Negatif	Pozitif

*Klinik örnekler; 1- 8 kan, 9- 12 kateter ucu, 13-15 balgam, 16-18 boğaz salgısı, 19-20 burun sürüntüsü, 21-22 plevra sıvısı, 23 BOS, 24 kemik iliği ve 25 vajinal salgısı.

Tablo 9. *S.aureus* suşlarında saptanan virülans faktörlerinin klinik örneğe göre dağılımı.

Klinik Örnek	MRSA (n: 37)			MSSA (n: 63)			Toplam suş (n: 100)		
	<i>pvl</i>	<i>fnbA</i>	<i>pvl+fnbA</i>	<i>pvl</i>	<i>fnbA</i>	<i>pvl+fnbA</i>	<i>pvl</i>	<i>fnbA</i>	<i>pvl+fnbA</i>
Yara sürüntüsü (n:29)	4	1	5	0	17	0	4	18	5
Trakeal aspirat (n:28)	4	5	1	2	10	2	6	15	3
Doku biopsisi(n:18)	3	0	3	0	7	3	3	7	6
Balgam (n:3)	0	0	0	1	2	0	1	2	0
Beyin omur ilik sıvısı (BOS)(n:1)	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Kateter ucu (n:4)	0	0	0	0	1	2	0	1	2
Kemik iliği (n:1)	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Boğaz sürüntüsü (n:3)	0	1	0	0	2	1	0	3	1
Burun sürüntüsü (n:2)	0	0	0	0	2	0	0	2	0
Vajinal salgısı (n: 1)	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Kan (n: 8)	2	1	4	0	1	0	2	2	4
Plevra sıvısı (n: 2)	0	0	0	0	2	0	0	2	0
Toplam örnek (n:100)	13	8	13	3	47	8	16	55	21

Çalışmamızdaki 100 *S.aureus* suşunun 16 (%16,0)'sında *pvl*, 55 (%55,0)'inde *fnbA* ve 21 (%21,0)'inde *pvl + fnbA* genleri saptanmıştır. Bu genlerin dağılımı ise; 63 MSSA suşunda: 3 *pvl* (%4,7), 47 *fnbA* (%74,6) ve 8 *pvl + fnbA* (%12,7) ve 37 MRSA suşunda ise 13 *pvl* (%35,1), 8 *fnbA* (%21,6) ve 13 *pvl+ fnbA* (%35,1) olarak belirlenmiştir. Böylece çalışmamızda 100 *S.aureus* suşunun 37 (%37,0)'sinde *pvl* ve 76 (%76,0)'inde *fnbA* pozitif olduğu saptanmıştır. Bu genlerin suşlara göre dağılımı ise; 37 MRSA suşunun 26 (%70,3)'inde ve 63 MSSA suşunun 11 (%17,4)'inde *pvl* ayrıca 37 MRSA suşunun 21 (%56,7)'inde ve MSSA suşunun 55 (%87,3)'inde *fnbA* pozitif olduğu belirlenmiştir.

MSSA suşlarındaki *fnbA* oranının (%87,3) MRSA suşlarına göre (%56,7) daha yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Ayrıca *pvl* oranının MRSA suşlarında (%70,3), MSSA suşlarına göre (%17,4) daha yüksek görülmüştür ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05) (Tablo10).

Tablo 10. PZR ile *S.aureus* suşlarında saptanan *pvl* ve *fnbA* genlerin dağılımı.

Gen	MRSA (n:37)		MSSA (n:63)		<i>S.aureus</i> (n:100)	
	n	%	n	%	n	%
<i>pvl</i> pozitif(n: 16)	13	35,1	3	4,7	16	16,0
<i>PVL + fnbA</i> pozitif(n: 21)	13	35,1	8	12,7	21	21,0
Toplam <i>PVL</i> pozitif (n: 37)	26	70,3	11	17,4	37	37,0
<i>PVL</i> negatif (n:63)	11	29,7	52	82,6	63	63,0
<i>fnbA</i> pozitif (n: 55)	8	21,6	47	74,6	55	55,0
<i>PVL + fnbA</i> pozitif(n: 21)	13	35,1	8	12,7	21	21,0
Toplam <i>fnbA</i> pozitif (n: 76)	21	56,8	55	87,3	76	76,0
<i>fnbA</i> negatif(n: 24)	16	43,2	8	12,7	24	24,0

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

S.aureus virülans özellikleri çok olsada çoğu vücut florasında bulunabilmektedir. Patojen olan *S.aureus* türlerinde giderek yaygınlaşan antibiyotik direnci özellikle metisiline olan direnç büyük bir sorun oluşturmaktadır.Yetişkin ve çocuk ayırt etmeksizin *S.aureus* yer aldığı ana bölge burun bölgesidir. *S.aureus*'un başka sebeple kolonizasyon alanından farklı alana taşınması olağandır. Taşıyıcılık farklı süreçlerde şekilde görülebilir (80). Nazal *S. aureus* taşıyıcılığı, TK ve HK enfeksiyonların oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. MRSA suşlarının sebebiyet verdiği hastane kaynaklı salgınlar tedavi tercihlerinin azlığı, enfeksiyonun kontrol edilmesini ve tedavide verilen antibiyotiklerle gelen aşırı mali yük gibi sebeplerle son yıllarda dünyanın her bölgesinde ciddi sağlık sorunu oluşturur (81).

