



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**YOĞUN BAKIMDAN İZOLE EDİLEN MRSA SUŞLARINDA mecA
GENİ VARLIĞININ KONVANSİYONEL, OTOMATİZE VE PCR
YÖNTEMİ İLE TESPİTİ**

Naziye YILDIZ DENİZ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN - 2019

T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIMDAN İZOLE EDİLEN MRSA SUŞLARINDA mecA
GENİ VARLIĞININ KONVANSİYONEL, OTOMATİZE VE PCR
YÖNTEMİ İLE TESPİTİ**

Naziye YILDIZ DENİZ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN – 2019

Bu proje Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Arştırmalar Proje başkanlığı tarafından TYL-2017-6296 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIMDAN İZOLE EDİLEN MRSA SUŞLARINDA mecA
GENİ VARLIĞININ KONVANSİYONEL, OTOMATİZE VE PCR
YÖNTEMİ İLE TESPİTİ**

Naziye YILDIZ DENİZ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Yasemin BAYRAM
Üye

Doç. Dr. Mehmet PARLAK
Üye

TEZ KABUL TARİHİ
.../.../2019

ETİK BEYAN

TC

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Yoğun Bakımdan İzole Edilen MRSA Suşlarında mecA Geni Varlığının Konvansiyonel, Otomatize ve PCR Yöntemi İle Tespiti*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimşn fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı : Naziye YILDIZ DENİZ

Tarih: 16.05.2019

İmza:

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca deneyimlerini ve bilgilerini bizden esirgemeyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hüseyin Güdücüoğlu'na ve Sayın Doç. Dr. Mehmet PARLAK'a; tez konusu seçimimden tezimin bitimine kadar çalışmamı sabırla takip eden, güler yüzünü eksik etmeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yasemin BAYRAM'a, birlikte çalıştığım süre zarfında her zaman yanımda olan Sayın Arş.Gör.Dr. Sümeyye Akyüz, Arş.Gör.Dr. Şevin İrden, tüm Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında görev yapan laboratuvar sorumlusu sayın Emrullah ATIŞ ve diğer personellere, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Başkanlığına ve ayrıca bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan ve desteklerini her daim hissettiğim aileme, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca tüm zorlukları beraber aştığım ve bu yolda desteğini cömertçe sergileyen sevgili eşim Mahmut Serhat Deniz'e ve değerli abim Mehmet Mansur YILDIZ'a ve bütün dostlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Deniz Yıldız N. Yoğun Bakımdan İzole Edilen MRSA Suşlarında mecA Geni Varlığının Konvansiyonel, Otomatize ve PCR Yöntemi İle Tespiti , Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Metisiline dirençli *S. aureus* MRSA suşlarının hastane ve toplum kökenli infeksiyon etkeni olarak günümüzdeki önemi artmaktadır. Bu çalışmanın amacı, *S. aureus* suşlarında metisilin direncinin belirlenmesi için kullanılan farklı yöntemler ile genotipik bir yöntem olan *mecA* geni varlığının kıyaslanması amaçlanmıştır. Çalışmaya 2010-2016 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli örneklerden (yara, kan, balgam, solunum, balgam, apse, osteomyelit vs.) izole edilmiş 50 adet MRSA suşları belirlenerek çalışmaya dâhil edilmiştir. Her hastadan tek bir izolat alınmıştır. Çalışmamızda, MRSA suşlarında *mecA* geni varlığının konvansiyonel, otomatize ve PCR yöntemi ile araştırılmıştır. İncelenen MRSA suşlarında *mecA* geni varlığının tespitinde Oksasilin E-test yöntemi ile incelenen 50 adet MRSA suşlarının 49'unda *mecA* geni varlığına rastlanırken (MİK>2), 1 örnekte (MİK ≤ 2) *mecA* geni varlığına rastlanmamıştır. Sefoksitin E-test yöntemi ile incelenen örneklerin tamamında *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir (MIC>4). Vitek 2 Otomatize yöntemi ile incelenen örneklerin tamamında *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir. PCR yöntemi ile incelenen örneklerin tamamı pozitif, yani *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir. Oksasilin E-test yöntemi ile incelenen suşların duyarlılık oranı %98 iken, Sefoksitin, Vitek 2 Otomatize ve PCR yöntemleri ile incelenen suşların duyarlılık oranı %100 olarak tespit edilmiştir. MRSA oranının yüksek olduğu hastanelerde gereken önlemlerin alınması açısından *mecA* araştırılması doğru sonuca ulaşmada büyük bir önem arz etmektedir. Çalışmada üç yöntemin sonuçları hemen hemen birbirlerine yakın olduğu için, doğru tespit yapmak için üç yöntem de kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, *mecA*, E-test, Vitek 2 Otomatize, PCR

ABSTRACT

Deniz Yıldız N. Determination of mecA gene presence in MRSA strains isolated from intensive care by conventional, automated and PCR method, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Microbiology Master Thesis, Van, 2019. Meticillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains are becoming increasingly important as a cause of hospital and community-acquired infections. The aim of this study was to compare the presence of mecA gene, a genotypic method, by different methods used to determine methicillin resistance in *S. aureus* strains. The study included 50 MRSA strains isolated from various samples (wound, blood, sputum, respiration, sputum, abscess, osteomyelitis, etc.) from the microbiology laboratory of Yüzüncü Yil University Medical Faculty between 2010-2016. A single isolate was obtained from each patient. In our study, the presence of mecA gene in MRSA strains was investigated by conventional, automated and PCR method. In the detection of mecA gene in the MRSA strains examined, the presence of mecA gene was found in 49 of 50 MRSA strains examined by Oxacillin E-test method (MIC > 2); The presence of mecA gene was detected in all of the samples examined by cefoxime E- test method (MIC > 4). All of the samples examined by Vitek 2 Automated method were found to have mecA gene. All samples examined by PCR method were positive, the presence of mecA gene was determined. Sensitivity rate of strains examined by oxacillin E-test method was 98%, while the susceptibility rate of strains examined by Cefoxime, Vitek 2 Automated and PCR methods was 100%. In order to obtain the necessary precautions in hospitals with high MRSA ratio, mecA investigation is of great importance in achieving the correct results. Since the results of the three methods are almost close to each other, three methods can be used to determine the correct results.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, mecA, E -test, Vitek 2 system, PCR.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mikroskopik Özellikleri.....	3
2.2. Biyokimyasal Özellikleri	3
2.3. S. aureus'un Morfolojisi, Üreme özellikleri ve İdentifikasyonu	4
2.4. Genom Yapısı	5
2.5. Virülans ve Patojeniteleri.....	5
2.5.1. Kapsül ve slime tabakası.....	5
2.5.2 Hücre duvarı	6
2.5.3. Toksinler	7
2.6. Enzimler.....	11
2.6.1. Katalaz	11
2.6.2. Koagülaz	11
2.6.3. Lipaz	11
2.6.4. Deoksiribonükleaz	12
2.6.5. Hyalüronidaz.....	12

2.6.6. Stafilokinaz	12
2.6.7. Penisilinaz	12
2.7. Epidemiyolojisi	13
2.8. <i>Stafilokokların</i> Sebep Olduğu Hastalıklar	14
2.8.1. Deri ve yumuşak doku infeksiyonları	15
2.8.2. Kas ve iskelet sistemi infeksiyonları	15
2.8.3. Solunum sistemi infeksiyonları	15
2.8.4. Dolaşım sistemi infeksiyonları	15
2.8.5. Genitoüriner sistem infeksiyonları	16
2.8.6. Santral sinir sistemi infeksiyonları	16
2.8.7. <i>Staphylococcus aureus</i> toksin hastalıkları	16
2.9. <i>S. aureus</i> 'a bağlı hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotikler	17
2.10. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	17
2.11. Metisilin Direncinin Mekanizması	18
2.12. MRSA'nın Epidemiyolojik Özellikleri	19
2.13. MRSA Enfeksiyonlarının Kontrolü	21
2.14. Tanı Yöntemleri	23
2.14.1. Kültür ve biyokimyasal testler	23
2.14.2. Ticari tanımlama yöntemleri	23
2.14.3. Moleküler yöntemler	23
2.14.4. Metisilin direnci belirleme yöntemleri	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Klinik Örneklerden Bakteri İzolasyonu ve Örneklerin Toplanması	27
3.2. Stafilokok İdentifikasyonu	27
3.2.1. Gram boyama	28
3.2.2. Katalaz testi	28

3.2.3. Lam koagülaz testi	28
3.3. Suşların vitek 2 otomatize sistemde araştırılması.....	28
3.4. Gradient Test (Oksasilin ve Sefoksitin) Yöntemi.....	29
3.5. Metisilin Direncinin Moleküler Yöntemle Araştırılması.....	30
3.5.1. Genomik DNA izolasyonu.....	30
3.5.2. PCR işlemi	30
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ	50
EKLER.....	51
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi	51
Ek 2. Tez Orjinallik Raporu.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

β	: Beta
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
C	: Sitozin
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CRF	: Coagulase Reacting Factor
DNaz	: Deoksiribonükleaz
G	: Guanin
HK-MRSA	: Hastane kaynaklı MRSA
TK – MRSA	: Toplum Kaynaklı MRSA
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokok
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
ml	: Mililitre
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	: Sodyum klorür
NAG	: N-asetilglukozamin
NAM	: N-asetilmuramik
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositlerin
PPD	: Pozitif prediktif değer
PVL	: Panton- Valentine Lökosidin
SCC_{mec}	: Staphylococcal cassette chromosome <i>mec</i>
SSSS	: Staphylococcal scalded skin syndrome
STSS	: Stafilokoksik Toksik Şok Sendromu
TŞST-1	: Toksik Şok Sendromu Toksini
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Staphylococcus</i> Cinsinin Gram Boyama Mikroskopik Görüntüsü	3
Şekil 2. <i>Staphylococcus aureus</i> Hücre Duvar Yapısı.....	7
Şekil 3. EARSS Avrupa MRSA Oranları.....	19
Şekil 4. MRSA Suşlarının Gönderilen Kliniklere Göre Dağılımı.....	34
Şekil 5. MRSA Suşu izole edilen hastaların yaş dağılımı.....	34
Şekil 6. MRSA Suşlarının Klinik Örneklerle Göre Dağılımı.....	35



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Bazı Stafilokok Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri	4
Tablo 2. Kit İçeriği	31
Tablo 3. Ana Karışım	31
Tablo 4. Suşların <i>mecA</i> Geni Varlığına Göre Dağılımı ve Kullanılan Yöntemlerin MRSA Olarak Belirledikleri Suş Sayıları.....	35
Tablo 5. MRSA Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Duyarlılık ve Özgüllüklerinin Karşılaştırılması	36
Tablo 6: İncelenen MRSA Suşlarının Oksasilin ve Sefoksitin MİK Değerleri	37



1. GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda farklı hastalıklara sebep olan *Staphylococcus* genusu, 1878’de ilk kez ışık mikroskopunda Robert Koch tarafından tanımlanmış, 1880’de ise Pasteur tarafından abseden izole ettiği *Stafilokokları* sıvı besiyerinde üretmiş ve 1881’de de İskoçyalı doktor Alexande Ogston *Stafilokokların* fare ve kobaylar için patojen olduğunu belirtmiştir (Suma, ve ark., 2016). Bu organizmalar üzüm salkımına benzediği için (staphyle: üzüm salkımı) ‘‘*Staphylococcus*’’ adını almıştır. Klinik hasta örneklerinde ilk kez izole edilmesini ise 1884’te Rosenbach yapmıştır ve beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı renkli kolonileri *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir (Saleha, 2010). 1930’lardan itibaren *Staphylococcus’a* karşı antibiyotik direnci gelişimi ve 1961’den itibaren metisilin direnci gelişimi ile önemli bir küresel sağlık sorunu olmuştur (Çelik, ve ark., 2013).

Küresel bakteriler grubunda olan *Staphylococcus* cinsinin en iyi bilinen türleri insanlarda ve diğer sıcakkanlı hayvanların mukoza zarlarında ve derilerinde büyük oranda bulunur. Genellikle tüm türler için kullanılan *Stafilokok* terimi, hücrelerin üzüm salkımı gibi toplanma alışkanlığını ifade eder (Bayram, 2003). *Stafilokoklar* mikrobiyolojik olarak gram pozitif (genç kültürlerde), spor oluşturmeyen, nonmotil ve fakültatif anaeroblar (oksijen gerektirmeyen) olarak karakterize edilir (Aktaş ve ark., 2011; Saleha, 2010; Morellion ve ark., 2005).

S. aureus suşları, yara enfeksiyonları, çıbanlar ve diğer insan derisi enfeksiyonlarının başlıca ajanlarıdır ve gıda zehirlenmesinin en yaygın nedenlerinden biridir (Suma ve ark., 2016). *S. aureus* ayrıca menenjit, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve kadınlarda veya evcil hayvanlarda meme enfeksiyonuna neden olur. Ek olarak, lokal *Stafilokok* enfeksiyonları, toksin şok sendromuna yol açabilir ki bu hastalıkta enfeksiyon bölgesinden kan dolaşımına toksinin serbest bırakılmasıyla ilişkili bir hastalıktır (Aktaş ve ark., 2011).

İnsanlarda büyük endişe oluşturan bir suş, metisiline dirençli tek bir mutasyonun varlığı ile karakterize edilen metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) olup, küflere dirençli *stafilokok* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan yarı sentetik bir penisilin'dir. *S. aureus* 'un bu suşu ilk olarak 1960'ların başında izole edildi, kısa bir süre sonra metisilin bir antibiyotik olarak geniş kullanım alanına girdi (Suma, ve ark., 2016).

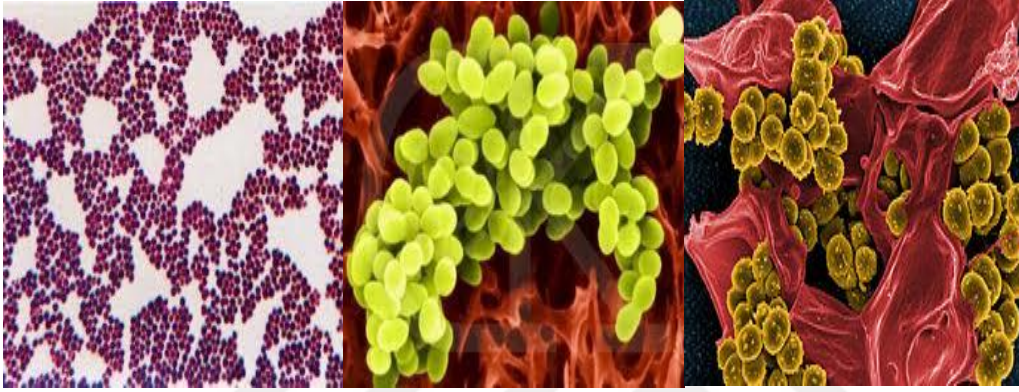
Staphylococcus aureus hem hastane hemde toplum kaynaklı enfeksiyonların önemli bir sebebidir. Dünya çapında yaklaşık 50 milyon insanın ciltle teması halinde kolay bir şekilde geçebilen ancak sağlıklı kişilerde nadiren enfeksiyona neden olan MRSA'yı taşıdığı düşünülmektedir (Saleha, 2010). Bununla birlikte, hastanelerde ve bakımevlerinde bulunan çok küçük çocuklar ve yaşlı hastalar, çoğu antibiyotiğe direncinden dolayı tedavi edilmesi zor olan MRSA enfeksiyonuna özellikle duyarlıdır. 2005 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde, MRSA'dan ölümlerin HIV/AIDS'ten kaynaklı ölümler aşması, bu potansiyel olarak ölümcül organizmanın yayılmasını önlemek ve kontrol etmek için daha iyi bir sürveyans ihtiyacını ortaya koymuştur (Saleha, 2010; Margarette ve ark., 2004).

Bu çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarında sefoksitin E-test, oksasilin E-test ve Vitek 2 Otomatize sonuçlarının metisilin direncini saptamada altın standart olan *mecA* gen varlığı ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikroskopik Özellikleri

Staphylococcus türleri salkım şeklinde düzensiz kümeler ve kısa zincirler oluşturan, 0.8-1,5 µm çapında, sporlanmayan fakat kuruluğa karşı oldukça dirençli, hareketsiz gram pozitif koklardır (Çelik, ve ark., 2013).



