



**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN  
DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA)  
SUŞLARINDA SİPROFLOKSASİN'İN YEŞİL ÇAY  
İLE SİNERJİK ETKİSİNİN DAMA TAHTASI  
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

**Yalçın DİCLE**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Halil YAZGI**

**Doktora Tezi-2018**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN  
DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA)  
SUŞLARINDA SİPROFLOKSASİN'İN YEŞİL ÇAY İLE  
SİNERJİK ETKİSİNİN DAMA TAHTASI YÖNTEMİYLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Yalçın DİCLE**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Halil YAZGI**

**ERZURUM  
2018**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN DİRENÇLİ  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) SUŞLARINDA  
SİPROFLOKSASİN'İN YEŞİL ÇAY İLE SİNERJİK ETKİSİNİN  
DAMA TAHTASI YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

**Yalçın DİCLE**

**Tez Savunma Tarihi** : 11.06.2018

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Halil YAZGI (Atatürk Üniv.)

**Juri Üyesi** : Prof. Dr. M. Hamidullah UYANIK (Atatürk Üniv.)

**Juri Üyesi** : Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN (Atatürk Üniv.)

**Juri Üyesi** : Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA (Muş Alparslan Üniv.)

**Juri Üyesi** : Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Eda BALKAN BOZLAK  
(Kafkas Üniv.)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Duygu ARIKAN**  
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi**  
**ERZURUM-2018**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	V
ÖZET .....	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XII
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>5</b>
2.1. Stafilokoklar.....	5
2.1.1. Tarihçe .....	5
2.1.2. Sınıflandırma .....	7
2.1.3. Stafilokokların Genel Özellikleri.....	7
2.1.4. Stafilokokların Virülans ve Patojeniteleri.....	10
2.1.4.1. Kapsül .....	11
2.1.4.2. Hücre Duvarı.....	11
2.1.4.3. Toksinler .....	14
2.1.4.4. Enzimler.....	17
2.1.5. Tanısal Laboratuvar Testleri .....	19
2.1.5.1. Gram Boyama .....	19
2.1.5.2. Kültür Testi .....	19
2.1.5.3. Katalaz Testi .....	20
2.1.5.4. Koagülaz Testi .....	20
2.1.5.5. Duyarlılık Testi.....	20
2.1.5.6. Mikrokok ve Stafilokokların Ayrımı .....	21

2.1.5.7. Stafilokokların Tanımlanmasında Kullanılan Diğer Tanımlama Yöntemleri ...	21
2.1.5.8. Moleküler Testler.....	22
2.1.6. <i>S. aureus</i> Enfeksiyonları .....	23
2.1.6.1. Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları.....	25
2.1.6.2. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar .....	25
2.1.6.3. Bakteriyemi.....	26
2.1.6.4. Endokardit.....	27
2.1.6.5. Menenjit .....	28
2.1.6.6. Pnömoni ve Ampiyem .....	28
2.1.6.7. Kemik/Eklem Enfeksiyonları .....	29
2.1.6.8. Üriner Enfeksiyonlar.....	29
2.1.7. Antibiyotik Direnci .....	29
2.1.7.1. Beta Laktam Direnci .....	30
2.1.7.2. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç.....	32
2.1.8. Metisilin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	32
2.1.8.1. MRSA Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar.....	35
2.1.9. Florokinolonlar .....	38
2.2. Siprofloksasin .....	40
2.2.1. Biyokimyasal Yapısı.....	41
2.2.2. Etki Mekanizması .....	42
2.2.3. Direnç Mekanizması .....	42
2.2.4. Farmakokinetik ve Dağılımı .....	43
2.2.5. Yan Etkileri.....	44
2.2.6. İlaç Etkileşimleri.....	45
2.3. Antimikrobiyal Kombinasyon Testleri .....	45

2.3.1. Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Array).....	46
2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	47
2.3.3. Zamana Bağlı Öldürme Eğrisi (Time-Kill Curves) .....	48
2.3.4. Difüzyon Yöntemleri .....	48
2.4. Yeşil Çay ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	49
2.4.1. Yeşil Çayın Kimyasal Yapısı.....	50
2.4.2. Yeşil Çayın Sağlık Üzerine Etkisi .....	52
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>56</b>
3.1. İzolatlar .....	56
3.1.1. İzolatların Tanımlanması .....	57
3.2. İzolatların Siprofloksasin Direncinin Saptanması .....	58
3.2.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi.....	58
3.2.2. Siprofloksasine Dirençli İzolatların MİK Değerlerinin Belirlenmesi.....	59
3.3. Yeşil Çay Ekstraktının Hazırlanması.....	61
3.3.1. Siprofloksasin Dirençli İzolatların Yeşil Çay MİK Değerinin Belirlenmesi.....	61
3.4. Sinerji Testi.....	62
3.4.1. Dama Tahtası Yöntemiyle Yeşil Çay + Siprofloksasin Kombinasyonun Sinerjik Etkisinin Araştırılması .....	62
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>67</b>
4.1. Klinik İzolatların Özellikleri.....	67
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları .....	68
4.2.1. MRSA İzolatlarında Disk Difüzyon Yöntemiyle Siprofloksasin Duyarlılıklarının Belirlenmesi .....	68
4.2.2. MRSA İzolatlarında Sıvı Mikro Dilüsyon Yöntemiyle Siprofloksasin Duyarlılıklarının Belirlenmesi .....	68

4.3. Yeşil Çay Ekstraktı (GTE) Duyarlılık Sonuçları (MİK) .....	70
4.3. Siprofloksasin (CIP) + Yeşil Çay Ekstraktı (GTE) Kombinasyon Duyarlılık Sonuçları (MİK).....	72
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>78</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>87</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>89</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>117</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>117</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b>	<b>118</b>

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışma dönemim boyunca destek ve tecrübelerini esirgemeyen, bilgi ve becerileri ile akademik hayatımı zenginleştiren danışman hocam Prof. Dr. Halil YAZGI'ya saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yine doktora eğitimim boyunca sundukları bilimsel, destekleyici ve verimli ortam için başta Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye ve ABD Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Osman AKTAŞ, Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK, Prof. Dr. Muhammet Hamidullah UYANIK, Prof. Dr. Hakan USLU, Dr. Öğr. Üyesi Özgür ÇELEBİ ve Dr. Öğr. Üyesi Erkan ÖZMEN'e ve aynı zamanda görev süresi dolduğu için aramızdan ayrılan fakat bu süre zarfında benden yardımlarını esirgemeyen anabilim dalı eski başkanı Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ'a, tezimin ana ögesi olan yeşil çayın teminini ve ekstraksiyonunu sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Hayrunisa HANCI'ya, (Atatürk Üniversitesi, Erzurum) yine çalışmalarım esnasında her aşamada yanımda olan Uzm. Dr. Mehmet Veysel COŞKUN'a, (Gümüşhane Devlet Hastanesi) ve Arş. Gör. Dr. İclal AĞAN'a, (Atatürk Üniversitesi, Erzurum) uzun bir dönem boyunca birlikte çalıştığım Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü asistan arkadaşlarıma ve tüm ana bilim dalı çalışanlarına, akademik ve idari anlamda desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA'ya, (Muş Alparslan Üniversitesi) özellikle ve bilhassa yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

**Arş. Gör. Yalçın DİCLE**



## ÖZET

### **Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) Suşlarında Siprofloksasin'in Yeşil Çay İle Sinerjik Etkisinin Dama Tahtası Yöntemiyle Araştırılması**

**Amaç:** Bu araştırmada; hem toplum kökenli hem de hastane kökenli enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri olan, çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA'ların tedavisinde kullanılan fakat zamanla direnç gelişimi görülen ve şu an dünyada en çok kullanılan antibiyotikler arasında 4. sırada yer alan siprofloksasinin yeşil çay ile oluşturulan kombinasyonunun ortaya çıkardığı sinerjik etkinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

**Materyal ve Metot:** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01 Ocak 2010-12 Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen farklı klinik örneklerden izole edilen 90 MRSA suşundan siprofloksasine dirençli bulunan 54 MRSA izolatının her birine ayrı ayrı yeşil çay, siprofloksasin MİK değeri bakıldı. Daha sonra MİK değerleri tespit edilen 54 izolatta yeşil çay + siprofloksasin kombinasyonunun sinerjik etkisi dama tahtası duyarlılık yöntemiyle araştırıldı. FİK değerleri hesaplanan bu izolatlarda yeşil çayın siprofloksasin ile sinerjik etkisi belirlendi.