Fransa'da 14 yoğun bakım ünitesinde altı ay süreyle hastaların yatma anlarında burunda ve ciltte MRSA kolonizasyonu çerçevesinden değerlendirilmiş ve bu birden fazla merkezli çalışmada, 2347 hastadan 162'sinde (%6,9) MRSA kolonizasyonu saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca yoğun bakım ünitesinde MRSA taşıyıcılık oranının yüksek olduğu ve bu ünitelerde bulunan tüm hastalar üzerinde tarama testleri yapılma ihtiyacı üzerinde durulmuştur. Tarama testleri için alınan örneklerde kültür neticeleri rapor haline getirilene kadar hastalarda kolonizasyon kabul edilerek izolasyon önlemlerinin alınması salgınların önüne geçmekte önemli rol oynamaktadır.

Ülkemizde *S.aureus* taşıyıcılığına yönelik yapılan çalışmada; toplumsal kaynaklı MRSA kolonizasyonu ile alakalı olarak yenidoğan ve 15 yaş aralığındaki 1000 çocukta yaptıkları araştırmada 173 (%17.3) oranında *S. aureus* suşunun izolasyonu yapılmıştır. 1000 suştan %0.5 oranında MRSA tanımlanmıştır (81).

HK-MRSA ile TK-MRSA suşların genelde farklı moleküler ve epidemiyolojik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (83). Epidemiyolojisi farklı örneklerin iyi anlaşılabilmesi için MRSA suşlarına ait moleküler özelliklerin tamamına yakını belirlenmiştir . SCCmec, TK-MRSA ve HK-MRSA suşlarını birbirinden ayırmada önemli bir elementtir. HK-MRSA izolatları genelde SCCmec tip II ve SCCmec III'e sahipken ,TK-MRSA suşları ise SCCmec tip IV ve SCCmec V içermekte olup özellikle de SCCmec tip IVa'ya sahiptir (84). TK-MRSA suşlarında yer alan ve bakterinin patojenitesinde görev alan toksini kodlayan bir önemli moleküler bölgede *pvl* genidir.

Çalışmamızda, farklı klinik materyallerden izolasyonu yapılan 100 *S.aureus* suşunda, disk difüzyon yöntemiyle sefoksitin direnci araştırılmış ve 41 suşun tamamı MRSA olarak tanımlanmıştır. Daha sonra tüm suşlarda PZR ile *mecA* geni araştırılmış ve 41 suşun 37'sinin *mecA* geni taşıdığını (MRSA) ve 4'ünün *mecA* geni taşımadığını (MSSA) anlaşılmıştır. Fenotipik olarak MSSA suşların *mecA* geni içermediği halde yanlışlıkla MRSA olarak gözükmesi, normal PBP genlerinde modifikasyon, normal PBP'lerin aşırı ekspresyonu, stafilokokal beta laktamazların aşırı üretimi (73,85) gibi faktörlere bağlı olabilir. Bunun yanısıra, inkübasyon ısısı, besiyerinde bulunan NaCl konsantrasyonu, bakteri saklama koşulları gibi fiziksel şartların da direnç geninin ekspresyonunu etkilediği bildirilmiştir. Ayrıca stafilokoklarda *mecA* geni taşıdığı halde fenotipik olarak oksasilin ve sefoksitine duyarlı ya da düşük düzeyde dirençli görülen heterorezistan suşların olduğu bilinmektedir (86). Çalışmamızdaki 63 MSSA hiç birisinde *mecA* geni saptanmamıştır. Bu sonuç, fenotipik olarak belirlenen MRSA suşların *mecA* PZR gibi 'altın standart' bir yöntem ile doğrulanması önemini göstermiştir.

S.aureus'taki *fnb* geninin varlığı, organizmalara ilk bağlanma ve epitel hücrelerine girişi sağlar (87). *S.aureus*'taki *fnb* ile yapılan çalışmalar özellikle ülkemizde çok kısıtlıdır. Yapar ve Oğuz'un 2011 de yayınlanan çalışmalarında yaşları 6 ile 14 arasında olan çocukların burun sürüntüsünden izole ettikleri 50 *S.aureus* suşunun 14 (%28)'ünde *fnbA* taşıdıklarını bildirmişlerdir (88).

2008'de 46 *S.aureus* suş üzerine yaptıkları bir çalışmada, bu suşların %76.1 oranında *fnbA* taşıdıklarını bildirmişlerdir (89). 2004 yılında burun sürütüsünden izole edilen 44 *S.aureus* suşunun tamamının (%100) *fnbA* pozitif olduğunu görmüşlerdir (90).

2002 de kistik fibrozlu hastaların hava yolu (18 suş) ve HK pnömoni (14 suş) hastaların salgısından toplam 32 *S.aureus* suşunun %97'sinde *fnbA* saptadıklarını belirtmişlerdir (91). 2005 yılında çeşitli ortopedik ve implant enfeksiyonundan izole edilen 191 *S.aureus* suşunun %98,4'ünde *fnbA* olduğunu bildirmişlerdir (92).

2003 yılında 157 *S.aureus* suş üzerine yaptıkları çalışmada suşların 44 (%28,2)'ünde *fnbA* olduğu gösterilmiştir (93). 2005 de *S.aureus* taşıyıcılarından alınan 178 örnekten 152 (% 85,4)'ünde *fnb* pozitif olduğu saptamışlardır (73).

2009 yılında yaptıkları bir çalışmada 450 MRSA suşların tamamında (%100) *fnb* pozitif bulmuşlar ancak hiç birinde (%0) *pvl* geni saptamamışlardır. Ayrıca, incelenen 46 burun sürüntüsünden izole ettikleri MSSA suşlarında *fnb* geni pozitif olduğunu bildirmişlerdir (94).

Çalışmamızda 63 MSSA suşunun 55 (%87,3)'inde ve 37 MRSA suşun 21 (%56,8) %)'inde olmak üzere toplam 100 *S.aureus* suşunun 76 (%76)'ünd *fnb* pozitif bulunmuştur. Çalışmamızdaki MSSA suşlarındaki *fnbA* oranının (%87,3) MRSA suşlarına göre (%56,8) daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuç, Türkiyede daha önce Yapar ve Oğuz tarafından bildirilen *fnb* pozitif oranına (%28) göre daha yüksek olduğunu ancak diğer ülkelerde yapılan çalışmalara (%28 – 100) benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır (95).