Şekil 1. *Staphylococcus* Cinsinin Gram Boyama Mikroskopik Görüntüsü

2.2. Biyokimyasal Özellikleri

S. aureus suşları koagülaz pozitif özelliğe sahiptir Genel olarak iki ana deney yöntemi ile yapılmaktadır. Bunlar Koagülaz testi Tüp Aglütinasyon ve lam deneyidir. Tüp aglütinasyon deneyinde *stafilokokların* besiyerine salmış oldukları bağımsız koagülazlar incelenmektedir. Bağımsız koagülaz plazmada mevcut olan Coagulase Reacting Factor (CRF) ile ilişki kurarak fibrinojeni pıhtılaştırır. Diğer taraftan Lam deneyinde, bağlı koagülaz etkinliğine bakılmaktadır ve bağlı koagülazın etkinleştirilmesi için CRF'ye ihtiyacı yoktur. Bu yöntemde bakterinin yüzeyindeki faktör, plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırma özelliğine sahiptir (Suma ve ark., 2016).

İnsan plazmasında çeşitli inhibitörlerin olmasından dolayı ve yalancı pozitiflik verebileceğinden dolayı genellikle tavşan plazması tercih edilmektedir. Bu yöntemlere ek olarak, ayrıca ticari olarak da satılmakta olan tanımlama kitleri de kullanılmaktadır (Çiftçi, ve ark., 2009).

2.3. *S. aureus*'un Morfolojisi, Üreme özellikleri ve İdentifikasyonu

S. aureus gram pozitif, kok şeklinde, sporsuz, hareketsiz ve 0,5-1,7 µm çapında bir bakteri olarak tanımlanmaktadır. Stafilokoklar çoğaldıkları zaman üç boyutta da bölünebilirler ancak bölünmeden sonra tam ayrılma olmaması sebebi ile katı besiyerinden alındıkları zaman mikroskopik görünümleri kümeler halinde üzüm salkımı şeklindedir (Saleha, 2010).

Stafilokoklar 6.5°C-45°C arasında üreyebilme özelliklerine sahiptirler. Optimal üreme ısıları ise 37°C'dir ve pH:7-7.5 arasında iyi üreme göstermektedirler. Aerop ve fakültatif anaerop bakterilerdir ve yüksek tuz (%10 NaCl) konsantrasyonu besiyerlerinde üreyebilme özelliğine sahip olup kanlı agarda ve basit besiyerinde de üreyebilme özelliklerine sahiptirler (Karakoç, 2009; Lodise ve McKinnon, 2005). 18-24 saat içinde beyaz sarı pigmentli, 1-4 mm çaplı, yuvarlak, düzgün bir yüzeye sahip, hafif konveks koloniler yapar. *S. aureus* insan, koyun ve at kanlı agarda β (beta) hemoliz oluşturabilir ve inkübasyon süresi yükseldikçe hemoliz de daha fazla belirginleşir. *Stafilokoklar* katalaz pozitifliği ile streptokoklardan, 200 µg/dl lizostafine veya 100 µg furazolidona duyarlı olmaları, anaerop ortamda ve 0,4 µg/dl eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturabilmeleri, oksidaz negatif ve basitrasine dirençli olmaları özellikleri ile mikrokoklardan ayrılmaktadırlar (Sancak, 2011; Tünger, 2004).

Stafilokok türlerinin ayırt edici özellikleri Tablo 1'de verilmiştir:

Tablo 1. Bazı Stafilokok Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri

Test	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Koagülaz	+	-	-
Mannitolden asit yapımı	+	-	±*
Deoksiribonükleaz (DNA'az)	+	-	-
Novobiyosine direnç	-	-	+**
Anaerobik şartlarda üreme	+	+	-***
Hemoliz	+	- (+)****	-

* Genelde pozitif, nadir olarak negatiftir, ** 1.6 µm/ml ve ya daha az novobiyosin varlığında üreme, *** *S. saprophyticus*'un anaerobik ortamda üremesi çok yavaş ya da hiç yok, **** Genelde negatif, bazen de pozitif olabilir.

2.4. Genom Yapısı

S. aureus genomu yaklaşık olarak 2000-3000 kbp bir kromozom ile profajları, plazmidleri ve transpozonları içermektedir. *Staphylococcus* sp. DNA'sının guanin+sitozin (G+C) oranı % 30-40 arasında değişmektedir ve *S. aureus* genomunun G+C içeriği yaklaşık olarak % 32 oranındadır. *S. aureus*, yaklaşık olarak 2500 geni kodladığı tahmin edilen 2,8 Mb uzunluğunda tek bir kromozomdan oluşmaktadır (Karakoç, 2009).

Günümüzde 9 MRSA suşu'nun tam olarak genom analizinin bilinmediği ifade edilmektedir. Bu bilgiler ışığında *S. aureus* genomu genel olarak üç kısma ayrılmıştır. Bunlardan birincisi Kor genom, ikincisi değişken kısım (aynı klonal soy içinde değişebilme özelliğine sahip toksin genleri, hücre duvarında mevcut olan matriks adezinleri...vb) ve üçüncüsü virülans ve antibiyotik direnç genleri taşıyan hareketli elemanlardır (profajlar, plazmidler, transpozonlar ve kromozomal kasetler). Epidemik hastane kaynaklı MRSA'ların kolayca yayılabılması MRSA'ların klonal soyları veya taşıdıkları genlerle alakalıdır. Klonal soyların epidemik özelliğine sahip olması veya olmaması üçüncü grup genlerle ilgili (Ertaş ve Günülalan, 2010).

2.5. Virülans ve Patojeniteleri

2.5.1. Kapsül ve slime tabakası

Kapsül, *S. aureus* suşlarının çoğunda bakteriyi polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) fagositozundan engelleyip koruyan polisakkarit yapıda bir mikrokapsül bulunur. Günümüzde *S. aureus* suşlarında 11 mikrokapsül tespiti yapılmıştır ve bunlardan serotip 5, 7 ve 8 insan enfeksiyonlarına en çok neden olan tiplerdir. Penisiline dirençli *S. aureus* suşlarında genellikle tip 5 bulunmakta iken, tip 8 Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TŞST-1) üretimiyle ilişkilendirilmektedir (Karakoç, 2009).

Slime tabakası ise daha çok Koagülaz Negatif *Stafilokoklarda* (KNS) var olan monosakkaritler ve peptidler içeren, suda çözünebilen bir film tabakası olarak tanımlanmaktadır. Bakterilerin konak hücredeki eklem, doku özellikle de katater, şant, greft gibi yabancı cisimlere tutunmasını kolaylaştırabilir (Murrey, 2010).

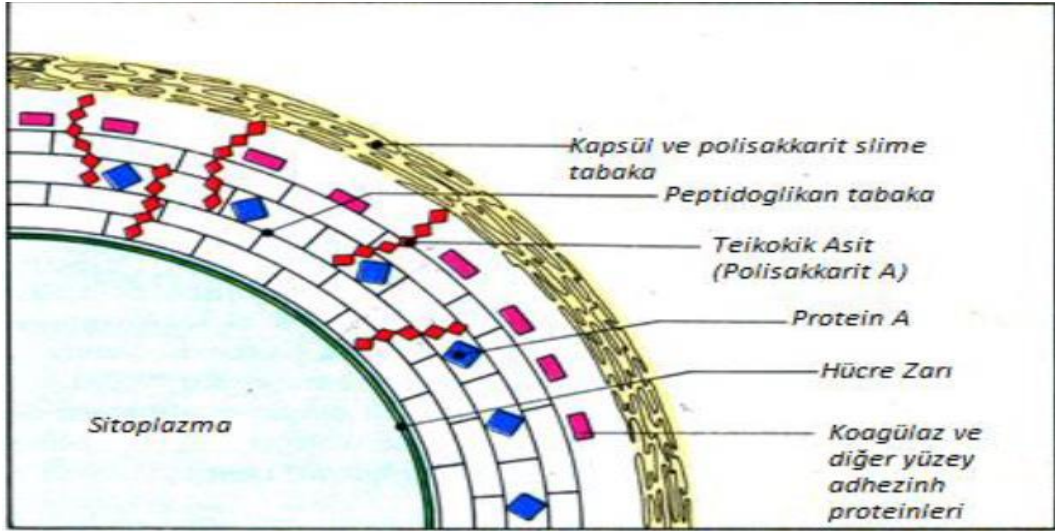
2.5.2 Hücre duvarı

Bakteriler, yüksek derişimde çözünmüş madde içermesi sebebiyle hücre içinde meydana gelen turgor basıncına dayanmak için hücre duvarı içermektedirler. *S. aureus* hücre duvarı kalın bir peptidoglikan tabaka, teikoik asit ve yüzey proteinlerinden meydana gelmektedir (Karakoç, 2009).

Stafilokokların hücre duvarı kuru ağırlığının %50'sini birbirine bağlı katmandan oluşan peptidoglikan tabaka oluşturur. Gram pozitif bakterilerde hücre duvarının % 90'ı peptidoglikandan oluşmaktadır. Peptidoglikan genel olarak üç tabakadan oluşmaktadır. Peptidoglikan tabakasındaki N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM) polimerleri glikan omurgayı oluşturmaktadır. Bu üniteler $\beta(1,4)$ bağlarıyla birbirine bağlanmaktadır. L-alanin, D-glutamik asit, L-lizin, ve D-alanil, D-alanin aminoasitleri NAM'a bağlı peptid zincirlerini oluşturmaktadır. NAM'a bağlı olan pentapeptid rezidüleri, bir zincirdeki D-alanin ile diğer zincirdeki L-lizin arasındaki pentaglisin köprüleri ile birbirine bağlanmaktadır. *Stafilokokların* peptidoglikan tabakası; makrofajlardan sitokin salınımını uyarmaya yardım ederek trombosit agregasyonuna ve monositlerden IL- 1 salınımını uyararak polimorfonükleer lökositlerin infeksiyon bölgesine toplanmasına ve apse oluşmasına sebep olmaktadır. İnsanlarda ter, gözyaşı ve lökositlerde mevcut olan lizozim enziminin hedefi stafikoklardaki peptidoglikan tabakasinda varolan $\beta(1-4)$ bağlarıdır (Ertaş ve Günülalan, 2010).

Peptidoglikan tabakasının dışında ise teikoik asit ve yüzey proteinleri yer alır. Hücre duvarına gömülü şekilde bulunan asidik bileşikler teikoik asit olarak adlandırılmaktadır ve gliserofosfat veya ribitol fosfat köklerine sahip olan duvar, zar ve kapsül polimerlerini kapsamaktadır. Kovalent olarak peptidoglikana bağlıdır. Kalınlığı ise hemen hemen 10-12 nm dir. Negatif yüklü olduklarından dolayı hücre yüzeyinde de negatif yük sağlamaktadır ve Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi kasyonların birbirlerine bağlanmasını da sağlamaktadır (Ünal, 2004). Teikoik asidin peptidoglikana bağlanmasıyla birlikte özgül antikor cevabını uyarması ve bu cevabın izlenmesi stafilokok infeksiyonlarının tespitinde kullanılmaktadır (Koşum, 2012).

Hücre yüzeyindeki teikoik asit bakteriye antijenik özellik kazandırma özelliğine sahiptir. Fakat teikoik asit kendi başına güçsüz bir immünojen olmasından dolayı peptidoglikan tabakasıyla bir araya gelerek spesifik antikor yanıtını uyarır (Morellion, ve ark., 2005). *Staphylococcus aureus* hücre duvar yapısı Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. *Staphylococcus aureus* Hücre Duvar Yapısı

2.5.3. Toksinler

S. aureus, infeksiyonlarındaki belirtilerden sorumlu, konak hücre morfolojisini ya da fonksiyonunu etkileyebilen çeşitli ekzotoksinler salgılamaktadır. Bu toksinler ile konak hücredeki yayılım, invazyon ve süperantijen işlevleriyle toksik etki sağlar (Ertaş ve Günülalan, 2010).

Sitolitik Toksinler: Stafilokoklar, konak hücrelerini etkileyebilen eritrosit ve diğer hücrelerde sitolitik, hayvanlarda ise öldürücü ve nekrotik etkilere sebep olabilecek birtakım toksinler üretebilmektedirler. Hemolizinler ve lökositinler en çok bilinen sitotoksinlerdir (Bilgehan, 2000).

Hemolizinler: Hemolitik etkilerine ve hemoliz için gerekli ısı, zaman ve toksisite derecelerine göre 4 gruba ayrılmaktadır (Bayram, 2003).

1. Alfa Toksin: Alfa toksin, insan enfeksiyonlarına sebep olan *S. aureus* suşlarının birçoğu tarafından yapılan ve bakteri kromozomu veya plazmitler tarafından kodlanan 33000-Da' luk bir polipeptitten oluşmaktadır. Düz kasları, eritrosit, lökosit ve trombositleri parçalama özelliğine sahiptir ancak monositler üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. En güçlü membran hasar proteinidir ve tavşan eritrositleri üzerinde yüksek derecede hemolitik etkisi bulunmaktadır (Karakoç, 2009; Murrey, 2010).

Alfa toksin, *S. aureus*'un en önemli hemolizindir. Hızlı bir şekilde K^+ atımı ve Na^+ , Ca^{+2} ve diğer küçük moleküllerin alınmasına sebep olarak hücre şişmesine ve

parçalanmasına sebep olur. Ayrıca *S. aureus* kolonilerinin kanlı agarda yaptığı beta hemolizden de sorumludur. (Murrey, ve ark., 2009).

2. Beta Toksin: Sfingomyelinaz C olarak da adlandırılan ve antijenik bir özelliğe sahip olan beta toksin, ısıya karşı duyarlı ve 35000-Da ağırlığında olan bir proteindir. Beta toksini *S. aureus* suşlarının çoğu tarafından yapılmaktadır. Beta toksini en iyi koyun eritrositlerine litik etki gösterip insan ve tavşan eritrositlerine ise daha az litik etki göstermektedir. Beta toksin, doku hasarı ve apse oluşmasına sebep olan en önemli toksin olarak ifade edilmiştir. Bu enzim sfingomyelin ve fosfatidilkoline spesifik olup eritrosit, fibroblast, lökosit ve makrofaj benzer bir çok hücre tipine toksik etkilidir (Ertaş ve Günülalan, 2010). Duyarlı hücrelerde, hücre yüzeyindeki sfingomyelin oranına bağlı olarak hücre parçalanmasına sebep olabilecek seviyede membran fosfolipidlerinin hidrolizini katalize eder. Böyle bir durumda bu toksine karşı duyarlılık seviyesinin türler arasında farklılık gösterdiği ifade edilmektedir (Özgüven, 2004).

3. Delta Toksin: *S. aureus* suşlarının çoğu ve diğer bazı stafilokoklar (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus* gibi) tarafından yapılan ve 3000-Da ağırlığındaki bir polipeptit olan delta toksin, eritrosit ve diğer memeli hücrelerdeki hücre içi membran yapılarını etkilemektedir ve birçok hücre tipine oldukça geniş spektrumlu bir sitolitik aktiviteye sahip olduğu ifade edilmektedir. Toksin, hücrede membran bütünlüğünü bozabilmekte ve adenilat siklazı aktive ederek cAMP salınımına sebep olmaktadır. *Stafilokoksik Toksik Şok Sendromu* (STSS) ve stafilokokal besin zehirlenmesinde bu enzimatik aktivite önemli bir rol oynamaktadır. Antijenik özelliğine sahip değildir, immunolojik olma yönünden alfa ve beta toksinlerinden ayrılmaktadır. İnsanlarda hastalığa sebep olan stafilokoklarda en çok alfa ve delta toksini mevcuttur (Alen, ve ark., 2006)

4. Gama Toksin: Gama toksinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber birçok canlının eritrositleri üzerine toksik etkisi vardır. Gama toksin (*S. aureus* suşlarının hemen hepsi tarafından üretilir) ve P-V lökositin bikomponent toksinler olup; S (yavaş etkili proteinler) ve F (hızlı etkili proteinler) parçaları olmak üzere iki polipeptid zincirinden oluşmaktadır (Bayram, 2003). Üç S proteini [HlgA (hemolizin gama A), HlgC, LukS-PV] ve 2 F proteini (HlgB, LukF-PV) tanımlanmıştır. Bu iki toksini üretebilen bakteriler, bütün toksin parçalarını yapabilir ve altı farklı toksin kombinasyonu oluşturabilirler. Bu altı farklı toksinin tümü lökositleri ve makrofajları

parçalayabilme gücüne sahip; ama en güçlü hemolitik etkiyi HlgA/HlgB, HlgC/HlgB ve FflgA/LukF-PV göstermektedir (Suma, ve ark., 2016).