**Bulgular:** Araştırılan yeşil çay ekstraktı ile siprofloksasin kombinasyonu için dama tahtası yöntemi ile elde edilen fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu indeksi değerlerine göre 54 MRSA izolatının 18'inde (%33.3) etkisiz olduğu görüldükçe, 17'sinde (%31.5) aditif, 19'unda (%35.2) sinerjik etki gösterdiği saptanmıştır. Ortalama  $\Sigma$ FİK değerine göre ( $\Sigma$  FİK: 0,74) yeşil çayın siprofloksasine etkisinin izolatlarda aditif olduğu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Yeşil çay MRSA'ların tedavisinde tekli veya kombine şeklinde (yeşil çay+siprofloksasin) kullanıldığında antibakteriyel etkinliğinin olduğunu ve siprofloksasine bağlı ortaya çıkabilecek yan etkilerin azaltılmasına katkısı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu elde ettiğimiz sonuçların doğrulanması bakımından daha geniş ve daha kapsamlı çalışmalarının olmasının yararlı olduğu kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Dama tahtası duyarlılık yöntemi, MRSA, sinerjik etki, siprofloksasin, *Staphylococcus aureus*, yeşil çay (*Camellia sinensis*)

## ABSTRACT

### **Investigation of the Synergic Effect of Ciprofloxacin and Green Tea in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains Isolated from Clinical Samples by the Checkerboard Dilution Method**

**Aim:** In this study, it is aimed to present the synergic effect of the combination of green tea and ciprofloxacin, which is used in the treatment of MRSA, one of the most important causes of both community-based and hospital-acquired infections, isolated from various clinical samples, and to which resistance develops over time and which is currently the 4<sup>th</sup> most used antibiotic in the world.

**Material and Method:** The green tea and ciprofloxacin MIC value of each of 54 ciprofloxacin-resistant MRSA isolates among 90 MRSA strains isolated from different clinical samples that were sent to the Medical Microbiology Laboratory of Atatürk University, Faculty of Medicine, Research and Application Center from various clinics between 01 January 2010 and 12 December 2014 was examined separately. Afterwards, the synergic effect of green tea + ciprofloxacin was studied in 54 isolates with the determined MIC values by the checkerboard dilution method. The synergic effect of green tea and ciprofloxacin was determined in these isolates, the FIC values of which were calculated.

**Results:** According to the fractional inhibitory concentration index values obtained for the investigated combination of green tea extract and ciprofloxacin by the checkerboard dilution method, while it was observed to be ineffective in 18 (33.3%) of 54 MRSA isolates, it was determined to exhibit an additive effect in 17 (31.5%) and a synergic effect in 19 (35.2%) of the isolates. According to the mean  $\sum$ FIC value ( $\Sigma$  FIC: 0.74), the effect of green tea on ciprofloxacin was found to be additive in isolates.

**Conclusion:** It is thought that when green tea is used in the treatment of MRSA alone or in the combination (green tea+ciprofloxacin), it has an antibacterial effect and it may contribute to reducing side effects that may occur due to ciprofloxacin. It is believed that more extensive and comprehensive studies will be useful in terms of the verification of the results obtained.

**Keywords:** Checkerboard dilution method, MRSA, synergic effect, ciprofloxacin, *Staphylococcus aureus*, green tea (*Camellia sinensis*)

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADMET</b>	: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>AWARE</b>	: Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance and Evaluation
<b>BMD</b>	: Broth Microdilution
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>cAMP</b>	: Cyclic Adenosine Monophosphate
<b>CFU</b>	: Colony-Forming Unit
<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CNA</b>	: Columbia Kolistin Nalidiksik-Asit Agar
<b>CYDE</b>	: Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksi Ribo Nükleotid
<b>DNaz</b>	: Deoksiribonükleaz
<b>EARSS</b>	: European Antimicrobial Resistance Surveillance System
<b>EBV</b>	: Epstein-Barr Virus
<b>ET</b>	: Enteretoksin
<b>EUCAST</b>	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>FİK</b>	: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu
<b>GSBL</b>	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
<b>GTE</b>	: Green Tea Extract

<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus
<b>HK-MRSA</b>	: Hastane Kaynaklı Metisilin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>HSV</b>	: Herpes Simplex Virus
<b>h-VISA</b>	: Hetero Dirençli Vankomisin Orta Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>IgA</b>	: İmmunoglobulin A
<b>IV</b>	: İntravenöz
<b>KAMHB</b>	: Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth
<b>KKA</b>	: Koyun Kanlı Agar
<b>KNS</b>	: Koagülaz Negatif Stafilokoklar
<b>MDR</b>	: Multiple Drug Resistance
<b>MHA</b>	: Mueller-Hinton Agar
<b>MHB</b>	: Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex
<b>MİK</b>	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
<b>MLSB</b>	: Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B
<b>MRSA</b>	: Metisilin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSA</b>	: Mannitol Salt Agar
<b>MSSA</b>	: Metisilin Sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>NAGA</b>	: N-asetilglukoz amin
<b>NAMA</b>	: N-asetilmuramik asit
<b>PBP</b>	: Penisilin Bağlayan Protein
<b>PEA</b>	: Feniletıl Alkol Agar
<b>PNL</b>	: Polimorfonükleer Lökosit

<b>PVL</b>	: Panton-Valentin Lökositini
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RNA</b>	: RibonükleikAsit
<b>SAgs</b>	: Superantigens
<b>SCCmec</b>	: <i>Staphylococcal</i> Cassette Chromosome mec
<b>SHDS</b>	: Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu
<b>SpA</b>	: <i>Staphylococcal</i> protease A
<b>SSSS</b>	: Staphylococcal Scalded Skin Syndrome
<b>TK-MRSA</b>	:Toplum Kaynaklı Metisilin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>TMP/SMX</b>	: Trimetoprim-Sulfametoksazol
<b>TSST-1</b>	: Toksik Şok Sendrom Toksin-1
<b>ÜSYE</b>	: Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu
<b>VRE</b>	: Vankomisin Dirençli Enterekoklar
<b>VRSA</b>	:Vankomisin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>S. aureus</i> 'un Gram boyamada görüntüsü	8
Şekil 2.2. <i>S. aureus</i> 'un koyun kanlı agardaki beta hemolitik kolonileri	9
Şekil 2.3. Peptidoglikan tabakanın şematik yapısı.	12
Şekil 2.4. Katalaz reaksiyonu	18
Şekil 2.5. Siprofloksasin'in biyokimyasal yapısı <sup>152</sup>	42
Şekil 2.6. Avrupa 2014 florokinolon direnç verileri <sup>157</sup>	43
Şekil 2.7. Kateşin (C)	51
Şekil 2.8. Epikateşin (EC)	51
Şekil 2.9. Epigallokateşin (EGC)	51
Şekil 2.10. Epigallokateşin Gallat (EGCG)	51
Şekil 2.11. Epikateşin Gallat (ECG)	52
Şekil 3.1. <i>S. aureus</i> tanımlamak için hızlı lateks koagülaz kiti (Plasmatec, UK)	57
Şekil 3.2. Sefoksitin diski ile metisilin direncinin araştırılması	58
Şekil 3.3. Otomatize bakteri tanımlama sistemi (VİTEK 2®)	58
Şekil 3.4. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle MRSA'larda CIP direnci	59
Şekil 3.5. Dama tahtası yöntemiyle çalışılmış Siprofloksasin-Yeşil Çay	65
Şekil 4.1. MRSA izolatlarında siprofloksasin (CIP) MİK değer yüzdeleri (n: 54)	69

## TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 2.1.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> sınıflandırması. <sup>47</sup> .....	7
<b>Tablo 2.2.</b> İnsan cilt ve mukoz membranlarında kolonize olan stafilokok türleri .....	10
<b>Tablo 2.3.</b> Stafilokokların virülans faktörleri <sup>5, 58, 59</sup> .....	10
<b>Tablo 2.4.</b> Stafilokokların neden olduğu enfeksiyonlar <sup>63, 79, 94</sup> .....	24
<b>Tablo 2.5.</b> Florokinolon grubu antibiyotiklerin sınıflandırılması .....	39
<b>Tablo 2.6.</b> Mikrodilüsyon dama tahtası panel örneği.....	48
<b>Tablo 2.7.</b> Yeşil çay ve siyah çayın karşılaştırılması (%) <sup>181</sup> .....	50
<b>Tablo 2.8.</b> Yeşil çayın fenolik madde kompozisyonu <sup>187, 188</sup> .....	52
<b>Tablo 3.1.</b> CLSI tarafından önerilen <i>S. aureus</i> CIP zon çapları ve MİK değerleri.....	59
<b>Tablo 3.2.</b> Kombinasyon etkisi denenen siprofloksasin ve yeşil çayın paneldeki kombinasyon-dilüsyonları ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>216</sup> .....	64
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışılan MRSA izolatlarının kliniklere göre dağılımı (n=90).....	67
<b>Tablo 4.2.</b> Çalışılan MRSA izolatlarının klinik örneklerle göre dağılımı (n=90).....	68
<b>Tablo 4.3.</b> MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılıkları .....	68
<b>Tablo 4.4.</b> MRSA izolatlarında siprofloksasin MİK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ) .....	69
<b>Tablo 4.5.</b> MRSA İzolatlarında Siprofloksasin MİK <sub>min-max</sub> MİK <sub>50</sub> ve MİK <sub>90</sub> değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ).....	70
<b>Tablo 4.6.</b> MRSA suşlarında yeşil çay MİK <sub>min-max</sub> MİK <sub>50</sub> ve MİK <sub>90</sub> değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ).....	71
<b>Tablo 4.7.</b> MRSA suşlarında yeşil çay ekstraktı (GTE) MİK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ) .....	71
<b>Tablo 4.8.</b> MRSA izolatlarında CIP + GTE kombinasyonundan elde edilen MİK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ).....	73

**Tablo 4.9.** Siprofloksasin dirençli MRSA izolatlarında siprofloksasin ve yeşil çay MİK  
ve FİK değerleri ..... 74





# 1. GİRİŞ

II. Dünya Savaşı sırasında penisilinin geliştirilmesi tıp alanında önemli bir çığır açmıştır. 1941 yılında penisilin G'nin kullanılmaya başlanmasının hemen ardından 1942'de penisilinaz üreten izolatlar tespit edilmiştir. 1959 yılında  $\beta$ -laktamaz enzimine direnç gösteren yarı sentetik bir penisilin olan metisilin kullanılmaya başlanmıştır.  $\beta$ -laktamaza dirençli penisilinler kullanıma girmesinden çok kısa bir süre sonra da bu antibiyotiklere dirençli izolatların olduğu saptanmıştır.<sup>1</sup> *Staphylococcus aureus* enfeksiyonları metisilin direncinin ilk olarak görüldüğü 1960 yılından beri yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastanelerde yaygın olarak görülmeye başlanmıştır.<sup>2</sup> 20. yüzyılın sonlarına doğru ise toplum kökenli metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatları meydana çıkmıştır.<sup>3,4</sup> Antibiyotiğin hiç kullanılmadığı ülkelerde bile dirençli izolatların tespit edilmesi, bu direnç şeklinin stafilokoklarda çok daha önceden var olduğunu göstermiştir.<sup>1</sup>

Günümüzde ise *S. aureus* ilk sıraları yara ve yumuşak doku enfeksiyonlarının aldığı osteomyelit, septik artrit ve bakteriyeminin önemli sebeplerinden biridir. Son yıllarda ise nozokomiyal enfeksiyon etkenleri içerisinde ilk sıralarda yerini almaktadır.<sup>5</sup>

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* bakterileri nozokomiyal enfeksiyon sebebi olarak izole edildiklerinde etkenin eradikasyonundaki zorlukların yanı sıra bir çok antibiyotiğe gösterdikleri direnç açısından da ciddi tedavi sorunlarına ve tedavi masraflarının yüksek maliyetlerine yol açabilmektedir.<sup>6,7</sup>

MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde bir dönem kullanılan ancak giderek direnç geliştiği tespit edilen siprofloksasin, dünya genelinde en çok kullanılan antibakteriyel ajanlardan biridir ve 20. yüzyılın özellikle son on yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) düzenli olarak kullanılan beşinci jenerik antibakteriyel olmuştur.<sup>8</sup>

2017 yılı içerisinde dünyada en çok kullanılan antibiyotikler arasında

siprofloksasin 4. sırada yer almaktadır yine dünyada en çok kullanılan antibiyotik sınıfları arasında kinolonlar 4. sırada yer almaktadır.<sup>9</sup>

Siprofloksasin, şiddetli ve hayatı tehdit eden enfeksiyonların klinik tedavisinde kullanılan sentetik bir kemoterapötik ajan olan geniş spektrumlu florokinolon ailesine ait bir ilaçtır. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerde DNA giraz inhibisyonu sayesinde DNA replikasyonuna müdahale ederek etkinlik gösteren siprofloksasin oral veya intravenöz olarak kullanılabilir.<sup>10</sup>

Florokinolonlara karşı direnç görülme sıklığı %80'lere varmaktadır.<sup>11, 12</sup> Özellikle son 10 yılda belirli bakteri türlerinde başta olmak üzere klinik ortamda ve bazı yerel faktörlerin bulunduğu durumlarda önemli ölçüde artmıştır.<sup>13-15</sup>

Siprofloksasinin MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmasının tercih edilmesi durumunda direnç oluşumunu engellemek için uygun bir antibiyotik ile kombine bir ilaç tedavisi yapılmalıdır.<sup>16</sup> Örneğin MRSA'ların kolonize olması durumunda, oral şekilde günde iki defa 750 mg'lık dozlarda alınan siprofloksasin ile hastaların %49-80'ninde, 7 ila 28 gün arasında eradike edilmiştir. Suşlar metisiline duyarlı olduğunda ise kinolonlar rifampisin ile kombine edilerek tamamen eradike edilmiştir.<sup>17</sup>

Antibiyotik tedavisi, MRSA tedavisinin altın standardıdır. Bununla birlikte, uzun süreli tedavi birçok yan etki ve bakteri direncini de beraber getirmektedir. Bu nedenlerden dolayı, geleneksel antibiyotik tedavisinin yerini alabilecek yeni tedavi yöntemlerine ihtiyacımız vardır.