S.aureus'da PVL varlığı, bu organizmanın patojenitesini arttırarak pnömoni ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi ağır hastalıkların oluşmasına neden olur (94). PVL pozitif *S.aureus* bakterilerinin hastane ortamında yayılması ve daha dirençli hale gelmesi çok tehlikelidir. PVL pozitif MRSA'lar en dikkat edilmesi gereken mikroorganizmalardandır (82). PVL gen bölgesi bulunmasını *S.aureus* ile pnömoni geçiren hastalarının ölüm oranı %6 iken, PVL genine sahip *S.aureus* kaynaklı pnömoni hastalarında %32 oranında ölüm beyan edilmiştir (96).

Farklı ülkelerde *S.aureus* suşlarında PVL gen bölgesinin araştırıldığı çalışmalarda farklı oranlarda pozitiflik (%0,44-%72) saptanmıştır (90,91). Amerika Birlesik Devletleri'nde 2006 yılında, 11 şehir hastanelere cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu ile gelen hastalarda yapılan bir çalışmada; saptanan 249 MRSA suşlarının %50'sinde PVL pozitifliği bildirmişlerdir. Avrupa'da ise MRSA suşlarında %1-3 oranında PVL pozitifliği bildirilmektedir (99). Blain ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada YBÜ'de yatmaktan olan 840 hastanın 266'sında (%31.7) PVL kolonizasyonu belirlenmiş olup ve bunların 46 tanesinde bakteriyemi geliştiğini görmüşlerdir. PVL pozitif MRSA'ya sahip hastalarda PVL gen bölgesine sahip olmayan MRSA hastalara göre bakteriyemi ve invazyonun erken geliştiğini belirlemişlerdir (100). Elli *S.aureus* suşu üzerine yapılan bir çalışmada suşların %30'u *mecA* genine sahip olduğu % 6'sının ise PVLgeninin pozitif olduğunu ve *mecA* geni pozitif saptanan suşların tamamında PVL negatif olduğunu bildirmişlerdir (101).

İran da Taleghani Hastanesinde yatan hastalardan toplanan 95 *S. aureus* suşunda *PVL* genin varlığını araştırılmıştır. MRSA suşlarının 6 (%7.2)'sında ve MSSA suşunun 4 (% 33.3)'ünde *PVL* pozitif saptanmışlardır (102). İran da yapılan bir başka çalışmada , 103 MRSA izolatları, *fnb* ve *pvl* genlerinin bulunması sırasıyla % 83.5 ve % 1.9 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, MRSA'nın klinik izolatları arasında *PVL* toksininin düşük prevalans oranını göstermiştir (102).

Fransa da 593 MRSA suşu üzerine yaptıkları araştırmada *PVL* pozitifliği %14 olarak bulunmuştur. Hastane kökenli enfeksiyon ile ilişkili MRSA izolatlarında *PVL* genleri tespit edilmemiştir (104).

2017 yılında Japonya'da ayakta tedavi gören hastalardan izole edilen 854 *S.aureus* suşunun 219'nun MRSA olarak tanımlanmışlardır. Bu suşların, 29 (%13,2)'unda ayrıca 190 *PVL* negatif MRSA suşunun 189 (%99,4)'unda *fnbA* bulmuşlardır (105).

Kolombiya Bucaramanga'da Mart 2007-Mart 2009 tarihleri arasında bir üniversite hastanesinde lokal veya sistemik enfeksiyonlar bulunan pediatrik hastalardan toplam 53 MRSA suşu toplamışlardır. PZR ile yaptıkları deneylerin sonucunda bu suşların %83'ünde ise *fnb* ve %88'inde *PVL* görmüşlerdir. Bu Çalışmaya dahil edilen *S. aureus* suşlarında *PVL* varlığı saptanmasının köken, örnek türü ve sefoksitin duyarlılığına göre dağılımı açısından farklılık olduğu düşünülmüştür (106).

Japonya'nın Okinawa bölgesinde 2008-2010 yılları arasında yumuşak doku ve deri enfeksiyonlarından izolasyonu yapılan 276 *S.aureus* suşta %12 oranında *PVL* pozitif iken 99 MRSA suşu arasında ise 12 (% 12.1) 'sinde *PVL* pozitif tespit etmişlerdir (107).

Çin'de elde edilen 120 MRSA suşlardan 8 (%6.7)'inde *PVL* pozitif bulmuşlardır. Bu çalışmada,TK-MRSA suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlı kaldıklarını ve çoğunlukla faj kaynaklı bir lökotoksin olan *PVL*'yi kodlayan *PVL* genini taşıdıklarını desteklenmiştir (108).

Endonezya' da 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada klinik *S. aureus pvl* pozitif *S.aureus* prevelansı % 18.5 olarak saptanmıştır. *PVL* pozitif *S.aureus* suşlarının %

79.2'si cerahat materyalinden izole edilmiştir (109). Oxfordshire bölgesindeki ana hastanelerdeki *S.aureus* taşıyıcılarından alınan 178 örnekten 6 örnek (% 4) *PVL* geni taşıdığını göstermişlerdir (110). Tayvan'da stafilotoksik toksik şok sendrom ve haşlanmış deri sendromlu çocuklardan izole edilen 11 MRSA suşunun 4 (%36,3)'ünde *PVL* pozitif ve 5 MSSA suşunun hiçbirinde (%0) *PVL* saptanmamıştır (111).