Lökosidin: Panton-Valentine Lökosidin (PVL) toksini olarak da adlandırılan lökosidin, birbirini etkileyebilen Fast (F) ve Slow (S) adında 2 polipeptit zincirinden oluşan bir ekzotoksindir. Bu toksin, *S. aureus* suşları açısından kayda değer bir virülans belirleyicisi olarak görülmektedir (Ertuş ve Günülalan, 2010). F ve S iyi birer antijendir ve ayrı ayrı olarak da toksoit oluşturabilirler. Bu toksin lökositler üzerinde por oluşturmasıyla litik etki göstermektedir, doku nekrozuna sebep olmasına rağmen hemolitik etkisi yoktur. Lökosidin toplum kökenli MRSA suşlarının hemen hemen hepsinde bulunur ancak hastane kökenli MRSA suşlarının sadece %5'inde tespit edilmiştir. Bu nedenle bu toksin, bu suşların saptanmasında önemli bir belirteç özelliğindedir. Gama ve P-V lökosidin toksinleri tarafından hücrelerin parçalanması, por oluşumunu takiben katyonlara karşı geçirgenliğin artışı ve ozmotik dengenin bozulması sonucu gerçekleşir (Murrey, 2010; Özkul ve ark., 2007).

Enterotoksin: *S. aureus* suşlarının çoğu enterotoksin oluşturdukları için yiyeceklerde bulunduğu takdirde halk sağlığını tehdit etmektedir. Enterotoksinler, insan orjinli üç ve dört faj grubuna ait koagülaz pozitif suşlar tarafından meydana getirilir. Isıya dirençli olup 100 °C'ye 30 dakika dayanabildiğini ifade etmiştir (Bayram, 2003).

Enterotoksinin A, B, C1, C2, D, E, F olmak üzere, immunolojik yedi tipi vardır. On sekiz farklı *stafilokok* enterotoksini (A'dan R'ye kadar) tanımlanmış olup, gıda zehirlenmelerine en sık neden olan toksinin enterotoksin A olduğu ifade edilmiştir. Enterotoksin C ve D kontamine süt ürünlerinde bulunmaktadır, enterotoksin B ise psödomembranoz enterokolite sebep olmaktadır. Diğer enterotoksinlerin prevalansı ve klinik önemleri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Enterotoksinler, gıda kaynaklı hastalıkları oluşturmak için oldukça uygun özelliklere sahiptirler; 100 °C'de 30 dakika ısıtılmaya dayanır ve gastrik ve jejunal enzimlerin hidrolizine direnç göstermektedir. Bundan dolayı, eğer bir gıda enterotoksin oluşturan *stafilokok* ile kontamine olmuş ve o gıdada toksin yapılmış ise, ne gıdanın orta düzeyde ısıtılması ne de yendikten sonra mide asitlerinin koruyucu etkisi olmamaktadır. Bu toksinler *S. aureus* suşlarının α -SO-SO'si tarafından yapılır. Bu toksinler süperantijen özelliğinde sahip olup, T hücre aktivasyonunu indükler ve yoğun sitokin salınmama sebep olur. Tipik histolojik değişiklikler, mide ve jejunum epitelyumunda ve lamina proprianm altında nötrofil

infiltrasyonu ve jejunumda mikrovillus (brush border) kaybı şeklinde olmaktadır. *Stafilokoka* bağı gıda zehirlenmelerinin tipik bulgusu olan kusmanın, mast hücrelerinden inflamatuvar mediyatör salınımının uyarılmasına bağı olduğu düşünülmektedir. *S. aureus* suşlarının %35- 50'sinin bu toksinleri üretebildiği ifade edilmiştir (Ulusoy, ve ark., 2004; Murrey, 2010; Erol ve İşeri, 2004).

Eksfoliyatif Toksin: *Stafilokoka* bağı haşlanmış deri sendromu (Staphylococcal scalded skin syndrome; SSSS), eksfoliyatif toksin tarafından oluşturulan ve eksfoliyatif dermatit olarak ifade edilen hastalıklar grubudur. Bu toksinin *S. aureus* suşlarında bulunma prevalansı coğrafi bölgelere göre değişebilmesine rağmen, genellikle %5'in altındadır. Eksfoliyatif toksinin ET-A ve ET-B olmak üzere iki formu tanımlanmıştır ve her ikisi de hastalık oluşturabilme gücüne sahiptir (Ertaş ve Günülalan, 2010). Isıya dirençli olan ET-A geni bir faja aittir; ısıya dirençli olan ET-B ise plazmid tarafından kodlanmaktadır. Bu toksinler sitoliz ya da inflamasyonla herhangi bir ilişkiye sahip değildir, bundan dolayı tutulan epidermiste stafilokok ve lökositlere rastlanmaz. Epidermis, toksine maruz kaldıktan sonra koruyucu nötralizan antikorlar gelişmekte olup toksik etkisini ortadan kaldırmaktadır. SSSS çoğunlukla küçük çocuklarda görülmekte olup büyük çocuk ve yetişkinlerde ise nadiren ortaya çıkmaktadır (Biçer, 2009).

Eksfoliyatif toksin A, enterotoksinler ve TSST-1, süperantijenler olarak bilinen polipeptid sınıfında yer alırlar. Bu toksinler, makrofajlar üzerinde bulunan sınıf II doku uygunluk kompleksi (MHC II) moleküllerine bağlanır ve özgül T hücre reseptörlerinin (TCR) p alt ünitesinin değişken (variable) bölgesi (VpTCR) ile etkileşirler (Suma ve ark., 2016).

Toksik Şok Sendromu Toksini-1: (TSST-1), ısıya ve proteolize dayanıklı ve kromozom tarafından kodlanan 22.000 Da ağırlığındaki bir ekzotoksindir (Bayram, 2003). Enterotoksin B ve nadiren enterotoksin C, menstruasyon ile ilişkili olmayan TSS olgularının hemen hemen yarısından sorumludur. In vitro ortamda TSST oluşturulması için yüksek oksijen konsantrasyonu ve nötral pH gerekmektedir. Bu durum yara enfeksiyonlarında bu tablonun neden sık olarak ortaya çıkmadığını göstermektedir. Bir süperantijen olan TSST-1, sitokin salınımına sebep olmakla beraber düşük konsantrasyonlarda endotelial hücrelerden sızıntıya, yüksek konsantrasyonlarda ise hücrelerde sitotoksositeye neden olmaktadır. Enfeksiyonun vajina veya yara bölgesinde

sınırlı olarak kalmasına rağmen, TSST mukozal bariyerlerden geçebilme yeteneği, TSS'nun sis temik etkilerine sebep olur. TSS olan hastalarda ölüm, çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan hipovolemik şok sebebiyle meydana gelmektedir (Tünger, 2004; Murrey, 2009).

2.6. Enzimler

2.6.1. Katalaz

Katalaz, toksik hidrojen peroksidi nontoksik oksijen ve suya dönüştürebilen bir enzim olarak tanımlanmaktadır. Bütün stafilokok şuşlarında mevcuttur. Katalaz, stafilokoklar ile streptokok cinsi bakterilerin birbirinden ayrılmasında kullanılmaktadır. Konak tarafından bakterinin üzerine gönderilen oksijen radikallerinden katalaz aracılığıyla korunmaktadırlar (Ak ve ark., 2004).

2.6.2. Koagülaz

Koagülaz, kan plazmasını pıhtılaştırıran bir enzim olarak tanımlanabilir (Bayram, 2003). *S. aureus* şuşları, bağı ve serbest olmak üzere iki tipte koagülaz oluştururlar. Stafilokok hücre duvarına bağı koagülaz, fibrinojeni çözünmez fibrine dönüştürerek stafilokokların kümelenmesine sebep olur. Hücre dışı serbest koagülaz ise benzer etkiyi, globulin plazma faktörü ile etkileşerek, trombin benzeri bir madde olan stafilotrombin oluşumuyla göstermektedir. Bu faktör fibrinojenin çözünmez fibrine dönüşmesini sağlar. Koagülaz hastalık patogenezindeki etkisi, spekülatif olmakla birlikte, apse çevresinde bir fibrin tabakası oluşturarak enfeksiyonu lokalize etmesi ve bakterileri fagositozdan korumasına bağıdır. Diğer bazı stafilokok türleri de koagülaz oluşturabilir ama bunlar primer olarak hayvan patojeni olan, insan enfeksiyonlarında sık karşılaşılmayan türlerdir (Sultan, 2010; Tünger, 2005).

2.6.3. Lipaz

Lipaz, yağları hidrolize ederek *Stafilokokların* konaktaki lipit olan bölgelerde yaşamasını sağlamaktadır. Deri ve özellikle deri altındaki yağ dokularında enfeksiyon

oluşmasına sebep olmaktadır. Tüm *S. aureus* şuşları tarafından lipaz üretilmektedir (Dönmez, 2011).

2.6.4. Deoksiribonükleaz

Deoksiribonükleaz, hemen hemen bütün *S. aureus*' larda bulunmaktadır. Nükleik asitleri parçalayabilen ve ısıya oldukça dayanıklı bir enzimdir olup endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahiptir. DNAaz enzimi DNA'yı hidrolize edip bakterinin enfeksiyon bölgesinden diğer bölgelere yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır ve tüm *S. aureus* şuşları bu enzimi salgılar (Sancak, 2012).

2.6.5. Hyalüronidaz

S. aureus şuşlarının hemen hemen çoğunda bulunan hyaluronidaz, konak organizmasının bağ dokusundaki hyaluronik asiti parçalayıp bakterinin kolay bir şekilde dokularda ilerlemesini sağlamaktadır (Sultan, 2010).

2.6.6. Stafilokinaz

Fibrinolizin olarak da adlandırılan Stafilokinaz, *S. aureus şuşlarının* çoğunda mevcut olup sahip olduğu fibrinolitik etkisi ile enfeksiyonun kolayca yayılmasını sağlamaktadır (Koşum, 2012).

2.6.7. Penisilinaz

Penisilinaz, Beta-laktamaz olarak da adlandırılır. Penisilinaz, plazmid ve transpozonlarla taşınarak ve antibiyotiklerdeki beta-laktam halkasını parçalayarak bakteriye antibiyotik direnci sağlamaktadır. *S. aureus*' un ürettiği penisilinaz yardımıyla günümüzde Stafilokokların neredeyse %90' ı penisiline karşı dirençlidir (Koşum, 2012; Livermore, 2000).

2.7. Epidemiyolojisi

Doğada ve insan florasında Stafilokoklar nonpatojen olarak bulunmaktadır. Hastaneye yatırılan hastalarda bilhassa tedavi amaçlı uygulanan endoskopi, kateterizasyon, ventilasyon, trakeostomi gibi uygulamalar hastanın bağışıklık sistemini bozarak mikroorganizmaların kolonizasyonu için uygun ortam oluşturabilmektedir (Karakoç, 2009). 1961'den günümüze kadar bu mikroorganizmaların başında MRSA gelmektedir. Günümüzde Hastane Kaynaklı MRSA (HK-MRSA) ve Toplum Kaynaklı MRSA (TK-MRSA)' ların tanısı ve tedavisi önemli bir sağlık sorunu olmuştur (Sancak, 2012).

MRSA infeksiyonlarına sebep olan önemli faktörler arasında insülin kullanılması, hemodiyaliz cihazlarına bağlanma, devamlı olarak intravenöz ilaç alma, uzun süre hastanede yatma, yoğun bir şekilde antibiyotik kullanma, yanık ünitesinde tedavi görme, açık cilt lezyonları, 65 yaş üstünde olma ve ayrıca hastane çalışanı olma bulunmaktadır (Ulusoy, ve ark., 2004; Ünal, 2019; Kızıllarslanoğlu, ve ark., 2013).

MRSA infeksiyonlarının görülme sıklığına gelince ise bu infeksiyon ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye ve hatta hastanelerin içindeki bir birimden diğer birime göre dahi değişiklik gösterebilmektedir. İskandinav ülkelerinde bu infeksiyonunun görülme oranı %1 iken; İtalya, Yunanistan gibi başka ülkelerde bu oran % 80'lere kadar çıkabilmektedir (Martins, 2007).

2008 yılındaki European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) verilerine göre, Avusturya, Lüksemburg ve Slovenya'da MRSA direnç oranı % 10'un altında iken; Belçika, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Macaristan, Polonya ve İsviçre'de direnç oranı % 10 ile % 25 arasında; Hırvatistan, Bulgaristan, İngiltere, İrlanda, İspanya, İtalya, Kıbrıs, Romanya, Türkiye ve Yunanistan'da ise bu oran % 25 ve üzerinde bulunmuştur. Malta ve Portekiz'de ise % 50'lere kadar çıkmaktadır (Sancak, 2011; Appelbaum, 2007).

Dünya da MRSA yaygınlığının %2'nin altında olduğu çok düşük 2 ülke bulunmaktadır. Bu alanlar Hollanda ve Kanada'dır. Bu ülkelerdeki yaygınlığının düşük olmasının nedeni de uygulanan sıkı arama ve imha etme politikalarından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Türkiye' nin de içinde bulunduğu Akdeniz ülkelerinde görülen antibiyotik direncinin gösterildiği çalışmalarda 2003-2005 yılları arasında *S. aureus*

izolatları arasındaki metisilin direnç oranı sırasıyla % 43,% 40 ve % 35 olarak gösterilmiştir (Becker, ve ark., 2013).

2.8. Stafilokokların Sebep Olduğu Hastalıklar

Penisilin'e dirençli *Staphylococcus aureus* suşları, uzun yıllardır enfeksiyonlara neden olmakla birlikte, son 20 yılda metisilin, oksasilin ve diğer β -laktamlara dirençli izolatlar baskın hale gelmiştir (Saleha, 2010).

S. aureus enfeksiyonlarının teşhisi, enfekte olmuş bir bölgeden bakterileri kültürde izole etmek ile başlar. İri, kabuklu drenaj veya kabarcık içeren herhangi bir bölgeden alınan örneği kültürü alınmalıdır. Sepsis, toksik şok sendromu veya pnömoni olan hastalarında kan örnekleri kültür için incelenmelidir. Standart mikrobiyolojik teknikler *S. aureus*'u tanımlamak için pozitif bir koagülaz testi içerir. *S. aureus*, kanlı agar plaklarında (hemolitik stafilokoklar) kırmızı kan hücrelerini lyses ederken, *S. epidermidis*'de bu özellik (nonhemolitik stafilokok) yoktur. Bakteriler, metisiline (ve diğer antibiyotiklere) dirençli olup olmadıklarını görmek ve böylece organizmaların MRSA olup olmadıklarını belirlemek için ayrıca test edilmelidir (Çelik, ve ark., 2013; Aköğretmen, 2016).

S. aureus birçok enfeksiyona neden olabilmektedir (Sancak, 2012):

- Yüzeysel deri lezyonları (kaynar) ve lokalize apselere,
- Osteomyelit ve endokardit gibi derin yerleşimli enfeksiyonlara ve daha ciddi cilt enfeksiyonları (furunküloz),
- Cerrahi yaraların hastane kaynaklı (nozokomiyal) enfeksiyonu için önemli bir nedendir
- Enterotoksinleri gıdaya bırakarak gıda zehirlenmesine neden olur.
- Süperantijenlerin kan akışına bırakılmasıyla toksik şok sendromuna,
- Özellikle kızlarda idrar yolu enfeksiyonlarına neden olur.
- Diğer stafilokok türleri (*S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*) seyrek olarak patojenlerdir.

2.8.1. Deri ve yumuşak doku infeksiyonları

S. aureus tutulan anatomik yapıya bağlı olarak farklı klinik formları oluşabilir. Bu formların başlıcaları impetigo, follikülit, fronkül ve erizipel şeklinde sınıflandırılabilir (Kızılarıslanoğlu, ve ark., 2013). Egzama veya atopik dermatit oluşan hastalarda sekonder deri infeksiyonlarına, ayrıca ameliyat sonrası oluşan yara bölgesinde %15-20 oranında infeksiyon yapma özelliğine sahip olduğu da bildirilmiştir (Sultan, 2010). Stafilokoklar ayrıca piyojenik eksuda yada abse gelişimine sebep olur. Tutulan anatomik yapıya bağlı olarak farklı klinik formları oluşabilir. (Köck ve ark., 2010).

2.8.2. Kas ve iskelet sistemi infeksiyonları

Osteomyelit, septik artrit, piyomyozitlerin temel sebebi *S. aureus*'lardır. Stafilokoklar aynı zamanda diş tedavisinde kullanılan implantlardaki infeksiyonunda temel sebebidir. Özellikle MRSA'lardaki dirençten dolayı kırık fiksasyonu esnasında % 25-32 oranında oluşan infeksiyonlar, travma cerrahisini etkileyen önemli bir sebeptir (Gülcü, 2015).

2.8.3. Solunum sistemi infeksiyonları

Toplum kaynaklı pnömonide *S. aureus*'a nadir olarak karşılaşılmasına rağmen hastane kaynaklı pnömoni de özellikle mekanik ventilasyona bağlı olan hastalarda sıklıkla karşılaşılan kaynaktır. Yoğun bakımda bulunan hastalarda Stafilokok kaynaklı pnömoninin mortalite oranları oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (Jones, 2008).