Enfeksiyona neden olan bakteriler birinci basamak antibiyotiklere dirençli oldukları için, tedavi seçenekleri genellikle çok daha pahalı olan ikinci veya üçüncü antibiyotik seçimiyle değiştirilir. Bu nedenle, çok ilaca dirençli bakterileri kontrol etmek için alternatif antimikrobiyal ajanlar geliştirilmesine ve kullanılmasına ihtiyaç vardır. Bu zorlukla yüzleşmek için, yeni antimikrobiyal bileşikler keşfetmek ve alternatif bir

yaklaşım olarak şifalı bitki özlerinden elde edilen antimikrobiyal bileşikler bulmak gerekli görülmektedir. Bu kapsamda bazı bitkisel özütlerin MRSA' ya karşı antimikrobiyal etkinlikleri farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.<sup>18, 19</sup>

Çay, dünyada en çok tüketilen içecekler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Yeşil çay, fermente olmayan bir çay olup, siyah çay ya da oolong çayından daha faydalı etkilere sahip olduğu bilinmektedir.<sup>20</sup>

Yeşil çay (*Camellia sinensis*) yaprakları birçok mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkinliği ile bilinmektedir.<sup>21, 22</sup> Ayrıca yeşil çay özütü ile bazı antibiyotikler arasındaki sinerjik etki hakkında bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Yeşil çay özütü ve levofloksasin'in enterohemorajik *E.coli*'ye karşı sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>23</sup> Ayrıca yeşil çay özütleri enteropatojen bakterilere karşı kloramfenikol, gentamisin, metisilin ve nalidiksik asid gibi diğer antibiyotikler ile sinerjik etki göstermektedir.<sup>24</sup>

Yeşil çayın çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi vardır ve antibiyotiklerin antibakteriyel etkilerine sinerjik katkısı olduğu bildirilmiştir.<sup>25</sup> Dünyadaki en popüler içeceklerden biri olan yeşil çayın MRSA dahil olmak üzere çeşitli patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri olduğu bildirilmiştir.<sup>24-28</sup>

MRSA'larda görülen direnç oranlarının artması nedeniyle, farklı birçok tedavi protokolü geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kombinasyon tedavileri ve yeni antibiyotiklerin üretilmesi bu çalışmalara örnek olarak verilebilir.<sup>29</sup> Antimikrobiyal ilaç kombinasyonları geniş spektrum elde etmek, dirençli izolatların gelişmesini önlemek, toksisiteyi en aza indirmek ve iki ilaç arasında sinerjik etki elde etmek amacıyla kullanılır.<sup>30</sup>

Antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerinin anlaşılabilmesi için yapılan tüm in-vitro duyarlılık işlemlerine sinerji testleri denilmektedir. Bu amaçla iki boyutlu sulandırım (dama tahtası, checkerboard yöntemi), zamana bağlı öldürme kinetiği (time-kill) ve Epsilometer test (E-test) yöntemleri uygulanabilmektedir.<sup>29, 30</sup>

Antibiyotikler yaklaşık olarak 75 yıldan bu yana kullanılmaya başlanmış ve insanlığa oldukça büyük faydalar sağlamış güçlü ilaçlardır. Antibiyotiklerin insanların yaşam sürelerini en az 10 yıl daha uzattığı tahmin edilmektedir.<sup>31</sup>

Stafilokoklara etkili antibiyotikler içerisinde kinolon grubu antibiyotikler de yer almaktadır bunlar bakteri DNA giraz ve topoizomeraz II ve IV enzimlerini baskılayarak etkinlik göstermektedir. Özellikle II. Kuşak kinolonların antistafilokokal etkinliği III. ve IV. Kuşaktaki kinolonlardan daha yüksek olduğu belirtilmektedir. II. Kuşak kinolonlar içerisinde yer alan ve bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ajanlardan biri siprofloksasindir.<sup>17</sup>

Bu çalışmamızda, hastanemizin çeşitli servislerinde yatmakta olan hastalardan klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen, “Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*” izolatlarına karşı; sıklıkla kullanılan antibiyotiklerden biri olan ve stafilokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde de kullanılan siprofloksasin ile yine antimikrobiyal etkinliği bilinen ve dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecek olarak bilinen yeşil çay kombinasyonunun oluşturduğu *in-vitro* sinerjik etkinin dama tahtası yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Stafilokoklar

#### 2.1.1. Tarihçe

İnsan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açabilen stafilokokların ilk keşfi 1878 yılında Robert Koch tarafından incelenen irin örneğinde ışık mikroskopunda gösterilmesiyle gerçekleşmiştir. Daha sonra 1880 yılına gelince stafilokoklar Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir. Stafilokoklar 1881 yılında İskoçya doğumlu cerrah Alexander Ogston tarafından insanlarda apselere sebep olduğu saptanmıştır. Yine aynı kişi fare ve kobaylar üzerinde yaptığı deneylerle de bu etkenin hayvanlarda da hastalık yaptığı gözlemlenmiş ve stafilokokları patojen bir bakteri olarak tanımlamıştır.<sup>32-</sup>

<sup>34</sup> Ayrıca cerrah Ogston stafilokokların üremeleri esnasında birbirlerinden ayrılmadıklarını ve üzüm salkımına benzeyen düzensiz kümeler oluşturduklarını gözlemleyerek bu bakterilere Grek alfabesinde üzüm salkımı anlamına gelen “Staphyle” ismini vermiştir.<sup>34</sup>

Stafilokoklar 1884 yılında Rosenbach tarafından hastalık örneklerinden soyutlanmış ve *Staphylococcus* cinsini besi yerinde oluşturduğu pigmente göre sarı-portakal renginde olan kolonileri *aureus* ve beyaz renkli kolonileri ise *albus* olarak isimlendirmiştir.

Yine ilk kez 1903 yılında stafilokokların bir enzim (stafilokoagülaz) aracılığıyla plazmayı in-vitro olarak pıhtılaştırdığı Loeb tarafından ortaya konmuş ve sonraki dönemlerde Von Gonzenbach, Much, Kleinschmidt, ve Uemara'nın yaptıkları çalışmalarda patojen stafilokokların tespitinde bu enzimin saptanmış olmasının en iyi yöntem olduğunu göstermişlerdir. 1925-1935 yılları arasında Von Daranyi ise yaptığı çalışmalarla, stafilokok patojenitesini belirleyen en iyi test olarak sitratlı tavşan plazmasının pıhtılaştırma özelliğinin olduğunu ortaya koymuştur.<sup>35, 36</sup>

1900 yılında Kraus ve Clairmont tarafından alfa toksin, 1935 yılında ise Glenni ve Stevens tarafından beta toksin ortaya çıkarılmıştır. 1938 yılında gama toksin ve 1947 yılında ise delta toksin ortaya konmuştur. 1978 yılında da “Toksik Sok Sendromu (TSS)” yeni bir hastalık olarak literatüre girmiştir.<sup>37, 38</sup>