Ülkemizde bu konuda yapılan çalışmalarda; Öksüz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 22 MRSA izolatından 9 (%41)'unda *PVL* pozitifliği saptamışlardır (112).

Kılıç ve arkadaşları 4 yıl boyunca izole edilen 385 MRSA suşunun 5 (%1,3)'inde *PVL* pozitifliği bulmuşlardır (113).

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 2007-2010 seneleri arasında çeşitli klinik materyallerden izolasyonu yapılan 147 *S.aureus* suşlarına ait virülans faktörleri moleküler yöntem ile araştırılmış ve hastane ya da toplum kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen 147 *S.aureus* suşunun 6 (%4.0)'sında *PVL* bulmuşlardır (114).

Ülkemizde *PVL* oranının MRSA suşlarında %0– 41 ve MSSA suşlarında ise %7,6-9,3 arasında değiştiği anlaşılmaktadır. Çalışmamızdaki *PVL* oranlarımızın, ülkemizdeki diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda gerek MRSA (%70,3) ve gerekse MSSA (%17,4) suşlarımızda çok yüksek olduğunu göstermektedir. Ülkemizin dışında diğer ülkelerden bildirilen çalışmalarla kıyasladığımızda Kolombiya Bucaramanga'daki çalışmanın dışında saptanan yüksek *PVL* oranı (%88.0), çalışmamızdaki *PVL* oranımızın çok yüksek olduğunu göstermiştir .

Sonuç olarak çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 *S.aureus* suşunun %76,0'ünde *fnbA* ve %37'sinde *pvl* saptandığı görülmüştür. MSSA suşlarındaki *fnbA* oranının MRSA suşlarına (%56,8) göre daha yüksek (%87,3) saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Ayrıca *pvl* oranının MSSA suşlarına (%17,4) göre MRSA suşlarında daha yüksek (%70,3) görülmüştür ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.05).

Virülans faktörünün sayısı arttıkça *S.aureus* suşlarının patojenitesinin de daha şiddetlendiği bilinmektedir. Çalışmamızda 13 (%13,0) *S.aureus* suşunda üç (*mecA*, *fnbA* ve *pvl*), sekiz *S.aureus* (%8.0) suşunda iki (*fnbA* ve *pvl*) ve 50 (%50,0) *S.aureus* suşunda *fnbA* veya *pvl* görülmüştür. Balgam, BOS, kemik iliği, boğaz sürüntüsü, burun

sürüntüsü, vajinal salgısı, kan ve plevra sıvısının örneklerin tamamında (%100); yara sürüntü örneğinin %93,1 (27/29)'inde, doku biopsi örneğinin %88,9 (16/18)'unda ve trakeal aspirat örneğinin %85,8 (24/28)' inde *fnbA/pvl* görülmüştür.

Çalışmamızda saptanan *fnbA* ve *pvl* oranlarının gerek ülkemizdeki çalışmalarla gerekse diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla karşılaştığımızda *fnbA* oranımızın (%76,0) *PVL* oranımıza (%37,0) göre nispeten daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızdaki MSSA suşlarındaki *fnbA* oranının (%87,3) MRSA suşlarına göre (%56,8) daha yüksek olduğu da görülmüştür.

Bu nedenle, özellikle *S.aureus* gibi çeşitli virülans faktörü taşıma potansiyeli olan patojen bakterilerin hastanelerde ve toplumda yayılmasını önlemek için etkili bir enfeksiyon kontrol ve tedavi stratejinin uygulanması sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Culos KA, Cannon JP, Grim SA. Alternative agents to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Am J Ther 2011 [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21642833.
- 2- Ippolito G, Leone S, Lauria FN, Nicastri E, Wenzel RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the superbug. Int J Infect Dis 2010; 14(Suppl 4): S7-11.
- 3- Özel, Emin. *Metisiline dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA) Suşlarında mecA Geninin Tespitinde Evigene Testi, Latex Aglütinasyon Testi Ve Pzr Yönteminin Karşılaştırılması*. Diss. SDÜ Tıp Fakültesi, 2011.
- 4- Ozel G, Aslan V, Bahar Erdem G, Cagatay M, Sencan I, Mert A. Comparison of oxacillin, cefoxitin, ceftizoxime, and moxalactam disk diffusion methods for detection of methicillin susceptibility in staphylococci. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(2): 258-65.
- 5- Gülay Z. Gram pozitif bakteri enfeksiyonları: direnç ve epidemiyoloji. *Ankem Dergisi*, Cilt 22, Sayı Ek-2, s 276-286, 2008.
- 6- Parisi, JOSEPH T. "Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*." *Microbiological reviews* 49.2 (1985): 126.
- 7- Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustaçelebi S. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999; 339-47.
- 8- Ünal, S. "Staphylococcus aureus: Direnç Mekanizmaları." *İçinde" Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (yazarlar). Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi(2004): 23-38.*

- 9- Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: related infections and antibiotic resistance. *Int J Infect Dis* 2010; 14(Suppl 4): S19-22.
- 10- BERKİTEN, R., Staphylococcus. *Tıbbi Mikrobiyoloji-2*- Ed: Bozkaya, E. Nobel Tıp Kitabevleri, (2005). s: 3-11
- 11- Maza M.L., Pezzlo, M.T., BARON, E. *Color Atlas of Diagnostic Microbiology*. Mosbyyear book.inc. (1997) p: 32-39.
- 12- Kloos, W. E., and T. L. Bannerman. "Staphylococci and Micrococcus," Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.): *Manual of Clinical Microbiology*, 7. baskı" kitabında s. 264-82." (1999).
- 13- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Staphylococcus, micrococcus, and similar organisms. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. St.Louis, Missouri. Mosby Elsevier. 12th edition. 2007; 254-63.
- 14- Moreillon P, Que Y, Glauser MP. Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). 6th edition. *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia : Elsevier; 2005; 2321-2351.
- 15- Lowy, Franklin D. "Staphylococcus aureus infections." *New England journal of medicine* 339.8 (1998): 520-532.
- 16- ÇALIK, Z., "Koagülaz olumlu ve olumsuz stafilokok suşlarında metisilin direnci ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları." Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (1998).
- 17- Kutlu, S. B. "Çeşitli klinik materyallerden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direnci ve E-Test İle vankomisin MIC değerlerinin araştırılması." *İstanbul. Uzmanlık Tezi. TC Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği* (2006).
- 18- Leleoğlu, Necdet. "Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri." (1979).