2.8.4. Dolaşım sistemi infeksiyonları

Genellikle intravenöz kateter uygulamasının ardından oluşan hastane kaynaklı bakteriyemilerin temel etkeni olarak ifade edilmektedir. İlaç bağımlılarındaki oluşumu, gelişmesi ve seyri oldukça önemlidir. Her iki atrioventriküler kapakta tutunmakla birlikte, özellikle triküspit tutulumu oldukça fazladır ve endokardit mortalite oranı % 50 civarında olduğu bildirilmiştir (Atmaca, 2013). Uluslararası Endokardit Çalışma

Grubu'nun verilerine göre dünya çapında endokarditlerin önemli bir faktörü olan streptokokların yerini artık Stafilokoklar almıştır (Gülcü, 2015).

2.8.5. Genitoüriner sistem infeksiyonları

Mikroapseler, renal karbonkül ya da perinefritik apsenin oluşmasından sorumludur. İdrarda *S. aureus* görülmesi vajina ya da perianal bölgede asemptomatik kolonizasyonun kontaminasyonu ile ya da *S. aureus* bakteremisi sonucu infeksiyonun böbreklere ulaşması ile meydana gelmektedir (Gülcü, 2015).

2.8.6. Santral sinir sistemi infeksiyonları

Santral sinir sistemi (SSS) infeksiyonları çocukluk dönemi infeksiyonlarının önemli bir grubunu oluşturur. Hastalarda santral sinir sistemine özgü bulgular da görülebilir. Beyin apsesi veya menenjitte sebep olabilirler. Bu tür infeksiyonlar *S. aureus* bakteriyemisi ya da şant gibi cerrahi müdahaleler sonucunda meydana gelirler ve mortalite oranı yaklaşık % 30-50 arasında olduğu bildirilmiştir (Gülcü, 2015).

2.8.7. *Staphylococcus aureus* toksin hastalıkları

***Stafilokokal* Haşlanmış Deri Sendromu**

Genellikle yenidoğan ve ayrıca bir yaşına henüz girmemiş çocuklarda sıklıkla rastlanmasına rağmen yetişkinlerde nadiren görülür. Eksfoliyatif A ve B toksininin etkisi sonucunda meydana gelmektedir. *S. aureus* kolonizasyonu veya infeksiyonu ile epidermisin yüzeysel granulosum hücre tabakasının yaygın deskuamasyonu gerçekleşir (Jones, 2008; Kızıllarslanoğlu, ve ark., 2013).

Toksik şok sendromu

Toksik şok sendromu en basit anlatımla, bakteriler için besiyeri oluşturan kanın vajinada uzun süre beklemesinden dolayı genital bölgede bakterilerin çoğalıp yaydıkları toksinlerin kişinin kanına geçmesi sonucunda meydana gelmektedir. Bu hastalığın şiddetli kas ağrıları, ateş, kusma ve ishal gibi belirtiler ile seyreden vajinal infeksiyon,

gebelik önleyici rahim içi araçlar, düşük, doğum, cerrahi yaralar gibi durumlarda ortaya çıkabilen *Stafilokok* faj grup 1 ile ilişkilendirilen bir hastalık olduğu ifade edilmiştir (Koşum, 2012). Bu hastalık sakat kalmaya hatta kişinin ölümüne sebep olabilmektedir. En dikkat çekici vakalardan bir tanesi de tampon kullanımından kaynaklı ortaya çıkan bu hastalık sonucunda bir bacağı kaybeden Amerikalı model Lauren Wasser'dir (Aköğretmen, 2016).

Besin zehirlenmesi

Besin zehirlenmesi genellikle salgınlar şeklinde görülmektedir. En kısa kuluçka süreli (1/2-6 saat) besin zehirlenmesinden *S. aureus*' un oluşturduğu enterotoksin A ve D sorumludur. Sütlü tatlı, konserve, kremalı pasta, etli yiyecekler, dondurma ve mayonez besin zehirlenmesine en çok sebep olan besin gruplarıdır. Enteretoksinler, sempatik sinirleri etkileyerek ve mide mukozası reseptörlerini irrite ederek mide bulantısı ve kusma ile başlar. İshalle devam eden hastalık genellikle 8 saat içinde kendiliğinden düzelir (Koşum, 2012).

2.9. *S. aureus*'a Bağlı Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler

S. aureus enfeksiyonlarında günümüzde çoğunlukla kullanılan antibiyotikler ve bunların başlıca özellikleri şu şekilde sıralanabilir (Uzun, ve ark., 2013):

- 1-Hücre duvarı sentez inhibitörleri: Beta Laktam Antibiyotikleri, Glikopeptidler
- 2-Protein sentez inhibitörleri: Aminoglikozidler, Makrolidler, Oksazolidinonlar Streptograminler, Linkozamidler, Kloramfenikol
- 3-Nükleik asit sentez inhibitörleri : Sülfonamidler ve trimethoprim, Kinolonlar, Rifampisin
- 4- Hücre zarına etkililer: Daptomisin

2.10. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik çağının başlamasından günümüze kadar antibiyotik kullanımının oluşturmuş olduğu seçici baskı *Stafilokok*larda da kısa bir süre içinde direnç gelişimine sebep olmuştur (Uzun, ve ark., 2013). *S. aureus*'un antibiyotik direnci 1930'lu yıllarda *stafilokok* enfeksiyonlarını tedavi etmek için ilk olarak kullanıma giren sülfonamidler ile başlamış olup, o zamandan günümüze kadar da kullanıma giren her antibiyotiğe

karşı direnç gelişimi sürmüştür. 1940'larda kullanıma giren antistafilokokal etkinliği yüksek olan benzil penisilinler, penisilnaz üreten suşlar sebebiyle kısa sürede etkinliğini kaybetmiştir. 1950'li yıllarda sırasıyla penisilin G, streptomisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin ve daha sonra da makrolidlere direnç gelişmiştir (Gülay, 2008). İlk MRSA olguları 1961'de, metisilin kullanıma sunulmasından 2 yıl sonra İngiltere'de bildirilmiş ve günümüze kadar MRSA klonları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hızlı bir şekilde yayılmıştır (Suma ve ark., 2016).

2.11. Metisilin Direncinin Mekanizması

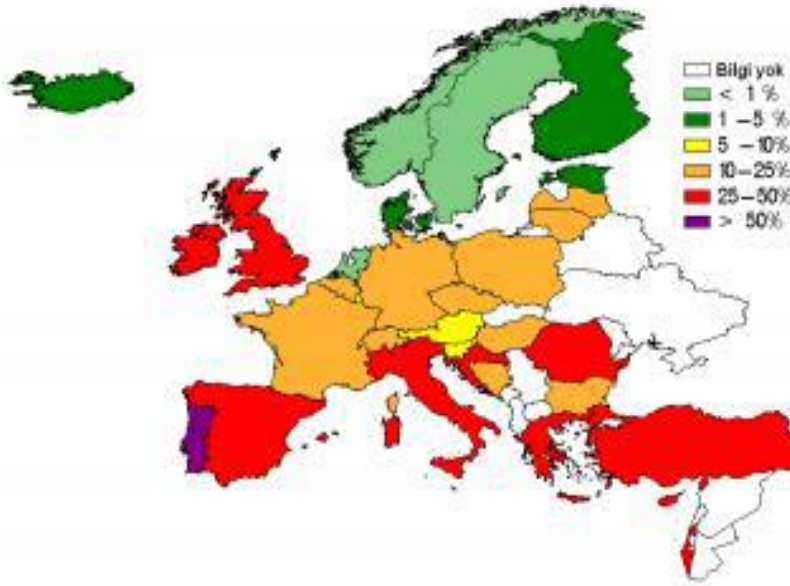
S. aureus'un metisilin direnci oksasilin minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) $\geq 4\mu\text{g/mL}$ olması şeklinde tanımlanmıştır (Alm ve ark., 2014; Gould, 2011).

S. aureus'un penisilin'e olan direncinden farklı olarak, metisilin direncine plazmid kaynaklı bir β -laktamaz aracılık etmemektedir ve bazı ilk literatürlerde intrinsik direnç olarak adlandırılmıştır (Gould ve ark., 2010). Diğer bakteriyel patojenlerdeki β -laktamlara benzer intrinsik direncin, PBP'lerdeki miktarlarıyla ya da β -laktamlar için afiniteyle ilişkili olduğu bulunmuştur ve bu nedenle olası mekanizma olarak MRSA'daki PBP'lere dikkat çekilmiştir. MRSA'ya özgü PBP'lerde değişiklikler gözlemlenmiştir, ancak bunların mevcut PBP'lerin aşırı ekspresyonuna ve / veya modifikasyonuna veya yeni bir PBP'nin varlığına bağlı olup olmadığı belirsizdir. Hartman ve Tomasz, β -laktamlar için afinitesi azalmış PBP2a olarak adlandırılan yeni bir PBP'nin varlığını göstererek, izogenik metisiline dirençli ve kabul edilebilir türler arasındaki ana farkı çözmüştür. Bu bulgu kısa bir süre sonra PBP2 olarak yeni PBP'ye başvuran Utsui & Yokota tarafından doğrulanmıştır (Ünal, 2019). Bu protein, erken literatürde MRSA PBP olarak da adlandırılmaktadır. B-laktamazın tersine, metisilin direncinden sorumlu olan (başlangıçta metisilin direnci için mecr olarak ifade edilen) gen, dirençli suşlarda mevcut olan "yabancı" DNA'nın bir bölgesine kadar izlenen kromozoma yerleştirilmiştir, ancak duyarlı suşlar *Escherichia coli*'de sorumlu genin klonlanması ve ekspresyonu, PBP2a'nın heterolog ekspresyonuna yol açmıştır (Alm ve ark., 2014).

2.12. MRSA'nın Epidemiyolojik Özellikleri

İngiltere'de 1961 yılında ilk kez izole edilen MRSA suşu, SCCmec tip I içerir. Bu MRSA klonu günümüzde Archaic klonu olarak bilinmektedir. Ayrıca, 1960'lı yıllarda bütün dünyaya yayılmıştır. 1980'li yıllarda ise SCCmec tip II taşıyan N315 suşu Japonya'da izole edildiği ifade edilmiştir. Bu klon New York-Japonya klonu olarak tanımlanmış ve bütün dünyada yaygın olarak bulunan bir klondur. Yine 1980'li yılların ortalarına doğru Yeni Zelanda'da SCCmec tip III taşıyan 85/2082 adlı suş tanımlanmış ve 1990'lı yıllarda ise SCCmec tip IV taşıyan klonlar görülmüştür. SCCmec tip V ise ilk defa 2004'te Avustralya'da WIS olarak isimlendirilen izolatta gösterilmiştir. 2004' ten sonraki yıllarda ise sırasıyla SCCmec tip VI, VII, VIII, IX, X ve XI tanımlanmıştır (Kızılarıslanoğlu, ve ark., 2013).

Son 20 yıl içinde frekanslarında hızlı bir yükseliş gösteren MRSA, günümüzde birçok ülkede hastane enfeksiyonlarının kontrolünde önemli bir problem haline gelmiştir. MRSA görülme sıklığı ülkeden ülkeye değişmektedir. İskandinav ülkeleri, Hollanda ve batı Avustralya gibi ülke ve bölgeler dünyada MRSA enfeksiyonlarının en az olduğu bölgelerdir (Yüksekkaya, ve ark., 2017). Ülkemizdeki MRSA oranı ise yıllara göre %50 ile %25 arasında olduğu ifade edilmiştir (Özkaya ve ark., 2015).



Şekil 3. EARSS Avrupa MRSA Oranları, (<http://www.rivm.nl/earss/database/>).

Son yıllarda İngiltere, Fransa, İrlanda, Avusturya ve Yunanistan gibi bazı Avrupa ülkelerinde hastane kaynaklı MRSA görülme oranı düşerken diğer çoğu Avrupa ülkelerinde belirlenen direnç neredeyse değişmemiştir. Türkiye’de ise direnç oranı % 39 olarak saptanmıştır (Özkaya, ve ark., 2015).

1990’lı yıllardan itibaren hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonlarına ek olarak toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları görülme oranlarında artış yaşanmaya başlamıştır (Yüksekkaya, ve ark., 2017).

TK-MRSA ilk defa 1982’de Savoralatz ve ark. tarafından IV ilaç kullanıcıları arasında saptanmış ve daha sonra 1993’te Udo ve ark. tarafından Batı Avustralyanın yerlilerinde belirlemiştir. 1997-1999 yılları arasında ABD’nin Minnesota ve Kuzey Dakota bölgesinde dört sağlıklı çocukta TK-MRSA izole edildikten sonra TK-MRSA’lara karşı ilgi artmış, septik artrit, bakteriyemi, septik şok ve nekrotizan pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlar bu 4 çocuğun ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir (Dönmez, 2011). Avrupa’ya bakıldığında ise halen düşük oranlarda TK-MRSA görülürken, Danimarka ve İsveç gibi ülkelerde bütün MRSA’lar içindeki TK-MRSA oranı artış göstermiştir ve %29-56 gibi yüksek seviyelere ulaştığı kaydedilmiştir. Ayrıca TK-MRSA çocuklarda görülme oranı yetişkinlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır (Özkaya, ve ark., 2015).

Hastane kaynaklı MRSA ile toplum kaynaklı MRSA izolatlarının moleküler mikrobiyolojisi birbirlerinden farklıdır. HK-MRSA izolatlarında, genellikle SCCmec tip I, II ya da III bulunmaktayken, TK-MRSA izolatlarında ise çoğunlukla SCCmec tip IV ve tip V bulunduğu ifade edilmiştir (Çetin, ve ark., 2014).

TK-MRSA klonları ile HK-MRSA klonları arasında da bazı farklılıklar bulunmuştur. ABD’de yapılmış çalışmalarda, TK-MRSA enfeksiyonlarının genellikle 2 çeşit pulsotip ile meydana geldiği bildirilmiştir. Bu pulsotipler USA300 [ST8-IV, PVL(+)] ve USA400 [ST1-IV, PVL(+)]’dir. Öte yandan HK-MRSA enfeksiyonlarının oluşması USA100 [ST5-II] ve USA200 [ST36-IV] pulsotipleriyle meydana geldiği bildirilmiştir. Bu nedenle TK-MRSA’ların HK-MRSA’lardan bağımsız bir şekilde TK-MRSA’lardan geliştiği ifade edilmiştir (David ve Daum, 2010).

TK-MRSA ile HK-MRSA arasındaki başka bir farklılık ise her ikisinin oluşturduğu enfeksiyonlardır. TK-MRSA’lar çoğunlukla cilt veya yumuşak doku enfeksiyonlarına (apse, follikülit vb) ve pnömoniyeye sebep olurken, HK-MRSA’lar

genellikle solunum yolu enfeksiyonları, kan akımı enfeksiyonları ve cerrahi yara enfeksiyonları gibi klinik enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Çetin, ve ark., 2014; Gürsoy, ve ark., 2009; Skov, ve ark., 2012).

2.13. MRSA Enfeksiyonlarının Kontrolü

Günümüzde, hastane enfeksiyonları ağır hastalıklar, çoğul dirençli patojenler, yoğun antibiyotik kullanımı, dirençli mikroorganizmaların seleksiyonu ve kısıtlı antibiyotik kullanımı ile yaygın hale gelmiştir. Yeni antibiyotikler kullanarak direnç problemi ile başa çıkmak mümkün olmadığı ifade edilmiştir. Çetin ve ark.'ları bu enfeksiyonların üstesinden gelmenin tek yolu başarılı enfeksiyon kontrol programları olduğunu bildirmişlerdir (Çetin ve ark., 2014).

Çetin ve ark.'larına göre başarılı bir enfeksiyon programı için ihtiyaç duyulan maddi ve manevi kaynağın sağlanması, etkili iletişimi güçlendirmeye yönelik gereken sistem değişikliklerinin yapılması, sağlık çalışanlarının eğitimi, sorunun belirlenmesi ve bunun için gereken davranış değişikliğinin sağlanmasına yönelik çalışmalar, bilinçli antibiyotik kullanımının özendirilmesi, sürveyans, izolasyon önlemleri, ortam kontrolü, dekolonizasyon, yoğunlaştırılmış önlemlerini içerdiğini belirtmişlerdir. (Çetin ve ark., 2014).