1928 yılında Alexander Fleming tarafından penisilin keşfedilmiş, 1940 yılına gelindiğinde ise penicillium kültürlerinden penisilin saflaştırılmıştır. Maalesef penisilin klinik olarak kullanılmaya başlandıktan bir süre sonrasında penisilinaz üreten stafilokokların varlığı 1944 yılında Kirby tarafından tespit edilmiştir.<sup>39</sup> Penisilinaza dirençli olan penisilinlerin ilk temsilcisi olan metisilin 1960 yılında klinik kullanıma başlanmasından iki yıl sonrasında stafilokoklarda metisilin dirençli görülmeye başlanmıştır.<sup>40</sup> 1970’li yıllarda MRSA izolatları yaygın olarak görülmeye başlanmış ve bu bakteriler; penisilinaza dirençli (antistafilokoksik) penisilinler olarak tanınan metisilin, nafsilin, oksasilin gibi ilaçların yanı sıra diğer grup ilaçlara da direnç göstermeye başlamışlardır. 1980’li yılların başlarından itibaren hastanelerde sporadik MRSA izolatlarının izolasyonu artmış ve 1982 yılının başında hastane enfeksiyonu etkeni olan epidemik MRSA izolatları ortaya çıkmıştır.<sup>41</sup> 1995 yılında Fransa’da vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* (VISA), 1996 yılına gelince Japonya’da hetero-VISA ve son olarak da 2002 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) ortaya çıkmıştır.<sup>42, 43</sup>

Günümüze geldiğimizde ise MRSA izolatlarında glikopeptidlere karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerlerindeki artıştan da bahsedilmektedir.<sup>44</sup>

Stafilokoklar 100 yılı aşkın süreçte mortalitesindeki küçük değişkenlikler dışında hem toplum kökenli (TK) hem de hastane kökenli (HK) enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir.<sup>45, 46</sup>

### 2.1.2. Sınıflandırma

*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcaceae* familyasına ait bir bakteridir (Tablo 2.1.). İnsanda normal flora üyesi olarak bulunan veya patojenik olan *Staphylococcus* cinsinin yaklaşık olarak 41 tür ve alttürü bulunmaktadır. Özellikle bu türlerden bazıları patojen olarak çeşitli hastalıklara sebep olmakla birlikte bazı türleri de insan doğal mukozal ve yüzeysel cilt florasında bulunmaktadır.

**Tablo 2.1.** *Staphylococcus aureus* sınıflandırması.<sup>47</sup>

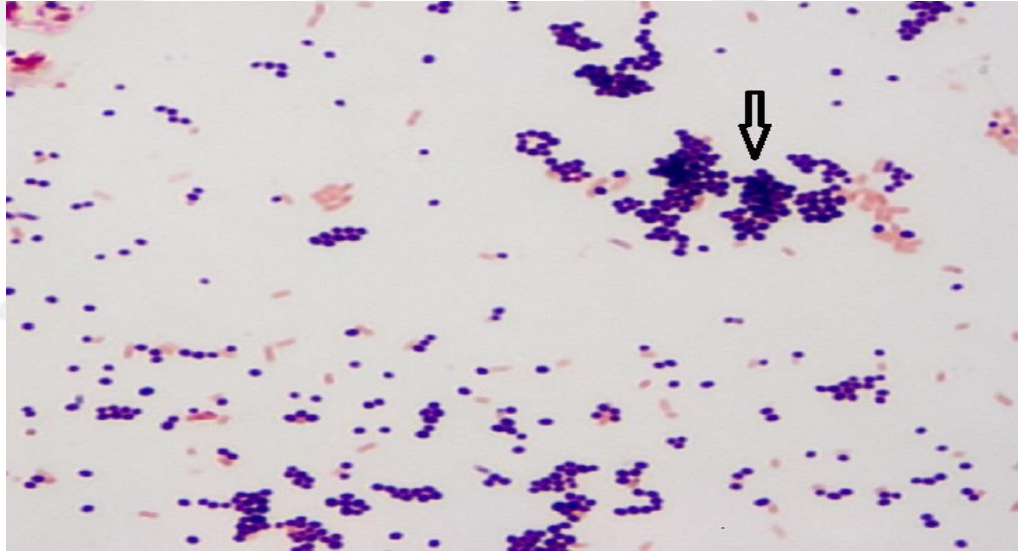
<b>Alem</b>	<i>Eubacteria</i>
<b>Bölüm</b>	<i>Firmicutes</i>
<b>Sınıf</b>	<i>Bacilli</i>
<b>Takım</b>	<i>Bacillales</i>
<b>Familiya</b>	<i>Staphylococcaceae</i>
<b>Cins</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Tür</b>	<i>S. aureus</i>

1957 yılında yedinci baskısı yayımlanan “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” de *S. aureus* ve *S. epidermidis* olmak üzere stafilokokların sadece iki türü açıkça tanımlanmıştır. “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology” nin, 1994 yılında çıkan dokuzuncu baskısında, “Gram pozitif koklar” bölümünde 20 farklı cins tanımlanmıştır.<sup>34</sup> *Staphylococcus* cinsi, *Micrococcaceae* familyası kapsamı içinde incelenmektedir. Aynı familya içerisinde *Planococcus*, *Stomatococcus*, *Micrococcus* ve *Staphylococcus* olmak üzere 4 cins yer almaktadır. DNA’da ki Guanin+Sitozin (G+C) oranları, hücre duvar yapıları ve genom yapıları arasında bazı farklılıklar olmasına karşın, nükleik asit hibridizasyon çalışmaları ve 16S rRNA sekanslarının araştırılması neticesinde mevcut olan dört cins aynı familya içinde toplanmıştır.<sup>48, 49</sup>

### 2.1.3. Stafilokokların Genel Özellikleri

*Micrococcaceae* familyasına ait olan ve içerisinde en az 40 tür barındıran *Staphylococcus* cinsinde yer alan *S. aureus* hareketsiz, sporsuz, 0,5-1,5 µm çapında,

Gram pozitif, genellikle üzüm salkımı halinde kümelenen, ikişerli ya da tekli koklar olarak da görülebilen mikroorganizmalardır (Şekil 2.1). Üç düzlemde çoğalma yeteneğine sahip olduğundan ve oluşan yavru hücrelerin birbirinden ayrılmaması sonucu mikroskop altında incelendiğinde çok sayıda koktan meydana gelmiş kümeler şeklinde görülür. *S. sciuri*, *S. lentus* ve *S. vitulinus* dışındaki stafilokoklar oksidaz negatif (-), *S. saccharolyticus* ve *S. aureus subsp. anaerobius* dışındakiler ise katalaz pozitif (+). Bu bakterilerin çoğu üremek için %10 NaCl'li ortama ihtiyaç duyarlar. *S. aureus* Staphylococcus cinsinin en virülan türüdür ve koagülaz üretimi ile diğer türlerden ayrılmaktadır.<sup>50-53</sup>