- 19- Hasbek, M., Hakgüdenler, Y., Kaya, S., ve Bakıcı, Z. M. "Stafilokoklarda metisilin direncinin farklı yöntemlerle belirlenmesi ve çoğul antibiyotik direnci." *Cumhuriyet Tıp Derg* 24.4 (2002): 179-84.
- 20- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Dördüncü baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2004 Sf: 495-501,711,
- 21- Topçu W. A. Söyletir G. Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İkinci cilt. Nobel Tıp Kitapevleri; 2002 sf:1507-1516
- 22- Bremer P.J., Fletcher, G.C., Osborne C., "Staphylococcus aureus". New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited Private Bag 4704, Christchurch, New Zealand (2004).
- 23- Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. Tıbbi Mikrobiyoloji (6. Baskı). Başustaoğlu A.C. Atlas Kitapçılık. 2010:209-224.
- 24- Jr. Winn W., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop G., Schreckenberger P., WoodsG., Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Baltimore: Lipincott Williams & Wilkins. 2006:623-71.
- 25- Dassy, B., T. Hogan, T. J. Foster, and J. M. Fournier "Involvement of the accessory gene regulator (agr) in expression of type 5 capsular polysaccharide by Staphylococcus aureus." *Microbiology* 139.6 (1993): 1301-1306.
- 26- Dassy, Bruno, and Jean-Michel Fournier. "Respiratory activity is essential for post-exponential-phase production of type 5 capsular polysaccharide by *Staphylococcus aureus*." *Infection and immunity* 64.7 (1996): 2408-2414.
- 27- Thakker, M., J.-S. Park., V. Carey, and J. C. Lee. "*Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model." *Infection and immunity* 66.11 (1998): 5183-5189.

- 28- Nilsson, I.-M., J. C. Lee, T. Bremell, C. Ryden, and A. Tarkowski. "The role of staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis." *Infection and immunity* 65.10 (1997): 4216-4221.
- 29- Que A, M Philippe Staphylococcus aureus (including staphylococcal toxic shock). In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 2543–2579
- 30- Lee, Chia Y., and Jean C. Lee. "Staphylococcal capsule." *Gram-Positive Pathogens, Second Edition*. American Society of Microbiology, 2006. 456-463.
- 31- Aydın, N., İzgür, M., Diker, K. S., Yardımcı, H., Esendal, Ö., Paracıkoğlu, J., & Akan, M. "Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)." *Paracıkoğlu J.(Editör). Chlamydia ve Chlamydomphila İnfeksiyonları, İlke-Emek Yayınları, Ankara* (2006): 305-312.
- 32- Van Langevelde, P., Van Dissel, J. T., Ravensbergen, E., Appelmelk, B. J., Schrijver, I. A., & Groeneveld, P. H. P. "Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from Staphylococcus aureus: quantitative measurements and biological reactivities." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 42.12 (1998): 3073-3078.
- 33- Dündar, V., Öztürk Dündar D, Stafilokok İnfeksiyonları. İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2. Ed: Willke Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay, M. Nobel Tıp Kitabevi, Ankara. s: 1507-1517 (2002).
- 34- Bilgehan, H. "Klinik Mikrobiyoloji (Özet Bakteriyoloji)." *Barış Yayınları, İzmir* 25 (2000).
- 35- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The Gram Positive Cocci. The Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology.6th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co.2006:623-671.
- 36- Novick, RICHARD P. "Pathogenicity factors and their regulation." Gram-positive pathogens. ASM Press, Washington, DC (2000): 392-407.

- 37- Yavari SA. “Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokok suşlarının koagülaz özelliğinin tavşan ve insan plazması ile denenmesi ve aynı suşların penisilinaz aktivitesi ile metisilin dirençlilik oranı”. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (1992).
- 38- Levinson W, Jawetz E, 2004. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Çeviri Ed: Özgünen T. Yedinci Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara. s: 357
- 39- Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Lab Invest.* 2007 Jan;87(1):3-9.
- 40- Morgan M. *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine leukocidin, and necrotising pneumonia. *BMJ* 2005 8;331(7520):793-794.
- 41- Garnier F, Tristan A, François B, Etienne J, Delage-Corre M, Martin C, Liassine N, Wannet W, Denis F, Ploy MC. "Pneumonia and new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone." *Emerging infectious diseases* 12.3 (2006): 498.
- 42- Lapins, Jan, Ye, W., Nyrén, O., & Emtestam, L. "Incidence of cancer among patients with hidradenitis suppurativa." *Archives of dermatology* 137.6 (2001): 730-734.
- 43- Edwards MS, Baker CJ: Sepsis in the newborn, “Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL (eds): Krugman’s Infectious Diseases of Children, 11. baskı” kitabın-da s.545-61, Mosby, Philadelphia (2004)
- 44- Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG: Neonatology, 6.baskı, s.665-72, McGraw Hill Lange, New York (2009).
- 45- Palazzi DL, Klein JO, Baker CJ: Bacterial sepsis and meningitis, “Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ (eds): Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant, 6. baskı” kitabında s.247-96, Saunders Elsevier, Philadelphia (2006).