Skov ve ark.'ları MRSA enfeksiyonlarının kontrolünün sağlanmasında kuruluşların, sürveyans verilerine ek olarak, hastaların potansiyeli, personelin içinde bulunduğu koşullar, teknik yapı ve donanımları ve kaynaklarına göre kendi programlarını oluşturması önermişlerdir ve bu sayede kolonizasyonun durdurulması ve bu etkenin hastalar arasında yayılmasının engellenmesi amaçlanmaktadır. MRSA programlarında el yıkama, izolasyon önemlerinin uygulanması, iletişim, taşıyıcıların tedavisi, eğitimi, sürveyans, kontrollü antibiyotik kullanımı gibi temel öğelerin bulunduğunu ifade etmişlerdir (Skov, ve ark., 2012).

Bu konuda yapılan bir çalışmaya göre dört yatağın olduğu bir odaya beşinci yatak eklenmesinin odanın relatif kolonizasyon riskini 3,15 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Hasta ve çalışanların sayısının artırılması ya da geçici personel çalıştırılması da enfeksiyon riskini artırdığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada enfeksiyonun minimum seviyeye düşürmek için çok yataklı odalarda iki yatak arasında 2,7 m mesafenin olması ve yüksek risk taşıyan yoğun bakım ünitelerinde bu mesafenin

daha yüksek olması ve el yıkama muslukları ve dolap hariç her yatağın etrafında 3,7 m² boş alanın olması gerektiği ifade edilmiştir. Dolayısıyla, her kurumun içinde bulunduğu şartlar dikkate alınarak MRSA enfeksiyonlarının kontrolünü yapması gerekmektedir (Honda, ve ark., 2010).

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ile kolonizasyon olası bir *stafilokok* enfeksiyonu için risk faktörü oluşturduğu belirlenmiştir. Bu bakteri suşları ile enfeksiyon ve kolonizasyon anlamlı bir morbidite ve mortalite sebebidir (Yüksekkaya, ve ark., 2017). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan ve *S. aureus* burun kolonizasyonu olan hastalarda *S. aureus* enfeksiyon insidansının anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Honda, ve ark., 2010). Çünkü yoğun bakım üniteleri MRSA ile hastaların hızlıca kolonize olduğu ve enfeksiyonların geliştiği birimlerdir. Bundan dolayı, MRSA ile kolonize bir hastanın yoğun bakım ünitesine alındıktan sonra gereken enfeksiyon kontrol önlemleri alınmadığında, bir salgın gelişmesine sebep olduğu bildirilmiştir (Li, ve ark., 2011).

Yüksekkaya ve ark.'larına (2017) göre *S. aureus*'lar göz, deri, burun, vajina, üretra ve gastrointestinal sistemde sınırlı enfeksiyonlara sebep olurken, ayrıca yaşamı tehdit edebilecek enfeksiyonlara da neden olabileceğini ifade etmiştir ve *S. aureus*'la infekte ya da kolonize kişilerden, özellikle de onlar ile yakından ilgilenen kişilerden elleri aracılığı ile diğer kişilere bulaşabileceğini vurgulamıştır. Bu sebeple, Yüksekaya ve ark.'ları hastanelerde MRSA'ların yayılmasını önlemek için alınması gereken tedbirleri şu şekilde sıralamıştır (Yüksekkaya, ve ark., 2017):

- Hastane enfeksiyon komitelerinin periyodik olarak canlı ve cansız çevreden kültür için örneklerin alınmasının sağlanması,
- Taşıyıcı ve enfekte hastalar ile endemik hastanelerden nakledilen hastaların izolasyonun yapılması,
- Bazı servislerdeki (yoğun bakım üniteleri, dializ üniteleri, mutfak) taşıyıcı personelin daha az riskli servislere naklinin yapılması,
- Yara bakımına özen gösterilmesi,
- Ellerin düzenli ve sık sık yıkanmasına yönelik eğitimlerin verilmesi ve gerekli olduğu durumlarda maske kullanılması,

- MRSA ile kolonize tüm personelin ve hastaların hızlı bir şekilde tedavisi amaçlanarak mupirosin kullanılması gibi önlemlerin alınması olarak ifade etmiştir.

2.14. Tanı Yöntemleri

2.14.1. Kültür ve biyokimyasal testler

Stafilokoklar genellikle koyun kanlı agar, Mannitol Salt Agar (MSA), Columbia kolistin nalidiksik asit besiyeri (CNA), Mueller Hinton Agar (MHA) gibi farklı besiyerinde ekimi yapılabilmektedir. Kültürü tamamlandıktan sonra gram boyama, katalaz, koagülaz, hemoliz, oksidaz, üreaz ve antibiyotiklere duyarlılık testleri ile doğrulama işlemi yapılır (Atmaca, 2013; Yüksekaya, ve ark., 2017).

2.14.2. Ticari tanımlama yöntemleri

Stafilokokların tanımlanması için günümüzde piyasalarda birçok farklı kit ve otomatize sistemleri mevcuttur. Bu sistemlerden bazıları şu şekilde sıralanabilir: API-STAPH, VITEK 1, VITEK 2, Minitex Gram Pozitif panel, ID 32 STAPH, RAPIDEC STAPH, BD Phoenix, GP Microplate test paneli, MIDI Sherlock. Bu yöntemler %70-90 oranında doğruluk payına sahiptir. Bazı sistemler de koagülaz, clumping factor, novobiosin direnci gibi ek testler ile kesinlik arttırılabildiği ifade edilmiştir (Koşum, 2012).

2.14.3. Moleküler yöntemler

Stafilokokların tanımlanması için kültür ve biyokimyasal testlere ek olarak daha kesin sonuçlar veren başka alternatif metotlar da mevcuttur. *S. aureus* için özel nükleaz, koagülaz, protein A, femA, femB, Sa442, 16s rRNA ve yüzey protein genlerinin tanımlanmasında özellikle PCR temelli olan metotlar vardır (Brown ve ark., 2005). Moleküler yöntemlerin maliyeti yüksek olduğu için sadece şüpheli sonuçlar ortaya çıktığında doğrulama amaçlı moleküler yöntemlere başvurulmaktadır. Ek olarak, fenotipik tekniklerde yağ asidi analizi (FAME) Stafilokokların tanımlanmasında

kullanılan başka bir yöntemdir ancak bu yöntemin uygulanması çok zaman aldığından dolayı çok tercih edilen bir yöntem değildir (Atmaca, 2013).

PCR Yöntemi:

MRSA'nın tanısında mecA geni saptamaya yönelik geliştirilmiş PCR teknikleri altın standart olarak tanımlanmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi Kary Mullis tarafından 1985 yılında tamamlanmıştır. PCR yöntemi tamamlandıktan sonra nükleik asit amplifikasyon yöntemleri hızlı bir şekilde tanı laboratuvarlarında yerini almıştır. PCR yönteminin hızlı bir şekilde sonuç verme, konvansiyonel yöntemler ile belirlenmesi zor ve imkansız mikroorganizmaları saptanabilmesi ve yüksek duyarlılığı sebebiyle klinik mikrobiyolojide kayda değer bir tanısal yöntem olmuştur (Becker ve ark., 2013).

Rutin mikrobiyolojik tanılarda PCR yöntemini kullanmadaki amaç, hastalardan alınan örnekler içinde, hastalık etkeni mikroorganizmanın nükleik asitlerin var olup olmadığını saptamaktır. PCR yöntemi, nükleik asitlerin in vitro olarak çoğalmasını ve bu sayede yüksek duyarlılık ile belirlenmesine imkan sağlayan bir yöntem olduğu ifade edilmektedir. Başka bir söyleyişle, canlı olan bir hücrede gerçekleşen DNA replikasyonu, PCR yöntemi kullanıldığında, bir tüp içinde taklit edilir. Bu amaçla, bakteri hücrelerinde DNA replikasyonu için kullanılan enzimlerin işlevleri, farklı sıcaklıklar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bakteri replikasyonunun başlaması için ilk basamak, DNA çift zincirlerinin birbirinden ayrılmasıdır. Bakterilerde bu işlem helikaz enzimi ile yapılırken, PCR yönteminde ise 94°C gibi yüksek bir ısıya maruz bırakılarak zincirlerin birbirlerinden ayrılmaları sağlanır. PCR yönteminde yüksek sıcaklıklar ile çalışan Taq polimeraz enzimi kullanılmaktadır (Becker, ve ark., 2013).

PCR yöntemi üç farklı sıcaklık ile çalışan basamakların bir döngü halinde yinelenmesi şeklinde gerçekleştirilmektedir. Bu basamakların ilki "denatürasyon"dur. İkinci basamak "birleşme"dir (annealing). Üçüncü basamak ise "polimerizasyon" veya "sentez" aşamasıdır (Becker, ve ark., 2013).

2.14.4. Metisilin direnci belirleme yöntemleri

Disk Difüzyon Yöntemi:

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bu yöntem, maliyetinin az olması ve uygulaması bakımından basit olduğu için tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem Kirby Bauer tarafından geliştirilmiş ve bu isimler ile anılmaktadır. Bakteri süspansiyonunu 0,5 Macfarland bulanıklığa ayarlandıktan sonra Mueller- Hinton agar'a (MHA) ekim yapılarak, üzerine 1 µg'lık oksasilin diski veya 30µg'lık sefoksitin diskleri eklenerek 35 °C'de 24 saat inkübe edilir. CLSI tarafından belirlenen değerlere göre;

- oksasilin için inhibisyon zon çapı ≥ 13 mm ise duyarlı, 11-12 mm ise orta duyarlı, ≤ 10 mm ise dirençli
- sefoksitin için inhibisyon zon çapı ≥ 22 mm ise duyarlı, ≤ 21 mm ise dirençli olarak kabul edilmektedir (Biçer, 2009).

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi:

%2 NaCl içeren katyon katkılı Mueller- Hinton sıvı besiyerine inokulum miktarı 5×10^5 cfu/ml oksasilin antibiyotiği ile beraber 35 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra MİK değeri $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ ise duyarlı, $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ise dirençli olarak kabul edilmiştir (Biçer, 2009).

Agar Tarama Yöntemi:

6 µg/ml oksasilin ile %4 NaCl içeren MHA'ya 0.5 Mc Farlanda ayarlanmış bakteri süspansiyonundan ekim yapılır. 35 °C' de 24 saat inkübasyondan sonra üreme var ise bu suş metisiline dirençli olduğu ifade edilmektedir (Atmaca, 2013).

Diğer Yöntemler:

Plastik test stripleri, PBP2a' ya reaksiyon gösteren lateks aglütinasyon testleri, seçici ve ayırt edici besiyeri olan ve özgülüğü yüksek sefoksitin gibi antibiyotikleri

içeren ve inkübasyondan sonra renkli koloniler oluşturabilen kromojenik besiyerleri kullanımına başvurularak metisilin direncinin belirlenebileceği ifade edilmiştir (Li, ve ark., 2011).

Bu yöntemlere ek olarak PNA-FISH (floresan in situ hibridizasyon), Evigene MRSA yöntemleri de moleküler tabanlı direnç belirlenirken başvurulan yöntemlerden bazılarıdır. Bu testlerin özgülüğü yüksek olmamasına rağmen ve ayrıca kısa sürede sonuç alınabilmesine rağmen maliyeti yüksek olduğundan dolayı her laboratuvar için uygun olmayabilir (Çetin ve ark., 2014).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Klinik Örneklerden Bakteri İzolasyonu ve Örneklerin Toplanması

2010-2016 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli örneklerden (yara, kan, balgam, solunum, balgam, apse, osteomyelit vs.) izole edilmiş 50 adet MRSA suşları belirlenerek çalışmaya dâhil edilmiştir. Her hastadan tek bir izolat alınmıştır. Laboratuvara gönderilen klinik örneklerden Kan kültürü örnekleri ise Bactec 9642 (Becton- Dickinson) ve BACT/ALERT 3D (Bio- Merieux) otomatize kan kültürü cihazlarında inkübe edildi cihaz pozitif uyarı verene kadar en fazla yedi gün inkübe edildi. Pozitif uyarısı veren şişelerden %5 kanlı agar, EMB agar besiyerlerine ekim yapıldı. Ekimi yapılan kültürler 18-24 saat süre ile 37 °C’ de inkübe edildi ve daha sonra değerlendirildi. Bronko-alveolar lavaj, trakeal aspirat örnekleri, beyin omurilik sıvısı (BOS), asit mayi, plevral mayi örnekleri, yara, apse, idrar örnekleri ve diğer klinik örnekler % 5 koyun kanlı agar (COS; bioMerieux) ve EMB besiyerine (COS; bioMerieux) ekildi ve 35-37 °C’de, 18-24 saat inkübe edildi. Bakteri üremesi saptanan kolonilerden Gram boyası yapılarak Gram pozitif kok olanlara katalaz ve plazma koagülaz testi uygulandı.

Standart mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanan gram pozitif kok görünümündeki bakteriler tür düzeyi tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile belirlenmiştir. Suşlar laboratuvarımızda %20 gliserollü buyyonda -80 °C’de çalışmaya kadar muhafaza edilmiştir. Çalışmada gradient test yöntemi kullanılarak fenotipik olarak metisilin direnci, oxasilin ve sefoksitin stripleri kullanılarak araştırılmıştır. Vitek 2 Biomerioux, otomatize sistemi ile suşların oxasilin ve sefoksitin direnç düzeyleri araştırıldı. Daha sonra laboratuvarımızda real time PCR yöntemi ile mecA gen varlığı araştırılmıştır.

3.2. Stafilokok İdentifikasyonu

İnkübasyonu yapılan kültürlerde kanlı agar ve Eozin Metilen mavisi (EMB) besiyerlerinde aynı anda saf kültür halinde üremiş koloniler Gram negatif bakteri olarak değerlendirildi. Sadece kanlı agar besiyerinde üremiş kolonilerden Gram boyası yapıldı. Gram pozitif kok görünümündeki bakterilere *stafilokok* kolonisi olup olmadıklarını

anlamak için katalaz testi ve sonrasında *stafilokok* tiplendirmesi için koagülaz testi yapıldı.

3.2.1. Gram boyama

Besiyerinde üremiş olan *S. aureus* kolonisinden öze yardımıyla alınarak temiz bir lam üzerine serum fizyolojik ile birlikte yayılır. Lam üzerinde havada kuruduktan sonra alevden 3 kez geçirilmek suretiyle tespit edilir. Tespit işleminin ardından kristal viyole ile 1 dakika bekletildikten sonra musluk suyundan geçirilerek lügolde de 1 dakika bekletilir. Bir dakikanın sonunda musluk suyundan geçirilerek %96'lık etil alkol ile yıkanır. Son olarak da sulu fuksinde 30 saniye bekletilir ve musluk suyundan geçirilerek gram boyama tamamlanmış olur. Işık mikroskopunda 100'lük objektifle incelenir ve mor renkli üzüm salkımına benzer şekilde kümeleşmiş koklar stafilokok olarak tanımlanır.

3.2.2. Katalaz Testi

Şüpheli kolonilerden lam üzerinde süspansiyon yapıldıktan sonra üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatıldı ve hava kabarcığının oluşup oluşmamasına bakıldı. Hava kabarcığı oluşumu gözlemlenen bakteriler katalaz pozitif olarak değerlendirildi ve stafilokok suşu olarak tanımlandı.

3.2.3. Lam Koagülaz Testi

Temiz bir lam üzerine bir damla sitratlı tavşan plazması (Difco) ve sitratlı taze insan plazması damlatılarak birkaç stafilokok kolonisi ile süspansiyon edildi. On saniye içinde kümeleşme oluşup oluşmadığı gözlemlendi. Her suş için steril serum fizyolojik kullanılarak testin kontrolü yapıldı.

3.3. Suşların Vitek 2 Otomatize Sistemde Araştırılması

Gram boyama ile Gram pozitif kok görünümünde olduğu anlaşılan bakterilerin Vitek 2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sistem cihazında antibiyotik duyarlılığı için cihaz çalışma prosedürüne uygun bir şekilde tüpte bakteri süspansiyonu hazırlandı.

Cihaza ise antibiyotik duyarlılığı için AST- P640 kartı yerleştirildi. Hasta bilgilerinin kaydı ve tüplerin yerleştirildiği kasetin cihaza yerleştirilmesi cihaz kullanım talimatına uygun bir şekilde yapıldı.

Antibiyogram kart işlemleri:

1. 3.0 ml steril tuzlu su plastik tüpe alınır,
2. 24 saatlik taze plaktan benzer kolonilerden 3-4 koloni eküvyon çubuğu ile seçilir, steril tuzlu su bulunan plastik tüpe alınır.
3. Organizma süspansiyonu vortekste homojen hale getirilir,
4. Gram + / - : 0.50-0.63 McFarland'a ayarlanır,
5. Süspansiyon tüpü ve ID kartı kasete yerleştirilir,
6. ID tüpünden AST tüpüne 280 µl pipetlenir,
7. Gram-pozitif Antibiyogram 3 ml tuzlu su + 280 µl of 0.5 - 0.63 McFarland süspansiyonundan oluşur.
8. Cihaza kayıt yapılır.