**Şekil 2.1.** *S. aureus*'un Gram boyamada görüntüsü

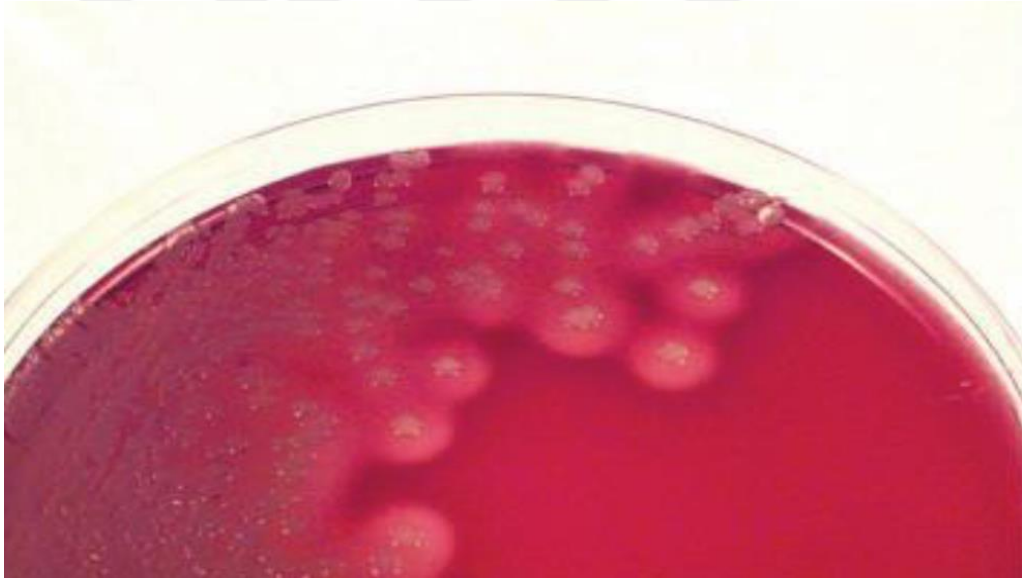
*S. aureus* fakültatif anaeroptur ve 15<sup>0</sup>C-45<sup>0</sup>C gibi geniş bir sıcaklık aralığında yaşayabilmekle birlikte en iyi 35<sup>0</sup>-37<sup>0</sup>C'de üremektedir. *S. aureus* adi jeloz besiyerinde üremesine karşın, %5'lik koyun kanlı agarda, 37C° de ve pH 7,4 te daha iyi üremektedir ve kolonilerin etrafında tam bir hemolizli alan görülmektedir. Yuvarlak ve düzgün kenarlı olan, mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler oluştururlar. *S. aureus* ayrıca altın sarısı renginde pigment oluşturur. Kolonilere altın sarısı rengini veren karotenoid pigmentleridir. *S. aureus* ısıya ve kuruluğa karşı dayanıklıdır. Antibiyotiklere



karşı da diğer birçok bakteriye göre daha dirençli oldukları gibi, genel olarak kemoterapötiklere karşı süratle direnç geliştirirler.<sup>49, 50, 53, 54</sup>

Stafilokoklar, kültürlerde +4°C'de 2-3 ay, -20°C'de 3-6 ay arasında canlılıklarını koruyabilirler. Stafilokoklar aynı zamanda 60°C'lik ısıya 30 dakika dayanabilirler ve %9'luk NaCl'lü ortamda canlılıklarını sürdürebilirler. Fenolde (% 2'lik) 15 dakikada inaktive olmaktadır.<sup>55</sup>

*S. aureus* kökenlerinin çoğunda sarı pigment ve beta hemoliz görülmektedir (Şekil 2.2). Bu hemoliz; koyun, insan veya at kanlı agarda ortaya çıkabilir ve uzun süreli inkübasyon durumlarında daha belirgin bir hale gelmektedir. Ancak anaerobik ortamda ve sıvı besiyerinde pigment oluşumu gözlenmemektedir.<sup>54</sup>



**Şekil 2.2.** *S. aureus*'un koyun kanlı agardaki beta hemolitik kolonileri

Koagülaz *S. aureus*'da bulunan bir ekzoenzim olup, protrombin benzeri plazma faktörü ile etkileşerek fibrinojeni fibrine çevirir ve plazmanın pıhtılaşmasına neden olur. Koagülaz testi *S. aureus* türleri ile diğer stafilokok türlerinin ayrımında kullanılan en önemli testtir. Koagülaz negatif stafilokok (KNS) türleri tüm memelilerde normal cilt florası üyesi olup 31 değişik üyesinden 15'i (Tablo 2.2) insanlarda kornifiye squamöz epitelyum ve mukoz membranlarda kolonize olurlar.<sup>56</sup>

**Tablo 2.2.** İnsan cilt ve mukoz membranlarında kolonize olan stafilocok türleri

Koagülaz-Pozitif	Koagülaz-Negatif	
<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. cohnii</i>
	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. xylosus</i>
	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. auricularis</i>
	<i>S. warneri</i>	<i>S. simulans</i>
	<i>S. capitis</i>	<i>S. schleiferi</i>
	<i>S. hominis</i>	<i>S. ludganensis</i>
	<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. caprae</i>
		<i>S. pasteurii</i>

#### 2.1.4. Stafilocokların Virülans ve Patojeniteleri

Stafilocoklar içerisinde en yüksek virülansa sahip olan tür *S. aureus*'dur. Enfeksiyon meydana gelmesi, mikroorganizmanın virülans faktörü ile konak savunma sisteminin ortaya çıkaracakları dengeye bağlıdır.<sup>57</sup> Stafilocokların virülansında etkili olan faktörler; kapsül, hücre duvar yapıları, yüzey proteinleri, enzimler ve toksinleridir.

**Tablo 2.3.** Stafilocokların virülans faktörleri<sup>5, 58, 59</sup>

Hüresel Bileşenler	Hücre Dışı Ürünler	
	Toksinler	Enzimler
Kapsül	Alfa toksin	Koagülaz
Protein A	Beta toksin	Stafilokinaz
Elastin bağlayıcı protein	Gama toksin	Nükleaz - DNaz
Kollajen bağlayıcı protein	Delta toksin	Hiyaluronidaz
Fibronektin bağlayıcı protein	Lökosidin (Phantom Valentine)	Lipaz
Kümeleştirici faktör	Enterotoksinler	$\beta$ -Laktamaz
Peptidoglikan	Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1)	Proteaz (I, II,III)
Teikoik asit	Eksfoliatif toksin	Lizozim
Lipoteikoik asit		Laktat-dehidrogenaz
Slime tabakası		Katalaz
		Asit fosfataz

#### 2.1.4.1. Kapsül

Kapsül; bakterinin her tarafını saran ve genellikle polisakkaritten meydana gelmiş olan jelatine benzer en üst katmandır. Bakteri hücresi üzerindeki tanıma bölgelerini maskeleyerek parçalı çekirdekli bir yapıya sahip lökositler (PNL) tarafından bakterinin fagosite edilmesini sınırlamaktadır. Bu nedenle virülans faktörü olarak rol oynamaktadır. Mukoid tip kapsül antifagositik virülans faktörü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>60, 61</sup>

Kapsüllü bakterilerde, kapsül enfeksiyonun ilk basamağında bakterilerin dokulara yapışmasında rol oynamaktadır. Ayrıca bakterilerin kateter gibi yabancı cisimlere yapışmasında da önemi çok büyüktür.<sup>57</sup>

*S. aureus*'un M tipi koloni oluşturan kökenlerinde polisakkarit yapıya sahip bir kapsül vardır. Özellikle enfekte kalp pilleri taşıyan hastalardan, peritonit ve intravenöz kateter enfeksiyonları geçiren hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarında elektronik mikroskopik ile yapılan araştırmalar sonucunda kapsül varlığı tespit edilmiştir. *S. aureus*'un sahip olduğu kapsül antijenlerinin ikisi kimyasal olarak tespit edilmiştir. Wilky izolatu olarak tanımlanan antijenlerden birincisi glisin, lizin, glutamik asit ve alaninden meydana gelmiştir. Smith izolatu olarak tanımlanan ikincisi ise, 2-amino-2-deoksi-D-glukronik asidin bir polimeridir. İzole edilen *S. aureus*'ların %90'ndan fazlasında kapsül yoktur. Kapsül taşıyan *S. aureus*'ların ise 11 serotipi tanımlanmış ve klinik izolatları içerisinde 5. ve 8. serotipler en baskın (%70-80) tipler olduğu belirtilmiştir. Bu serotipler içerisinde S-8, *S. aureus*'un TSST ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.<sup>52, 62</sup>