- 46- Schelonka, R. L., B. J. Freij, and G. H. McCracken. "Bacterial and fungal infections." *Avery's Neonatology, 6th edition Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins* (2005): 1235-1273.
- 47- Stoll, Barbara J. "Infections of the neonatal infant." *Textbook of pediatrics* (2007): 794-811.
- 48- Estripeaut, D., and X. Sáez-Llorens. "Perinatal bacterial diseases." *Feigin RD, Cherry JD, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders* (2009): 1006-7
- 49- Polin, Richard A. "Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis." *Pediatrics* 129.5 (2012): 1006-1015
- 50- Gündeş G, Karadenizli A, Willke A. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında çoğul antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 2000;15; 303-306.
- 51- Rammelkamp, Charles H., and Thelma Maxon. "Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin.*." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 51.3 (1942): 386-389.
- 52- Chambers, Henry F. "The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?." *Emerging infectious diseases* 7.2 (2001): 178.
- 53- Kernodle, D. S. "In Gram-Positive Pathogens VA Fischetti et al." *Am. Soc. Microbiol., Washington, DC* (2000).
- 54- Jevons, M. Patricia. "'Celbenin'-resistant staphylococci." *British medical journal* 1.5219 (1961): 124.
- 55- Cosgrove, Sara E., Sakoulas, G., Perencevich, E. N., Schwaber, M. J., Karchmer, A. W., & Carmeli, Y. "Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis." *Clinical infectious diseases* 36.1 (2003): 53-59.

- 56- Baba, Tadashi, F. Takeuchi, M. Kuroda, H. Yuzawa, K. Aoki, A. Oguchi, Y. Nagai, N. Iwama, K. Asano, T. Naimi, H. Kuroda, L. Cui, K. Yamamoto, and K. Hiramatsu. "Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA." *The Lancet* 359.9320 (2002): 1819-1827.
- 57- Fey, P. D., M. E. Saïd-Salim, S. H. Hinrichs, D. J. Boxrud, C. C. David, B. N. Kreiswirth, and P. M. Schlievert. "Comparative molecular analysis of community-or hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 47.1 (2003): 196-203.
- 58- Katayama, Y., T. Ito, and K. Hiramatsu. "A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 44.6 (2000): 1549-1555.
- 59- Ma, Xiao Xue, T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. BoyleVavra, R. S. Daum, and K. Hiramatsu. "Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 46.4 (2002): 1147-1152.
- 60- Hartman, BARRY J., and A. L. E. X. A. N. D. E. R. Tomasz. "Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*." *Journal of bacteriology* 158.2 (1984): 513-516.
- 61- Song, Min Dong, Wachi, M., Doi, M., Ishino, F., & Matsuhashi, M. "Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion." *FEBS letters* 221.1 (1987): 167-171.
- 62- Ghuysen, Jean-Marie. "Molecular structures of penicillin-binding proteins and β -lactamases." *Trends in microbiology* 2.10 (1994): 372-380.

- 63- Tomasz, A., S. Nachman, and H. Leaf. "Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 35.1 (1991): 124-129.
- 64- Finan, J. E., Rosato, A. E., Dickinson, T. M., Ko, D., & Archer, G. L.. "Conversion of oxacillin-resistant staphylococci from heterotypic to homotypic resistance expression." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 46.1 (2002): 24-30.
- 65- Ay S, Tekerekoğlu MS, Bayraktar M, Abut L, Duman B. Klinik örneklerden izole edilen koagülaz negatif stafilokok türlerinde "slime" oluşumu ve antibakteriyellere duyarlılığı, ANKEM Derg 2002;16(1):40-3.
- 66- Christensen, Gordon D., Simpson, W. A., Bisno, A. L., & Beachey, E. H.. "Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces." *Infection and Immunity* 37.1 (1982): 318-326.
- 67- Kotilainen, Pirkko, Jukka Nikoskelainen, and Pentti Huovinen. "Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococcal blood isolates with special reference to adherent, slime-producing *Staphylococcus epidermidis* strains." *Scandinavian journal of infectious diseases* 23.3 (1991): 325-332.
- 68- Potts JR, Campbell ID. Fibronectin structure and assembly. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6:648–655.
- 69- Zuo, Q. F., Cai, C. Z., Ding, H. L., Wu, Y., Yang, L. Y., Feng, Q., Zou, Q. M "Identification of the immunodominant regions of *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein A." *PloS one* 9.4 (2014): e95338
- 70- Foster, T. J. "The remarkably multifunctional fibronectin binding proteins of *Staphylococcus aureus*." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 35.12 (2016): 1923-1931.

- 71- Signa's C, Raucchi, G., Jönsson, K., Lindgren, P. E., Anantharamaiah, G. M., Höök, M., & Lindberg, M.. Nucleotide sequence of the gene for a fibronectin-binding protein from *Staphylococcus aureus*: use of this peptide sequence in the synthesis of biologically active peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:699–703.
- 72- Jonsson, K. E. N. T., Jensen, J. A., Goodson 3rd, W. H., Scheuenstuhl, H. E. I. N. Z., West, J., Hopf, H. W., & Hunt, T. K. "Tissue oxygenation, anemia, and perfusion in relation to wound healing in surgical patients." *Annals of surgery* 214.5 (1991): 605.
- 73- Peacock SJ. *Staphylococcus*. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G, editors. *Topley wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th ed. London: Hodder Arnold; 2005. pp. 771–816.
- 74- Greene C, McDevitt D, Francois P, et al. Adhesion properties of mutants of *Staphylococcus aureus* defective in fibronectin-binding proteins and studies on the expression of *fnb* genes. *Mol Microbiol* 1995; 17:1143–1152.
- 75- Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gaudochon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clinical Infectious Disease* 1999;29:1128–32.
- 76- McClure, Jo-Ann, et al. "Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Panton-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci." *Journal of clinical microbiology* 44.3 (2006): 1141-1144.
- 77- Boşgelmez-Tınaz, G., Ulusoy, S., Arıdoğan, B., & Coşkun-Arı, F. "Evaluation of different methods to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* and their clinical laboratory utility." *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 25.6 (2006): 410-412.