3.4. Gradient Test (Oksasilin ve Sefoksitin) Yöntemi

E- test yöntemi (AB Biodisk, Solna, İsveç) mikrodüzyon ve disk difüzyon sistemlerine benzer. Antimikrobiyal duyarlılığını tespit amacıyla ince plastik test stripleri kullanılmaktadır. Striplerin alt yüzeyinde antimikrobiyal konsantrasyonlar kademeli olarak bulunur. Üst yüzeyi ise kontrastasyon indeksi veya ölçek ile işaretlenmiştir. Disk difüzyon testine benzer şekilde agara bakteri inoküle edilir ve stripler yerleştirilir. Bir gece inkübe edilir ve strip etrafındaki elips şeklindeki İnhibisyon zonu incelenir. Elipsin E-test sribini kestiği nokta MİK olarak belirlenir. MİK herhangi bir mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanabilir.

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda bakterilerin 0,5 Mc Farland eşeline uygun olarak serum fizyolojik içinde bakteri süspansiyonları hazırlanarak ve Mueller Hinton agar yüzeyine yayılmıştır. Oksasilin ve sefoksitin E-test seritleri yerlestirildikten sonra 35°C' de 24 saat inkübe edilerek, oksasilin ve sefoksitin MİK degerleri belirlenmiş ve CLSI'nın önerdiği MIC değerleriyle karşılaştırılmıştır. Oksasilin ve sefoksitin için 2 MİK değerleri duyarlı, 4 MİK değerleri dirençli olarak kabul edilmiştir. Kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

3.5. Metisilin Direncinin Moleküler Yöntemle Araştırılması

3.5.1. Genomik DNA izolasyonu

Kanlı agar besiyerinde 37°C’de 24 saat inkübe edilen stafilokoklardan öze ile bir koloni alındıktan sonra 1.5 ml’lik steril tüp içerisine alınır. Üzerine 500 µl distile su eklenip vortekslenir. Vortekslenen karışımdan 300 mikron alınıp başka bir tüpe aktarılır. Üzerine 100 µl lizozim aktarılır. Bu karışım 30’dakika 37°C’de inkübe edilir. Daha sonra Fluorion i12 Nükleik Asit İzolasyon cihazına bırakılarak izolasyon işlemi başlatılır. (İzolasyon işlemi cihaz otomatik olarak yapar.) İzolasyon sonrası elimizde 100 µl bakteri DNA’sı elde edilmiş olur.

3.5.2 PCR işlemi

Örnekten nükleik asit izole edilir ve mecA geninin 310 bazlık bölümü ile *nuc* geninin 279 bazlık bölümü aynı reaksiyonda real-time PCR cihazında çoğaltılır. mecA geni FAM, *nuc* geni ise Cy5 işaretli diziye özgü proplar yardımı ile saptanır. PCR’nin sentez aşamasında proplar Taq Polimeraz’ın 5>3 eksonükleaz aktivitesi nedeniyle parçalanırlar ve floresan boya molekülü ile soğurucu molekül birbirinden ayrılır. Probu parçalanması floresan miktarında artışa sebep olur. Floresan miktarındaki bu artış, oluşan PCR ürün miktarı ile doğru orantılıdır ve real-rime PCR cihazı tarafından gerçek zamanlı olarak ölçülür. Cy5 kanalından alınan pozitif sinyal örneğin *S. aureus* pozitif olduğunu, FAM kanalından alınan pozitif sinyal ise metisilin dirençli olduğunu gösterir.

Stafilokoklarda metisilin direncinden sorumlu gen varlığı mecA genine spesiifik primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Reaksiyonun Hazırlanması

Kit İceriği

Kitte kullanılan materyallerden her biri, nükleik asit kontaminasyonu olasılığına karşı test edilmiştir. Kit bileşenleri 3 kereden daha fazla dondurulup çözündürmeleri sağlandı. Optimal performans sağlamak için uygun hacimlerde bölerek saklandı.

Tablo 2. Kit İceriği

	100	50	25
1.dH ₂ O	1000 µl	1000 µl	1000 µl
2a. PCR Mix	1400 µl	700 µl	350 µl
4a. Deteksiyon Mix1	440 µl	220 µl	100 µl
4b. Deteksiyon Mix2	220 µl	110 µl	55 µl
6a. Pozitif Kontrol 1	22 µl	11 µl	6 µl

Uygulama

Aşağıda Tablo 3'te verilen miktarlar 1 reaksiyon için geçerlidir.

Tablo 3. Ana Karışım

PCR Mix (HotStar Taq DNA polimeraz, QuantiTect SYBR PCRTamponu Dntp içeren Dntp karışımı 8Mm MgCl ₂),	12.5 µl
Deteksiyon Mix 1	2.0 µl
Deteksiyon Mix 2	4.0 µl
dH₂o	1.5 µl
Her Kuyucuğa	20.00 µl
Örnek DNA (Pozitif Kontrol)	5.00 µl
TOPLAM	25.00 µl

PCR'ı yapılacak her bir örnek için 25.00 µl'lik reaksiyon hazırlandı. Bu amaçla 12.5 µl'lik PCR Mix (HotStar Taq DNA polimeraz, QuantiTect SYBR PCRTamponu, Dntp içeren Dntp karışımı 8Mm MgCl₂), Deteksiyon Mix 1 için 2.0 µl, Deteksiyon Mix 2 için 4.0 µl ve dH₂o için 1.5 µl'lik reaksiyon hazırlandı. Daha sonra her kuyucuğa 20.00 µl ve 5.00 µl örnek DNA / Pozitif Kontrol 1 eklendi. Sıvı hacmin tamamının çukurcukların dibine ulaşmaya kadar santrifüz yapıldı. Daha sonra iCycler

programında “Protocol Library”/“Protocol Files”/“MRSAQLP.tmo” seçildi. MRSAQLP.tmo aşağıda belirtilen PCR parametrelerini içermektedir:

95 °C > 13.30 dk
94 °C > 00.30 dk
57 °C > 01.00 dk
27 °C >

} 50 Döngü

Örneklerin tamamlanması için “Protocol Library” / “View Plate Setup” / Edit basamakları izlenerek pozitif ve negatif standartları ve örnekleri tanımlandı.

Kit Bileşenlerin Özellikleri

PCR Mix: HotStar taq DNA Polimerazı *Thermus aquaticus*'tan izole edilmiş, *E. Coli*'ye klonlanmış 94 kDa'luk recombinant DNA polimerazın modifiye edilmiş bir formudur. Enzim inaktif bir formda verilir. Bu özelliği sayesinde hatalı bağlanan primerlerin ya da primer-dimerlerin önüne geçilir ve daha yüksek PCR spesifitesi ve kontinasyon hassasiyeti sağlanır. QuantiTech Probe PCR Tamponu: Tris-Cl, KCl, (NH₄)₂SO₄, 8Mm MgCl₂ içerir. 20°C'de pH 8.7'dir. dNTP Karışımı ise Ultrasaf dATP, dGTP, dCTP, dTTP/dUTP içerir.

Deteksiyon Mix 1: Deteksiyon Mix 1, *mecA* genine özgü forward ve reverse primerler (0.6 µM) ve FAM- işaretli prob içerir.

Deteksiyon Mix 2: Deteksiyon Mix 2, *nuc* genine özgü forward ve reverse primerler (0.6 µM) ve Cy5-ışaretli prob içerir.

Pozitif Kontrol: Pozitif kontrol MRSA DNA'sı içerir. Testi kontrol etmek amacıyla her çalışmaya dahil edilmelidir.

Sonuç Değerlendirme: MRSAQLP. tmo programı sona erdiğinde yazılımın otomatik olarak çizdiği eşik çizgisini kesen örnekler pozitif, bu çizginin altında kalanlar ise negatiftir. FAM filtresinden elde edilen artışlar *mecA* geninin, CY-5 filtresinden elde edilenler ise *nuc* geninin varlığını belirtir.

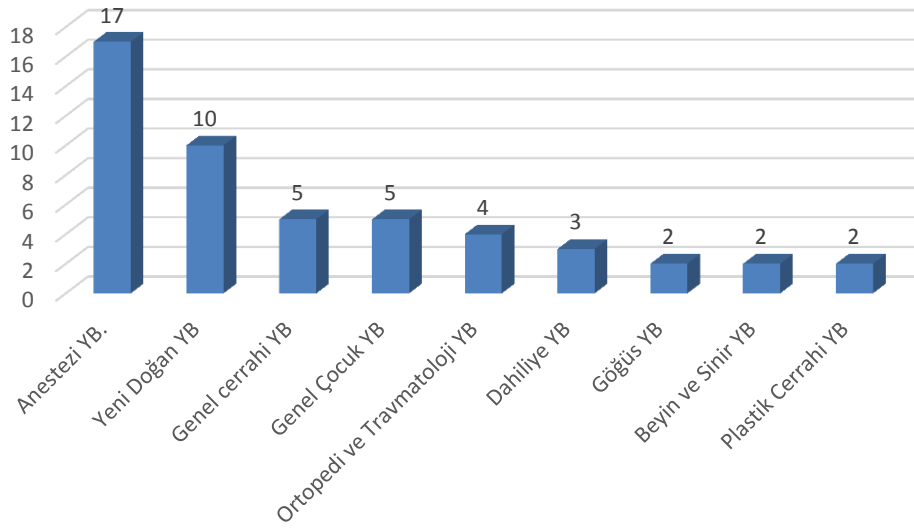
3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS 15.0 istatistik paket programında değerlendirilmiş, Genotype MRSA yöntemi altın standart kabul edilerek fenotipik yöntemlerin özgüllük ve duyarlılıkları ilgili formüller kullanılarak hesaplanmıştır

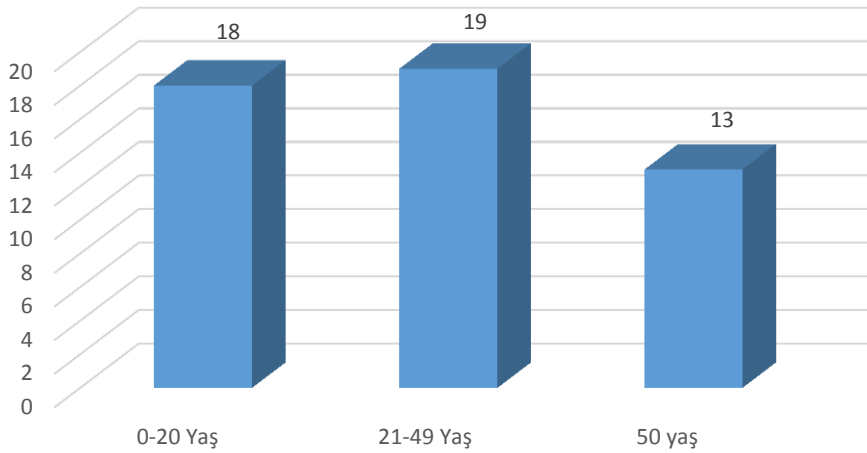


4. BULGULAR

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi 9 farklı kliniğinden gönderilen hasta örneklerinden 50 MRSA suşu izole edilmiştir. MRSA suşları, en fazla Anestezi Yoğun Bakım (%34) ve Yeni Doğan Yoğun Bakım (%20) kliniklerinden gönderilen örneklerde izole edilmiştir. MRSA suşlarının gönderildikleri kliniklere göre dağılımı ve yaş aralığı dağılımı Şekil 3'te sunulmuştur.

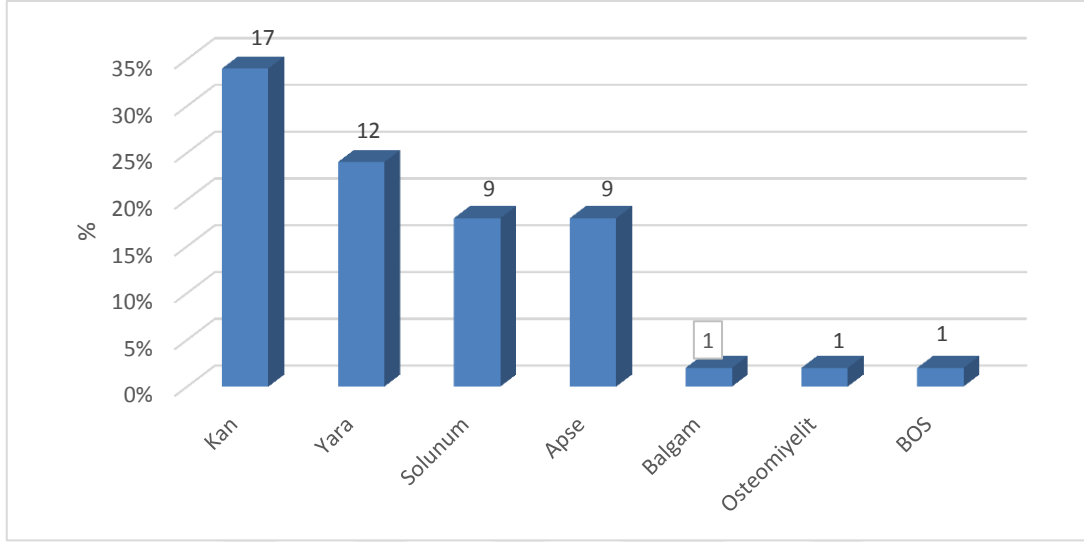


Şekil 4. MRSA Suşlarının Gönderilen Kliniklere Göre Dağılımı



Şekil 5. MRSA Suşu izole edilen hastaların yaş dağılımı

İncelenen MRSA örneklerin %34'ü kan (17 adet) , %24'ü yara (12 adet), %18'i solunum ve apse (her biri 9 adet), %2'si balgam, osteomyelit ve BOS (her biri 2 adet) kültürlerinden izole edilmiştir. Bakterilerin klinik örneklerle göre yüzdelik dağılımı Şekil 4'te sunulmuştur.



Şekil 6. MRSA Suşlarının Klinik Örneklerle Göre Dağılımı

Hasta örneklerinden izole edilen 50 MRSA suşunda *mecA* geni varlığının konvansiyonel, otomatize ve PCR yöntemleri kullanılarak yapılan MRSA tarama sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

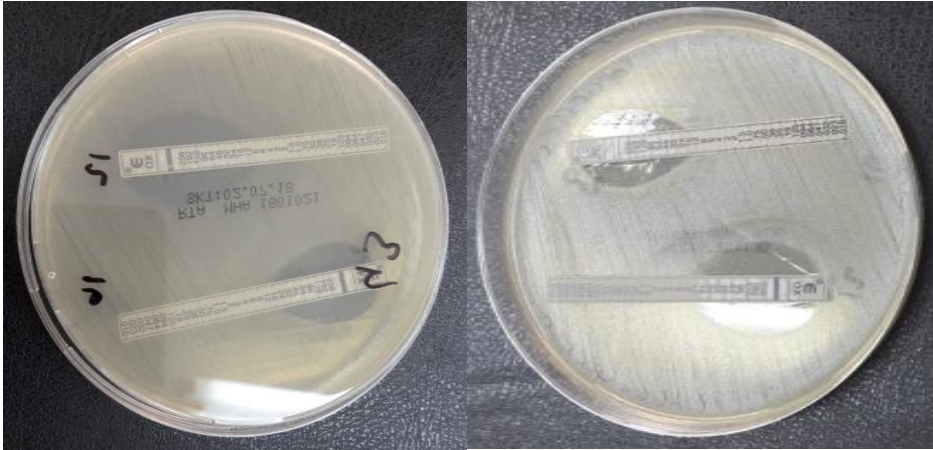
Tablo 4. Suşların *mecA* Geni Varlığına Göre Dağılımı ve Kullanılan Yöntemlerin MRSA Olarak Belirledikleri Suş Sayıları

YÖNTEMLER		MRSA [<i>mecA</i> (+)]	MSSA [<i>mecA</i> (-)]
PCR		50	0
Gradient Test	Oksasilin (OX)	49	1
	Sefoksitin (FOX)	50	0
Vitek 2 Otomatize	Oksasilin (OX)	50	0
	Sefoksitin (FOX)	50	0

İncelenen 50 adet *S. aureus* suşunun Oksasilin E-test yöntemi ile incelenmesi sonucu 49'u dirençli saptanırken (MİK>2) bir tanesi duyarlı (MİK ≤ 2) saptanmıştır. Sefoksitin E-test yöntemi ile incelenen örneklerin tamamı dirençli (MİK>4) olarak saptanmıştır. Vitek 2 otomatize sistem sonuçları incelendiğinde ise incelenen örneklerin tamamı oksasilin ve sefoksitine dirençli olarak (MİK>4) belirlenmiştir PCR yöntemi ile tüm örneklerde mecA geni varlığı gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre PCR yöntemi referans alınarak oksasilin E-test yönteminin duyarlılığı %98, sefoksitin ve Vitek 2 otomatize sisteminin duyarlılıkları ise %100 olarak tespit edilmiştir. MRSA tanısında kullanılan yöntemlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. MRSA Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Duyarlılık ve Özgüllüklerinin Karşılaştırılması