Hücreye sarılı bir şekilde olan kapsül, hücreden gevşek olarak yayılım gösterdiklerinde ise "slime" tabakası ortaya çıkar.<sup>63</sup>

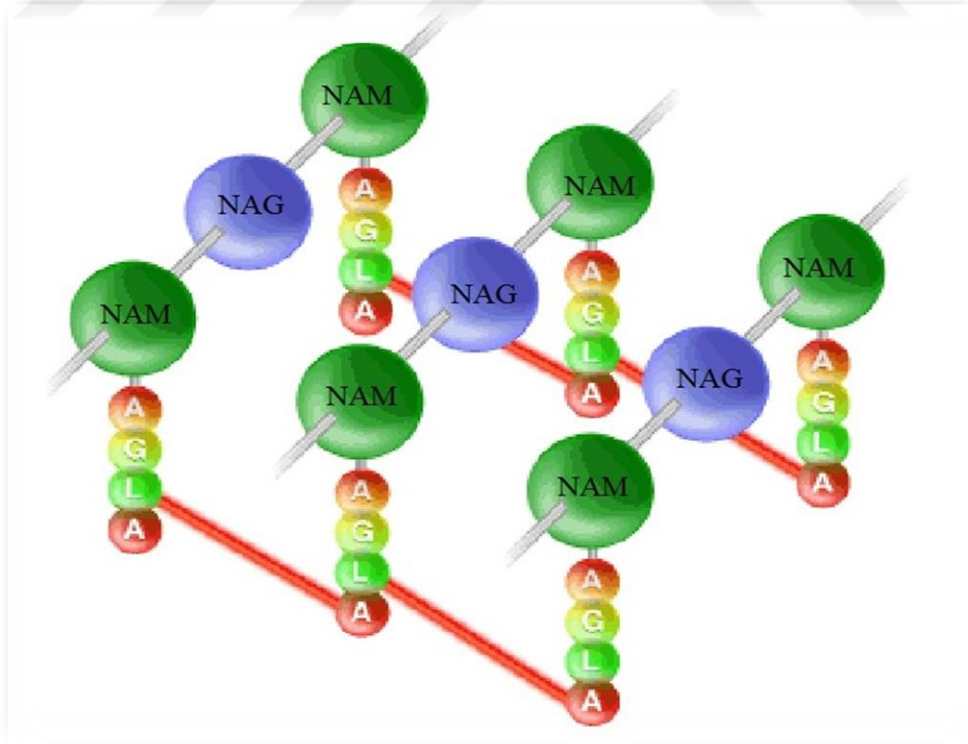
#### 2.1.4.2. Hücre Duvarı

*S. aureus*'un hücre duvarı 3 bölümden oluşmaktadır:

- 1- Peptidoglikan tabaka
- 2- Teikoik asit
- 3- Protein A ve diğer yüzey proteinleri

**Peptidoglikan;** birden fazla tabakadan oluşmuş dayanıklı ve karmaşık bir yapıdır.

Sitoplazmik membranın dışında yer alır, bakteriye şeklini verir ve ozmotik basınçtan korur. Diğer gram pozitif bakterilerdeki gibi stafilocların da hücre duvarının kuru ağırlıklarının yaklaşık %50'sini peptidoglikan tabaka meydana getirmektedir. Çok sayıdaki çapraz bağ içeriği, hücre duvarının sağlamlığını artırarak konak savunmasına katkı yapar, stafilokokun farklı fiziksel koşullara karşı koyabilmesini ve canlı kalabilmesini sağlar.<sup>64</sup> Peptidoglikan yapısını oluşturan polisakkarit iskelet; birbirine  $\beta(1-4)$  bağlarıyla bağlı, tekrarlayan N-Asetil Glikozamin (NAG) ve N-Asetil Muramik asit (NAM) birimlerinden oluşmaktadır.<sup>65</sup> NAM'a bağlı D ve L aminoasitlerden oluşmuş tetrapeptid zincir L-alanin, D-glutamin, L-lizin ve D-alaninden oluşmaktadır (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Peptidoglikan tabakanın şematik yapısı.

\*NAM; N-asetil muramik asit, NAG; Nasetil glikozamin A; Alanin, G;Glutamat, L;Lizin. Pentaglisin yapı kırmızı çizgilerle gösterildiği şekilde D-glutamin (L) ile D-alanin (A) arasındadır.<sup>66</sup>

**Teikoik Asit:** Teikoik asitler, hücre duvarının önemli bileşenlerindedir ve duvar kuru ağırlığının % 30-50'sini oluşturmaktadır. Türe özgüdür, fosfat içeren polimerler kovalent olarak peptidoglikan tabakaya bağlanmaktadır. *S. aureus*'ta ribitol teikoik asit ile NAG rezidüleri bulunmaktadır. Teikoik asit, *S.aureus*'un mukozal yüzeylerde kendilerine özgü olan fibronektine bağlanmasına aracılık etmektedir. Teikoik asit zayıf immünojen olmakla birlikte, peptidoglikana bağlandığında özgül antikor cevabını uyarmaktadır. Antikor cevabının izlenmesi, sistemik stafilokok enfeksiyonlarının tespitinde kullanılsa da diğer tanısal testlere göre daha az duyarlı olduğu görülmektedir.<sup>67</sup>

Sadece Gram pozitif bakterilerde bulunan teikoik asit stafilokokların hücre duvarında yer alır ve mukozalarda bulunan özgül reseptörleri ile birleşerek stafilokokların konağa tutunmasını sağlar.<sup>57</sup> Ayrıca hücre duvarının sertliğini ve esnekliğini destekler.<sup>68</sup> Erişkin insanların çoğunda teikoik aside karşı erken tipte aşırı duyarlılık reaksiyonu ve kanlarında düşük düzeyde presipitan antikorlar saptanır. Antijenik özellik gösteren teikoik asit, *S. aureus*'ta ribitol teikoik asit yapısındadır.<sup>69</sup> *S. epidermidis*'te poligliserol teikoik asittir.<sup>38</sup>

**Protein A:** Wervey tarafından 1940'da tanımlanmıştır.<sup>38</sup> *S.aureus*'un hücre duvarında bulunur. *S.aureus*'ta üç tip stafilokokal protein A (SpA) saptanmıştır. Kovalent olarak peptidoglikan tabakaya bağlanmıştır. Bu madde kemotaktik, antikomplemanter ve antifagositik etki gösterir. Yüzey proteinlerinin bir prototipi olan protein A, hücre duvarının yaklaşık %7'sini oluşturur. IgG<sub>3</sub> dışındaki tüm IgG ve IgA<sub>2</sub> ile bazı IgM'in Fc reseptörlerine bağlanır. Ekstraselüler Protein A'nın antikora bağlanması aynı zamanda immün kompleks oluşumu ve sonrasında da komplemanın tüketimine neden olur. *S.aureus*'ta Protein A'nın varlığı koaglutinasyon test prosedürlerinin temelini oluşturur. Bu teknik farklı antijenlere yönelik olan antikorların nonspesifik taşıyıcısı olarak laboratuvarında organizmaların tanımlanması için kullanılır.<sup>37, 67, 70</sup>

### 2.1.4.3. Toksinler

Stafilokoklar çeşitli hücreler üzerine sitolitik etki gösteren ekzotoksinler salgılamaktadır. Virülansta büyük rol oynayan bu toksinler alfa, beta, delta ve gama olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır.<sup>71</sup>