- 78- JÖNSSON, K., SIGNÄS, C., MÜLLER, H. P., & LINDBERG, M. (1991). Two different genes encode fibronectin binding proteins in *Staphylococcus aureus*. *The FEBS Journal*, 202(3), 1041-1048
- 79- Oguzkaya-Artan, M., Artan, C., Baykan, Z., Sakalar, C., Turan, A., & Aksu, H. (2015). A study of *Staphylococcus aureus* nasal carriage, antibacterial resistance and virulence factor encoding genes in a tertiary care hospital, Kayseri, Turkey. *Nigerian journal of clinical practice*, 18(5), 594-600.
- 80- Gould, I. M. "The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Journal of Hospital Infection* 61.4 (2005): 277-282.
- 81- Gorwitz, RJ., Jernigan, DB., Powers, JH., Jernigan, JA., and Participants in the Gould IM. The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2005;61:277-82).
- 82- Şahin H. Toplumda kazanılmış metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kolonizasyonunun epidemiyolojisi. Yüksek lisans tezi İstanbul, 2003.
- 83- Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J "Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Pantone-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence." *Emerging infectious diseases* 9.8 (2003): 978.
- 84- Abdel-Haq, N., Al-Tatari, H., Chearskul, P., Salimnia, H., Asmar, B. I., Fairfax, M. R., & Amjad, M. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized children: correlation of molecular analysis with clinical presentation and antibiotic susceptibility testing (ABST) results." *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* 28.5 (2009): 547.
- 85- McDougal L, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* 1986;23:832-839.

- 86- Griethuysen A, Pouw M, Leeuwen N, et al. Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1999;37:2789-2792.
- 87- Piroth, Lionel, Que, Y. A., Widmer, E., Panchaud, A., Piu, S., Entenza, J. M., & Moreillon, P. "The fibrinogen-and fibronectin-binding domains of *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein A synergistically promote endothelial invasion and experimental endocarditis." *Infection and immunity* 76.8 (2008): 3824-3831.
- 88- Yapar N, Avkan Oğuz V. An investigation of genes coding fibronectin binding proteins in *Staphylococcus aureus* isolated from carriers aged between 6 and 14 years. *Turk J Med Sci* 2011; 41 (3): 543-547.
- 89- Nashev D, Toshkova K, Salasia SI, Hassan AA, Lämmle C, Zschöck M. Distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from stable nasal carriers *FEMS Microbiol Lett.* 2004 1;233(1):45-52.
- 90- Zmantar T, Chaieb K, Makni H, Miladi H, Abdallah FB, Mahdouani K, Bakhrouf A. Detection by PCR of adhesin genes and slime production in clinical *Staphylococcus aureus*. *J Basic Microbiol.* 2008 ;48(4):308-14.
- 91- Mongodin E, Bajolet O, Cutrona J, Bonnet N, Dupuit F, Puchelle E, de Bentzmann S. Fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* are involved in adherence to human airway epithelium. *Infect Immun.* 2002 ;70(2):620-30.
- 92- Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Baldassarri L, Montanaro L. Prevalence of *cna*, *fnbA* and *fnbB* adhesin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from orthopedic infections associated to different types of implant. *FEMS Microbiol Lett.* 2005 May 1;246 (1):81-6.
- 93- Tristan A, Ying L, Bes M, Etienne J, Vandenesch F, Lina G. Use of multiplex PCR to identify *Staphylococcus aureus* adhesins involved in human hematogenous infections. *J Clin Microbiol* 2003;41(9): 4465- 4467.

- 94- Neela V, Mohd Zafrul A, Mariana NS, van Belkum A, Liew YK, Rad EG. Prevalence of ST9 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs and pig handlers in Malaysia. *J Clin Microbiol.* 2009;47(12):4138–40.
- 95- Shrestha B. Review on Panton Valentine leukocidin toxin carriage among *Staphylococcus aureus*. *J Nepal Health Res Counc.* 2013;11(25):305–12.
- 96- Kollef, Marin H., and Scott T. Micek. "Staphylococcus aureus pneumonia: a “superbug” infection in community and hospital settings." *CHEST Journal* 128.3 (2005): 1093-1097.
- 97- Witte W, Braulke C, Cuny C, Strommenger B, Werner G, Heuck D, Jappe U, Wendt C, Linde HJ & Harmsen D. "Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton–Valentine leukocidin genes in central Europe." *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 24.1 (2005): 1-5.
- 98- Ramdani-Bouguessa, N., M. Bes, H. Meugnier, F. Forey, M. E. Reverdy, G. Lina, F. Vandenesch, M. Tazir, and J. Etienne. "Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 50.3 (2006): 1083-1085.
- 99- Moran, Gregory J., Krishnadasan, A., Gorwitz, R. J., Fosheim, G. E., McDougal, L. K., Carey, R. B., & Talan, D. A.. "Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department." *New England Journal of Medicine* 355.7 (2006): 666-674.
- 100- Blain KP, Tuohy MJ, Procop GW. Progression to bacteremia in critical care patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing Panton-Valentine leukocidin. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;68(1):28-33.
- 101- Motamedi H, Rahmat Abadi SS, Moosavian SM, Torabi M. The Association of Pantone-Valentine leukocidin and *mecA* Genes in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*