YÖNTEMLER		Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Gradient Test	Oksasilin (OX)	98	100
	Sefoksitin (FOX)	100	100
Vitek 2 Otomatize	Oksasilin (OX)	100	100
	Sefoksitin (FOX)	100	100



Şekil 6: E-test yöntemi ile İncelenen Örnekler

Tablo 6. İncelenen MRSA Suşlarının Oksasilin ve Sefoksitin MİK Değerleri

MİK değerleri	Oksasilin	Sefoksitin
	Suş sayısı (n)	Suş sayısı (n)
2	1 (S)	-
3	-	-
4	1 (R)	-
6	-	1 (R)
8	-	-
12	2 (R)	2 (R)
16	2 (R)	2 (R)
24	1 (R)	2 (R)
32	3 (R)	1 (R)
48	2 (R)	5 (R)
64	1 (R)	7 (R)
96	5 (R)	1 (R)
128	1 (R)	1 (R)
192	-	-
256	31 (R)	28 (R)
Toplam	50	50

S: duyarlı, R: dirençli

Tablo 6' da incelenen MRSA suşlarının MİK değerleri verilmiştir. Tablo 6' da görüldüğü gibi Oksasilin E- test yöntemi ile incelenen suşların 49'u dirençli iken (MİK>4), 1 örneğin duyarlı olduğu tespit edilmiştir (MİK< 2). Sefoksitin yöntemi ile incelenen suşların tamamı dirençli olarak tespit edilmiştir (MİK>4).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

S. aureus toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonların önemli etkenlerden birisidir. *S. aureus* lokal ve sistemik birtakım hastalıklara neden olabilmektedir. Tedavi edilmezse, bu mikroorganizma kan yoluyla farklı organlara yayılıp osteomyelit ve septik artrit gibi ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir (Tanrıverdi, ve ark., 2017). Özellikle MRSA son yıllarda pandemilere sebep olurken ciddi *stafilokok* infeksiyonlarında artışın da önemli sebeplerinden birisidir (Gould, ve ark., 2010). Günümüzde, MRSA suşları tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı, tedavide kullanılan antibiyotikler ve infeksiyon kontrol önlemlerinin maliyeti nedeniyle günümüzde önemli sağlık sorunu olmuştur (Aköğretmen, 2016).

Başta MRSA olmak üzere, çoğul antimikrobiyal dirençli *stafilokok* infeksiyonlarının morbidite ve mortalitesinin yüksek olması ve tedavi maliyetinin yüksek olmasından dolayı bu infeksiyonların görülme sıklığı hemen hemen her ülkede izlenmesine neden olmuştur. Başta sanayileşmiş ülkeler olmak üzere birçok ülke konuya ilişkin çok merkezli çalışma programları düzenlemiş ve MRSA yayılmasını engellemek amacıyla kendi ulusal rehberlerini oluşturmuşlardır (Tanrıverdi, 2017).

Özkaya ve ark.'ları hastanede yatan hastalarda MRSA'ya rastlanma sıklığının toplumdaki hastalara göre daha yüksek olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca, başta invaziv işlemler olmak üzere, uzun süreli hospitalizasyon, ileri yaş ve daha önceden antimikrobiyal ajan kullanımı, bu mikroorganizmaların sonucunda oluşan infeksiyonlar açısından en önemli risk faktörleri olduğunu bildirmişlerdir. Bu risk faktörleri içinde yoğun bakım üniteleri, cerrahi birimler, diyaliz üniteleri ve AIDS hastalarının tedavi edildiği ünitelerin yer aldığı ifade edilmiştir (Özkaya ve ark., 2015).

National Nosocomial Infections Surveillance System Amerika Birleşik Devletleri'nde, MRSA epidemiyolojisinde meydana gelen değişiklikleri devamlı bir şekilde takip etmektedir. Amerika'daki hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde 1992-2003 yılları arasında infeksiyonların tarandığı bir çalışmada, *S. aureus* izolatlarının %64'ünde MRSA tespit edilmiş ve yıllık atış oranının %3,1 olduğu saptanmıştır (Klevens, ve ark., 2006). Yapılan başka bir çalışmada ise 2006-2007 yılları arasında ABD'de MRSA oranı %79 olarak tespit edilmiştir (Kallen, ve ark., 2009). Orrett ve Land'ın 1999 ve 2004 yılları arasında Trinidad bölgesinde yaptığı çalışmada 2430 *S.*

aureus izolatu arasında MRSA oranını dünya çapında daha önce yapılan birçok survekans çalışmasına benzer olarak %18.6 olarak saptamışlardır. Halbuki aynı bölgede daha önce yapılan çalışmalarda bu oran %9.8 olarak tespit edilmiştir (Orrett ve Land, 2006).

MRSA'nın görülme sıklığı ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye değişebilmektedir. Ülkeler ve bölgeler arasında ciddi farklılıklar bulunabilmektedir. Son yıllarda İngiltere, Fransa, İrlanda, Avusturya ve Yunanistan gibi bazı Avrupa ülkelerinde hastane kaynaklı MRSA görülme oranı düşerken diğer çoğu Avrupa ülkelerinde belirlenen direnç neredeyse değişmemiştir (Çetinkol, ve ark., 2013). Altınöz ve ark.'ları *S. aureus*'larda MRSA oranının en yüksek olduğu bölgenin batı Pasifik bölgesi olduğunu bildirmişlerdir. (Altınöz, ve ark., 2013). Bin ve ark.'larının Kore'de yaptıkları çalışmada *S. aureus*'larda MRSA oranı %64 olarak bulunmuştur (Bin ve ark., 2014). Hsueh ve ark.'larının Tayvan'daki bir hastanede yaptıkları çalışmada ise direnç oranı yaklaşık olarak %77 olarak saptanmıştır (Hsueh, ve ark., 2014). Kuzey Amerika'da yapılan bir çalışmada bu oran %38-50 (Kuehnert, ve ark., 2011), Orta Doğu'da bu oran %33-40 ve Hindistan'da bu oranın %18-43 olduğu saptanmıştır (Kampf ve ark., 2011). Jamaika ve Küba'da bu oran %10 altında iken, Güney Amerika'da %10-66, Avrupa'da %25-58 olduğu ifade edilmiştir (Fluit, 2009). Türkiye'de ise direnç oranı % 39 olarak saptanmıştır (Özkaya, ve ark., 2015). İskandinav ülkeleri, Hollanda ve batı Avustralya gibi ülke ve bölgeler dünyada MRSA enfeksiyonlarının en az olduğu bölgelerdir (Yüksekkaya, ve ark., 2017). Ülkemizdeki MRSA oranının ise yıllara göre %50 ile %25 arasında olduğu ifade edilmiştir (Özkaya ve ark., 2015). Ülkeler ve bölgeler arasında MRSA oranındaki farklılıklar hasta popülasyonuna, *S. aureus* suşlarının biyolojik özelliklerine ve enfeksiyon kontrol önlemlerindeki çeşitliliğe bağlı olduğu düşünülmektedir.

Türkiye'de son yıllarda MRSA görülme oranı üzerine yapılan birçok çalışmada oranların birbirinden oldukça farklı olduğu gözlenmiştir. Bozca ve ark.'larının 2007 de yaptıkları bir çalışmada 2005-2006 yılları arasında çeşitli hasta örneklerinden izole edilen 720 *S. aureus* suşunun %34'ünde MRSA tespit etmişlerdir (Bozca, ve ark., 2007). Güner ve Gürler 2007'de yapmış oldukları bir çalışmada 2001-2006 yılları arasında cerahat ve yara örneklerinden elde edilen toplamda 1373 *S. aureus* suşunun %29'unda MRSA tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ayrıca MRSA sıklığını 2001 ile

2006 yılları arasında sırasıyla %35, %39, %34, %18, %23 ve %20 olduğunu saptamışlardır (Güner ve Gürler, 2007). Orak'ın 2015'te Mardin Devlet Hastanesi'nde 2011-2013 yılları arasında metisiline dirençli *stafilokoklarda* direnç profillerini belirlemek için yaptığı çalışmada 73 *S. aureus* suşunun 22 (%30,1)'sinde MRSA saptanmıştır (Orak, 2015).

Karlıbaş'ın 2012' de Yoğun Bakım Ünitesindeki hastaların nazal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılık oranı, taşıyıcılık için risk faktörlerin, *S. aureus* suşlarında Panton- Valentine lökositin (PVL) ve Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarında Stafilokok kaset kromozom mec (SCCmec) tiplerinin bulunma oranı belirlemek için multiplex polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile PVL için *lukS-PV* ve *lukF-PV*, SCCmec varlığının araştırıldığı çalışmada, İzole edilen 42 *S. aureus* suşunun hiçbirinde PVL geni bulunmadı. İzole edilen 1 MRSA suşunun SCCmec tip III bulunduğunu tespit etmiştir (Karlıbaş, 2012)

Cirit ve ark.'ları 2009'da PCR yöntemi ile MecA1 ve MecA2, Luk-PV-1 ve Luk-PV-2, Staph756F ve Staph750R primerleri kullanarak yaptıkları bir çalışmada, *S. aureus* izolatlarında mecA geni ve lukS/F-PVL geninin varlığını araştırmışlardır. Çalışmada 150 *S. aureus* suşu içinde mecA geninin bulunma oranını %86.6 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada ayrıca VITEK 2 ile elde edilen metisilin dirençli ve duyarlı izolatların PCR ile elde edilen sonuçlarını birbirleri ile tamamen uyumlu olduğunu saptamışlardır (Cirit ve ark., 2009).

Çiçek ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada VITEK 2 sistemiyle *S. aureus* olarak tanımlanan 100 suş çalışmaya alınmıştır. Suşların MRSA direnç varlığı VITEK 2 sistemi ve D-test olarak tanımlanan disk difüzyon testi ile araştırılmıştır. Çalışmada VITEK 2 yöntemi ile belirlenen suşların duyarlılık ve özgüllüğü, % 93.3 ve % 100 olarak tespit edilmiştir (Çiçek ve ark., 2016).

MRSA ile kolonizasyon, enfeksiyonların ortaya çıkmasında önemli bir risk faktörü olarak görülür. Yapılan bir çalışmada Yoğun Bakım Ünite'ye kabul edilen hastaların %11,4'ü MRSA ile kolonize olduğu ve kolonize hastalarının %29'unda enfeksiyon geliştiği (Huang ve Platt, 2003). Ulutürk ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise kolonize olan 14 hastanın 2'sinde enfeksiyonun geliştiği saptanmıştır (Ulutürk ve ark., 2010). Şahin ve ark.'ları, toplumsal kökenli MRSA kolonizasyonu ile ilgili olarak 0-15 yaş arasında değişen 1000 çocuk üzerinde yapmış oldukları bir araştırmada 173 *S.*

aureus izole etmişlerdir. Bu izolatlardan bir tanesi MRSA olarak saptanmıştır (Şahin, 2003).

Ertaş ve Gönülalan'ın yaptığı bir çalışmada, MRSA olarak tanımlanan 86 suş üzerine *mecA* geninin olup olmadığı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada *mecA* geninin olup olmadığını saptamak amacıyla farklı yöntemler kullanmıştır. PCR çalışmasında MRSA olarak tanımlanan 86 suştan 8 tanesinde *mecA* geni bulunamamıştır. Kontrol amaçlı kullanılan 30 MSSA suşunun hiçbirisinde ise *mecA* geni tespit edilmemiştir. Sefoksitin sonuçlarına bakıldığında ise *mecA* geni tespit edilmeyen 8 MRSA suşundan 1 tanesi sefoksitine duyarlı ve 7 tanesi dirençli olarak saptanmıştır. Ayrıca sefoksitine duyarlı olduğu halde oksasiline dirençli olduğu tespit edilen bir diğer suşun da *mecA* geni içerdiği görülmüştür. Ayrıca, Oksasilin duyarlılığı ve *mecA* geni varlığı karşılaştırıldığında, *mecA* geni içermeyen 8 suşta dahil olmak üzere 86 MRSA suşunun tümünün oksasiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. (Ertaş ve Gönülalan, 2010). Bizim çalışmamızda ise PCR yöntemi ile incelenen suşların tamamında *mecA* geni tespit edilmiş, ancak Sefoksitin yöntemi ile incelenen örneklerin 1'inde *mecA* geni varlığına rastlanmamıştır.

Azarkan'ın yaptığı bir çalışmada 90 hastadan alınan örnekler Genexpert, Phoenix, Vitek2 ve ChromID MRSA agar yöntemleri ile araştırılmıştır. *MecA* gen varlığı real-time PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada, 90 örneğin 14'ünde GeneXpert ile *mecA* gen varlığı tespit edilmiştir. Vitek2 ve Phoenix sonuçları birbiriyle uyumlu olup GeneXpert ile MRSA olarak tespit edilen 14 sonuçtan 3'ü Vitek2 ve Phoenix ile MRSA olarak tespit edilmiştir. Vitek 2 ile incelenen örneklerin duyarlılık oranı %21 ve özgüllük oranı ise %98.68 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, 1 örnekte *mecA* negatif olduğu halde otomatize sistemle MRSA sonucu bulunmuştur (Azarkan, 2011).

Yaptığımız çalışmada MRSA suşları Konvansiyonel, Otomatize ve PCR yöntemleri ile analiz edildi. Sonuçta duyarlılığın en fazla olduğu yöntemler PCR, Vitek 2 Otomatize ve Sefoksitin E-test olarak tespit edilmiştir. Bulgularımız bu yönüyle diğer çalışmalar ile da uyumlu bulunmuştur.

MRSA tespitinde *mecA* geninin PCR yöntemi ile belirlenmesi altın standart olarak görülürken, bu yöntemin rutin bir şekilde laboratuvarlarda uygulanması zordur. *mecA* geni tespiti için laboratuvar ortamının uygun olmasının gerekliliği, personel

deneyimi gerektirmesi ve testin maliyetinin yüksek olması gibi sebeplerden dolayı sadece gelişmiş laboratuvarlarda yapılabilme imkanı vardır. Dııııyla, *mecA* geninin tespitinde PCR yöntemine alternatif olarak diğer yöntemler de kullanılabilir. Çalışmamızda, PCR yönteminin yanı sıra Vitek 2 Otomotize yöntemi ve E-test yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ise hemen hemen birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suslarının doğru olarak tespit edilmesi, bu direncin heterojen olmasından dolayı her zaman mümkün olmayabilir. Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 *S. aureus* susunda *mecA* geninin tespit edilmesinde konvansiyonel, Otomotize ve PCR yöntemi kullanılmıştır. Altın standart yöntem olan PCR ile birlikte değerlendirildiğinde, kullanılan tüm yöntemlerin duyarlılıkları hemen hemen %100 olarak saptanmıştır.

KAYNAKLAR

Ak Ö, Benzonana NA, Balkan İİ, Özer S. Katalaz negatif *Staphylococcus aureus*' a bağlı bir yumuşak doku infeksiyonu: Olgu sunumu. SCIE. 2004; 15: 170-1.

Aköğretmen,T. Balıkesir ve yöresinde mental retarde hastalarda nazal metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) taşıyıcılığı oranının moleküler yöntemlerle araştırılması. [Yüksek Lisans Tezi], Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi; 2016.

Aktaş E, Pazarlı O, Külah C, Cömert F, Külah E, Sümbüloğlu V. Determination of *Staphylococcus aureus* carriage in hemodialysis and peritoneal dialysis patients and evaluation of the clonal relationship between carriage ad clinical isolates. Am J Infect Control. 2011; 39: 421-5.

Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G. The gram-positive cocci: Part I: Staphylococci and related organisms. In: Procop G (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 539-76.

Alm RA, McLaughlin RE, Kos VN, Sader HS, Iaconis JP, Lahiri SD. Analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with reduced susceptibility to ceftaroline: An epidemiological and structural perspective. J Antimicrob Chemother. 2014; 69: 2065–75

Altınöz AA, Öksüz Ş, Şahin İ, Öztürk CE, Avcıoğlu F. (2013). Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotiklere direnç. ANKEM Dergisi. 2013 ;27(2): 60-3

Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2007; 45 (3): 165-70.

Atmaca, Ö. Hacettepe Üniversitesi Erişkin ve Onkoloji Hastaneleri'nde yatan hastalarda saptanan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakteremisi risk faktörleri (2004-2011): Yuvalandırılmış vaka kontrol araştırması, [Uzmanlık Tezi], Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2013.

Azarkan, Ayşe B. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda metisilin rezistan *Staphylococcus Aureus*'un hızlı test (moleküler yöntem) ile araştırılması. [Tıpta Uzmanlık Tezi], Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, 2011.

Bayram Y. Y.Y.Ü Tıp fakültesi hastanesi personeli'nde nazal *Staphylococcus Aureus* taşıyıcılığı ile metisiline direnç oranlarının araştırılması [Uzmanlık Tezi], Van:Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2003.

Becker K, Larsen AR, Skov RL, Paterson GK, Holmes MA, Hedin G. ve ark. Evaluation of a modular multiplex-PCR methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection assay adapted for mecC detection. J Clin Microbiol 2013; 51(19): 17–9.

Biçer AT. Hastane izolatu *Staphylococcus aureus* ve Koagülaz Negatif *Staphylococcus* suşlarında metisilin direncinin farklı yöntemlerle araştırılması [Uzmanlık Tezi], Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2009

Bilgehan H. Gram Olumlu koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları; 2000.

Bin Kim H, Hee-Chang J, Jung Nam H. Invitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide study. Antimicrob Agent Chemother. 2014; 48(11): 24-7.

Bozca B, Coşkuner SA, Biçer KÇ, Genç VE, Özgenç O. *Stafilokoklarda* metisilin direnç oranlarının saptanması. ANKEM Dergisi. 2007; 21(1): 26.

Brown D.F.J, Edwards D.I, Morison D, Ridgway G.L Tawner K.J, Wren M.W.D. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) J. Antimicrob Chemother. 2005; 56: 1000-18.

Cengiz AT. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Yayınevi, 1999.

Cirit OS, Yıldırım T, Çoban AY. *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarında panton-valentin lökositin varlığının araştırılması. Balkan Med J. 2009; 28: 119-24 .

Çelik C, Bakıcı MZ, diğ. Kan akımı enfeksiyonlarından izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında antimikrobiyal direnç paterni, Genel Tıp Dergisi. 2013;23(4): 109-13.

Çetin F, Mumcuoğlu İ, Aksoy A, Gürkan Y, Aksu N. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları. Türk Hij Den Biyol Derg. 2014; 71(2): 67-74.

Çetinkol Y, Özenç Çakır FÖ, Enginyurt Ö. Ş. Yüksekaya ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisiline direncin yıllara göre değişimi. ANKEM Dergisi, 2013; 27(1): 38-42.

Çiçek M, Tuncer Ö, Sancak B, Şener B. *Staphylococcus Aureus* suşlarında Mlsb direncinin saptanmasında Vitek-2 Otomatize sistemi ile Disk Difüzyon testinin karşılaştırılması. 2.Antimikrobik Kemoterapi Günleri Sempozyumu bildiriler kitabı içinde 2016, İstanbul: Askeri Müze, (ss.86).

Çiftci İH, Altındiş M, Çetinkaya Z, Aşık G, Aktepe OC. Klinik örneklerden izole edilen *stafilokoklarda* mecA varlığının araştırılması. Kocatepe Tıp Derg. 2009; 10: 17-20.

David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev. 2010; 23(3): 616-87.

Dönmez İ. Toplum ve hastane kaynaklı *Stafilokok* izolatlarında indüklenbilir klindamisin direnci. Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı [Tıpta Uzmanlık Tezi] Zonguldak: Karaelmas Üniversitesi, 2011.

Erol İ, İşeri Ö. *Stafilokokal* enterotoksinler. Vet Fak Derg. 2004; 51: 239-45.

Ertaş N, Gönülalan Z. Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerin varlığı üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Sağ. Bil. Vet. Derg. 2010; Vol. 24(1): 11-5.

Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. J Clin Microbiol. 2009; 39(10): 3727-32.

Gould IM, Reilly J, Bunyan D, Walker A. Costs of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its control. Clin Microbiol Infect. 2010; 16: 1721–28

Gould IM. Clinical activity of anti-Gram-positive agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 2011; 66(4): 17-21.

Gülay Z. Gram pozitif bakteri infeksiyonları: direnç ve epidemiyoloji. ANKEM Derg. 2008; 22(2): 276-86.

Gülcü, A. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) deneysel sıçan osteomyeliti modelinde implantın fosfomisin içeren Poli-(D,L)laktik asit (PDLLA) ile kaplanması profilaksisteki etkinliği, Denizli, 2015; 16-7.

Güner S, Gürler N. 2001-2006 yıllarında cerehat ve yara örneklerinden izole edilen *stafilokok* suşlarında metisilin direnci. ANKEM Derg. 2007; 21(1): 27.

Gürsoy NC, Ersoy, Günay S, Kuzucu Ç. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2009; 23(1): 26-9.

Hancı H, Ayyıldız A, Baltacı MO, İgan H, Uyanık MH, Adıguzel A. *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direncinin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. KLİMİK Derg. 2018; 31(1): 30-3.

Honda H, Krauss MJ, Coopersmith CM, Kollef MH, Richmond AM, Fraser VJ, ve ark. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and subsequent infection in intensive care unit patients: does methicillin resistance matter? Control Hosp Epidemiol. 2010; 31: 584-91

Hsueh PR, Teng LJ, Chen WH, Pan HJ, Chen ML, Chang SC ve ark. Increasing prevalence of MRSA causing Nosocomial infections at a university hospital in Taiwan from 1986 to 2001. Antimicrob Agent Chemother. 2004; 48: 1361-4.

Huang S.S ve Platt R. Risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. *Clin Infect Dis.* 2003; 36: 281-5

Jones RN. Key considerations in the treatment of complicated staphylococcal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14: 25-7

Kallen AJ, Brunkard J, Moore Z, Budge P, Arnold KE, Fosheim G ve ark. *S. aureus* community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Ann Emerg Med.* 2009; 53(3): 358-65.

Kampf G, Adena S, Rden H, Weist K. Inducibility and potential role of MecA gene-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections. *J Hosp Infect.* 2011; 54(2): 124-9.

Karakoç E. MRSA infeksiyonlarının mikrobiyolojisi, epidemiyolojisi, direnç sorunu yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayın Evi. 2009.

Karlıbaş, Z. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan üretilen *staphylococcus aureus*'lar için konak risk faktörlerinin ve *s. aureus* virulans faktörlerinden olan panton-valentin lökositidin (pvl) geninin araştırılması [Uzmanlık Tezi] İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2012.

Kenar B, Demir C, Keşli R. Mrsa tanısında konvansiyonel yöntem ile vitek 2'nin ve üç farklı kromojenik besiyerlerinin performanslarının değerlendirilmesi. *Antimikrobik Kemoterapi Günleri Sempozyumu bildiriler kitabı içinde.* İstanbul: Askeri Müze, 2015; (ss.111).

Kızılarıslanoğlu MC, Sancak B, Yağcı S, Haşçelik G, Ünal S. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* incelenmesi ve bakteriyemisinin incelenmesi ve vankomisin MİK değerlerine göre prognozun karşılaştırılması: son on yıllık deneyim, *Mikrobiyol Bul.* 2013; 47(2): 199-210.

Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis.* 2006; 42: 389-91.

Koşum S. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi sağlık çalışanlarında *S. aureus* ve MRSA taşıyıcılığının saptanması ve MRSA tanı yöntemlerinin karşılaştırılması, Sivas, 2012.

Köck R, Becker K, Cookson B, Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans ve ark. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill.* 2007; 15 (1): 1-25.

Kuehnert MJ, Hill HA, Kupronis BA, Tokars JI, Solomon SL, Jernigan DB. Methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus* hospitalizations, United States. *Emerg Infect Dis.* 2011; 11(6): 868-72.

Li S, Skov RL, Han X, Larsen AR, Larsen J, Sørnum M. ve ark. Novel types of staphylococcal cassette chromosome mec elements identified in clonal complex 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(6): 3046-50.

Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. J Antimicrob Agents. 2000; 16: 3-10.

Lodise TP, McKinnon PS. Clinical and economic impact of meticilin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis, 2005; 52: 113-22.

Margaret IP, Lyon DJ, Cheng AF. A longitudinal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Hong Kong teaching hospital. Infect Contr Hosp Epidemiol. 2005; 25(2): 126-9.

Martins A, Cunha M de L. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase- negative staphylococci: Epidemiological and molecular aspects. Microbiol Immunol Rev. 2007; 51: 787-95.

Morellion P, Que Y, Glauser MP. *Staphylococcus aureus*: (Including Staphylococcal Toxic Shock) Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 6 th edition Volume 2, Elsevier Inc. 2005: 2321-52

Murray PR. Tıbbi Mikrobiyoloji. Çeviri Editörü Ahmet Başustaoglu, Ankara:Atlas Kitapçılık, 2010.

Murray PR, Baron E, Jorgensen JH, Landry LM, Pfaller MA. Staphylococcus, Micrococcus ve diğer Katalaz pozitif Koklar. Klinik mikrobiyoloji 9. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009.

Orak F. Mardin Devlet Hastanesi'nde 2011-2013 yılları arasında metisiline dirençli *stafilokoklarda* direnç profilleri. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015; 72(3): 191-8

Orrett FA, Land M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence: current susceptibility patterns in Trinidad. BMC Infect. Dis. 2006; 6: 83-8.

Özel Y, Büyükzengin K, Yavuz MF. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli ve duyarlı *staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç profilinin araştırılması. ANKEM Derg. 2017; 31(2): 41-7

Özgüven V. Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara:Atlas Kitapçılık, 2004.

Özkaya E, Tümer S, Kirişçi Ö, Çalışkan A, Erdoğan P. Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015; 72(2): 115.

Özkul H, Öktem MA, Gülay Z. Klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarında Panton-Valentin Lökosidin (pvl) varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2007; 41: 357-62.

Rehm SJ, Tice A. *Staphylococcus aureus*: methicillin-susceptible *S. aureus* to methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *S. aureus*. Clin Infect Dis. 2010; 51(2): 176-82.

Sancak B. MRSA direnç mekanizmaları: Dünyada ve Türkiye’de epidemiyolojisi. ANKEM Derg. 2012; 26: 38-47.

Sancak B. *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2011; 45(3): 565-76.

Saleha. A. ve Zunita. Z. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): An emerging veterinary and zoonotic pathogen of public health concern and some studies in Malaysia. J. Anim. Vet. Adv. 2010; 9(7): 1094-8.

Sevgican, E., Sınırtaş, M., Ozakın, C., Gedikoğlu, S. *Staphylococcus* türlerinde metisilin direncinin farklı yöntemlerle saptanması. İnfeksiyon Derg. 2009; 23 (2): 63-8

Skov R, Christiansen K, Dancer SJ, Daum RS, Dryden M, Huang YC ve ark. Update on the prevention and control of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA), Int J Antimicrob Agents. 2012; 39(3): 193-200.

Song MD, Wachi M, Doi M, Ishino F, Matsushashi M. Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBS Lett. 1987; 221: 167-71

Soysal M, Çoban AY. *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin direncinin hızlı tespiti. KLİMİK Derg. 2017; 30(2): 64-7

Sultan N. *Stafilokoklar ve benzer gram-pozitif koklar. İçinde:Tıbbi Mikrobiyoloji. Başustaoğlu AC, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, Yapar M, (Çeviri editörleri). Medical Microbiology, Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA.1. Baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010.*

Suma P, Swetha CS, Sudhantiramani SSG, Annie S and Jagadeesh BA. A Study on the antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus Aureus* isolated from market milk in and around tirupati, Andhra Pradesh. Int J Recent Sci Res. 2016; 7(4): 10430-5.

Şahin H. Toplumda kazanılmış metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kolonizasyonunun epidemiyolojisi [Yüksek lisans tezi] İstanbul: 2003.

Tanrıverdi Yeliz Ç, Haslı F, Bilgin K, Birinci A. 2014-2017 Yılları arasında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi’nde kan kültüründen izole edilen *Staphylococcus Aureus* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. KOU Sağlık Bil Derg. 2017; 4(1): 20-2.

Turlej A. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) classification and typing methods. *Pol J Microbiol.* 2011; 60(2): 95-103.

Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. *Asya Mikrobiyoloji*, 4. Baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi, 2005.

Tünger A. *Staphylococcus aureus*: mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji. Önemli ve sorunlu gram pozitif bakteri enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 2004.

Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Önemli ve Sorunlu Gram- Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004.

Ulutürk R, Özkantar Ü, Fincancı M. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus Aureus* nazal kolonizasyonu ve hastane enfeksiyonu ilişkisi. *İstanbul Tıp Derg.- Istanbul Med J.* 2010; 11(4): 159-63

Ünal S. *Staphylococcus aureus*: Direnç Mekanizmaları. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, Gram-pozitif bakteri enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004.

Ünal, S. Metisilin Direnç Mekanizmaları ve Metisilin Direnç Tespit Yöntemleri. Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara, 2019

Utsui Y, Yokota T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin-resistant and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 1985; 28: 397–403.

Uzun B, Karataş Şener AG, Güngör S, Afşar İ, Yüksel Ergin Ö, Demirci M. *Staphylococcus aureus* suşlarındaki metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon testi, otomatize sistem ve kromojenik besiyerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2013; 47: 11-8.

Yüksekkaya Ş, Opuş A, İren H, Kaya M, Akkaya O, Güzelant A ve ark. "2009-2013 yılları arasında konya eğitim ve araştırma hastanesi'nde kan kültüründen izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg.* 2017; 31(1): 1-6.

ÖZGEÇMİŞ

Naziye YILDIZ DENİZ 5 Ekim 1984 yılında Diyarbakır Ergani’de doğdu. Evli bir erkek çocuğa sahiptir. Lise eğitimini Diyarbakır Sağlık Meslek Lisesi’nde Laboratuvar Teknisyenliği bölümünde tamamladı. Önlisans eğitimini Gaziantep Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokul’nda Laboratuvar Teknikerliği bölümünde tamamladı. Lisans eğitiminin İnönü Üniversitesi Biyoloji bölümünde tamamladı. 2011 yılından beri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi’nde Laborant olarak görev yapmaktadır. 2019 yılında ünvan değişikliği sınavı ile Yüzüncü Yıl Üniversitesi’nde biyolog kadrosunda göreve başlamıştır ve halen bu görevde devam etmektedir.



EKLER

Ek1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU



KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06	Tarih: 30.11.2016
	Yrd.Doç.Dr. Mehmet PARLAK sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen "Yoğun bakım hastalarından izole edilen çoklu antibiyotik dirençli Acinobacter baumannii izolatlarında kolitsin, doripenem, tigesiklin, minosiklin ve amikasinin seftolazan Hazoboktam ile kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin araştırılması" isimli bilimsel araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir. Araştırmacıların Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun Çalışma Esasları Hakkında Yönergesinde belirtilen hususları yerine getirdikleri belirlenmiş olup, çalışmalarını ile ilgili tüm sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere, söz konusu çalışmanın gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığına, toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Oğuz TUNCER	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Oğuz TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Şükran SEVİMLİ	Tıp Tarihi ve Etik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	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. Sıddık KESKİN	İstatistik Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Doç.Dr. Hakkı ŞİMŞEK	Kardiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Doç.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU	Tıbbi Mikrobiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr.A.Faruk KIROĞLU	KBB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Abbas ARAS	Genel Cerrahi	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Erdem ÇOKLUK	Tıbbi Biyokimya	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Celaleddin SOYALP	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Numan ÇİM	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ramazan ÜSTÜN	Fizyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ersoy ÖKSÜZ	Farmakoloji Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi 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"/>	
Nazlı AKTAŞ	Avukat	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hukuk Müşavirliği	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"/>	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayici ve İş Kadınları Derneği	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"/>	

Etik Kurul Sekreteri

Sayfa 2

Adres : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Merkez Kampüsü Van
Tel : 432- 2150470
Faks : 432-2168352
e-posta: etikkurull@gmail.com

Ek 2. Tez Orjinallik Raporu

	<p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü</p>	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

Tarih: 21.05.2019.

Tez Başlığı / Konusu:
4022 belimden izole edilen MRSA suşlarında mecA geni...
varlığını konulan otomatik ve PCR yöntemi ile tespiti

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 40 sayfalık kısmına ilişkin, 21.05.2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnat intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 17 (.....) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Nazire YILDIZ DENİZ
Öğrencinin Adı Soyadı
İmza

Öğrencinin Adı Soyadı	Nazire YILDIZ DENİZ
Anabilim Dalı	: Tıbbi Mikrobiyoloji
Öğrenci No	
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	Dr. Öğr. Üyesi Hacer Şahin ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)

Doç. Dr. Yavuzhan Bayram