- Isolates From Patients Referred to Educational Hospitals in Ahvaz, Iran. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8(8):e22021.
- 102- Khosravi AD, Hoveizavi H, Farshadzadeh Z. The prevalence of genes encoding leukocidins in *Staphylococcus aureus* strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital, Ahvaz, Iran. *Burns.* 2012;38(2):247–51.
- 103- Taromian, Maria, Amir Peymani, and Masoumeh Aslanimehr. "Frequency of Fibronectin Binding Protein A and Panton-Valentine Leukocidin in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Collected From Educational Hospitals in Qazvin, Iran." *Biotechnology and Health Sciences* 3.1 (2016).
- 104- Dufour, P., Y. Gillet, M. Bes, G. Lina, F. Vandenesch, D. Floret, J. Etienne, and H. Richet. "Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin." *Clinical Infectious Diseases* 35.7 (2002): 819-824.
- 105- Takadama S, Nakaminami H, Aoki S, Akashi M, Wajima T, Ikeda M, "Prevalence of skin infections caused by Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan, particularly in Ishigaki, Okinawa." *Journal of Infection and Chemotherapy* (2017).
- 106- Machuca, Mayra Alejandra, Luis Miguel Sosa, and Clara Isabel González. "Molecular typing and virulence characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pediatric patients in Bucaramanga, Colombia." *PLoS One* 8.8 (2013): e73434.
- 107- Mine, Y., Nakasone, I., Yamamoto, Y., Utani, A., Yamane, N., Uezato, H., & Takahashi, K. "Dissemination of Panton–Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Okinawa, Japan." *The Journal of dermatology* 40.1 (2013): 34-38.
- 108- Okuma, K. Iwakawa, J. D. Turnidge, W. B. Grubb, J. M. Bell, F. G. O'Brien, G. W. Coombs, J. W. Pearman, F. C. Tenover, M. Kapi, C. Tiensasitorn, T. Ito, and K.

- Hiramatsu."Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community." *Journal of Clinical Microbiology* 40.11 (2002): 4289-4294.
- 109- Santosaningsih, D., Santoso, S., Budayanti, N. S., Suata, K., Lestari, E. S., Wahjono, H. Snijders, S. V. "Characterisation of clinical *Staphylococcus aureus* isolates harbouring *mecA* or Panton–Valentine leukocidin genes from four tertiary care hospitals in Indonesia." *Tropical Medicine & International Health* 21.5 (2016): 610-618.
- 110- Peacock SJ, Moore CE, Justice A, Kantzanou M, Story L, Mackie K, et al. Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 2002;70(9):4987–96.
- 111- Chi CY, Wang SM, Lin HC, Liu CC. A clinical and microbiological comparison of *Staphylococcus aureus* toxic shock and scalded skin syndromes in children. *Clin Infect Dis.* 2006;42(2):181–5.
- 112- Oksüz L, Gürler N, Güner S, Kayacan B.Ç. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suslarında Panton-Valentine Lökosidin (PVL) Varlığının Arastırılması: Ön Çalışma. 23. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi. Çesme-İzmir, 28 Mayıs-01 Haziran 2008.
- 113- Kilic, A., Guclu, A. U., Senses, Z., Bedir, O., Aydogan, H., and Basustaoglu, A. C. "Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization and panton-valentine leukocidin gene occurrence for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006." *Antonie Van Leeuwenhoek* 94.4 (2008): 607.
- 114- Yılmaz S, Kılıç A, Karagöz A, Bedir O, Uskudar Güçlü A, Başustaoğlu AC. Investigation of various virulence factors among the hospital and community-acquired *Staphylococcus aureus* isolates by real-time PCR method].*Mikrobiyol Bul*2012 ;46(4):532-45.

- 115- The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G. Eds. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Ed, Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2006: 539-576.
- 116- Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of meticillin resistance in patients with Staphylococcus aureus bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis, 2005; 52:113-22.



ETİK KURUL ONAYI

 **İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU 

Sayı : 1662 Tarih : 10.09.2015

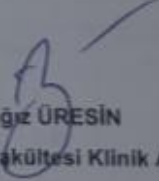
Konu : Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU

Sayın Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 08/09/2015 gün ve 284552 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Neslihan CİHANOĞLU'nun yürüteceği 2015/1620 dosya numaralı "Staphylococcus Aureu Suşlarında Virülans Faktörlerin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 28/08/2015 tarih ve 14 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				
DÜŞÜNMEYEN TARAFI	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU		
	ADRESİ	LÜ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL BİRİMİ KÜTÜPHANE KAT:3 FATİH İSTANBUL		
	TELEFON	0 (212) 414 21 53		
	FAKS	0 (212) 414 21 53		
	E-POSTA	etik@kurulistanbul.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	"Sağlıklı İnsanlar Arasında Virüsün Farklılaşma Araştırması"		
	KURULUN BAŞKANININ ADI	Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	Mikrobiyoloji		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	ARAŞTIRMAYI BAŞLATAN ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		

DEĞERLENTİ	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgular Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgiendirildiğine Dair Belge, CV, CD
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:14	Tarih: 28/08/2015	
	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU' nun sorumluluğunda ve Neslihan ÇIHANOĞLU' 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 Resmî 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 <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
* :Araştırma ile ilişki ** :Toplantıda Bulunma							
İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik							

STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%5

BENZERLİK ENDEKSİ

%4

İNTERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%1

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
3	www.gaziantepmedicaljournal.com İnternet Kaynağı	<%1
4	www.mikrobiyolbul.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1
7	SANCAK, Banu. "Staphylococcus aureus ve antibiyotik direnci", Mikrobiyoloji Derneği, 2011. Yayın	<%1
8	www.campushungary.hu İnternet Kaynağı	<%1