**Alfa Toksin:** Ökaryotik hücre membranlarının geniş spektrumuna göre davranan heterojen yapıda bir proteindir. Alfa toksin eritrositleri parçalayan güçlü bir hemolizindir. Bu toksin hem hemolitik hem de dermonekrotik etki göstermektedir. Aynı zamanda potansiyel bir nörotoksindir. Özellikle tavşan eritrositleri üzerine hemolitik etkinliği belirgin iken, insan eritrositleri üzerine bir etkinliği bulunmamaktadır. Defibrine koyun kanı katılmış kanlı agarda *S.aureus* kolonilerinin etrafındaki hemoliz zonunun oluşumundan sorumludur.<sup>52</sup> Alfa toksin ayrıca dolaşım, böbrek korteksi ve kas dokularında tahribat yapmaktadır.<sup>57</sup>

**Beta Toksin:** Stafilokokal sfingomiyelinaz olarak bilinir. Isıya dirençli ve antijenik yapıda bir toksindir. Hücre membranına etki eder. Eritrosit, lökosit ve fibroblastlar üzerine etkilidir. Hemolitik aktiviteleri sayesinde doku hasarı ve apse oluşumuna neden olur.<sup>72</sup> Hücre zarlarındaki sfingomyelininin yıkımından sorumludur. Bu nedenle kırmızı kan hücreleri de dahil olmak üzere birçok hücre için toksiktir sayılmaktadır. Koyun ve tavşan ile birlikte insan eritrositleri üzerine de hemolitik aktivite göstermektedir.<sup>73</sup> “Sıcak-soğuk hemolizin” adlı fenomenden sorumlu olan bu toksin aynı zamanda B grubu streptokoklar tarafından oluşturulan cAMP faktörü ile birlikte sinerjik hemolizisten sorumludur.<sup>74</sup>

**Delta Toksin:** İlk kez 1947’de Williams ve Harper tarafından tanımlanan delta-toksin 3000 dalton molekül ağırlığında polipeptidden oluşur. *S.aureus* izolatlarının çoğunda ve bazı KNS’lerde bulunur. Eritrositleri ve diğer memeli hücrelerini ayrıca hücre içi membran yapılarını da etkileyen geniş spektrumlu sitolitik etkiye sahiptir. Deterjan

benzeri etki ile biyolojik membranlarda hasara neden olur. Ayrıca kolera toksinine benzer bir etki gösterir ve adenilat siklazı aktive ederek cAMP salınımına neden olur. Bu enzimatik aktivitenin toksik şok sendromu ve stafilokoksik besin zehirlenmelerinde görülen diyarenin nedeni olduğu düşünülmektedir.<sup>38, 75, 76</sup>

**Gama Toksin:** Smith ve Price tarafından 1938'de tanımlanmıştır. İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri bu toksine duyarlı iken, at ve kuş eritrositleri gama toksine karşı dirençlidir.<sup>77</sup> Özellikle stafilokoklardan kaynaklı kemik enfeksiyonları durumunda kanda gama toksine karşı antikor düzeyinde artış görülmesi, gama toksinin bu hastalıkların meydana gelmesinde rolünün olduğunu düşündürmektedir, etki mekanizması bilinmemektedir.<sup>69</sup>

**Lökosidin:** Polimorfonükleer lökosit (PNL) hücre membranları üzerine porlar açarak permeabiliteyi bozan ve bu etkisi ile PNL degranülasyonuna, hücrenin şişmesine ve ölümüne neden olan iki bileşenli bir toksindir. PNL parçalayıcı etkisi insan ve tavşan kanında belirgindir. Bu toksin özellikle TK-MRSA izolatlarında önemli bir virulans faktörüdür.<sup>52, 78</sup>

**Eksfoliyatif Toksinler:** Eksfoliatin veya epidermolitik toksin olarak da bilinen eksfoliyatif toksin, ciltte yaygın büller ve cildin soyulmasıyla karakterize bir klinik tablo olan stafilokoksik haşlanmış deri sendromu (staphylococcal scalded skin syndrome; SSSS)'na yol açar. SSSS en sık bebeklerde ve küçük çocuklarda görülürken, büyük çocuklarda ve erişkinlerde son derece nadirdir. Bunun nedeni muhtemelen koruyucu antikorların varlığı veya erişkin cildinin toksine karşı duyarsızlığıdır. Hastalık ateş, ciltte hassasiyet ve kızıl tipi döküntülerle seyreder. Ardından, oluşan geniş büller parçalanır ve cilt tabakalara ayrılır. Cildin sağlam görülen bölgeleri hafif bir sürtünmeyle soyularak aşınmış bölgeler ortaya çıkar (Nikolsky bulgusu).<sup>52</sup>

*S.aureus*'un bu epidermolitik toksinleri aynı molekül ağırlığında 2 farklı

proteindir. Epidermolitik toksin A kromozomal bir gen ürünüdür ve 20 dk. kaynatmaya dirençlidir. Epidermolitik toksin B plazmid kaynaklıdır. Eksfoliyatif toksinler, epidermin mukopolisakkarid kaybı ile oluşan stafilokokal haşlanmış deri sendromunun ilerlemesine yol açmaktadır.<sup>69</sup>

**Enterotoksinler:** Stafilokoksik besin zehirlenmelerinden sorumlu toksinlerdir. Isıya dirençli, 100 °C'ye 30 dakika dayanabilen, polipeptid yapısında maddelerdir. A-E olmak üzere beş farklı serotipi vardır ve enterotoksin A besin zehirlenmelerine en sık neden olan toksindir. Enterotoksin B stafilokokal pseudomembranoz enterokolite neden olurken, enterotoksin C ve D kontamine süt ürünlerinde bulunmuştur. Enterotoksinler gastrik ve jejunal enzimlerin hidrolizine dirençlidir. Besin maddesi enterotoksin üreten stafilokoklarla kontamine olduktan sonra, yiyeceğin tekrar ısıtılması ya da sindirim süreci ile toksinlerin etkinliği kaybolmaz. Bütün *S.aureus* izolatlarının %30-50'si bu toksinleri üretmektedir. Enterotoksinler süperantijenlerdir. T hücrelerini nonspesifik olarak uyararak yoğun sitokin salınımına sebep olurlar. Mast hücrelerinden salınan triptaz, kimaz, lökotrienler, sitokinler gibi inflamatuvar medyatörlerin, *S. aureus* zehirlenmelerindeki kusmanın nedeni olduğu düşünülmektedir.<sup>67, 79, 80</sup>

**Toksik Şok Sendrom Toksin-1 (TSST-1):** Toksik şok sendromu patogenezinde rol alan, *S. aureus* izolatlarının salgıladığı bir toksindir. Bu özgül toksini salgılayan *S. aureus* izolatlarının hastane kaynaklı olabileceği bildirilmektedir.<sup>57</sup> Çok geniş bir biyolojik aktivitesi olan bu toksin, ateş, deri döküntüleri, hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği, kusma ve ishal ile devam eden TSS'ye yol açar. Bunun yanı sıra, kalp kası, iskelet sistemi, karaciğer ve böbrek dokusuna doğrudan toksik etkisi vardır.<sup>63, 68</sup> Ateş, üşüme, hipotansiyon, kusma, başarıcı, böbrek yetmezliği ve şok ile karakterize toksik şok sendrom (TSS) olarak adlandırılan bir multisistem hastalığından sorumludur.<sup>81</sup> TSS'li hastalardan izole edilmiş olan *S. aureus* izolatlarının bir çoğu enterotoksin F olarak da



bilinen TSST-1'i ürettikleri gösterilmiştir. TSST-1'de bir süper antijendir ve bu özelliği sayesinde T hücre stimülasyonuna yol açan major histokompatibilite kompleks sınıf II (MHC-II) moleküllerine nonspesifik olarak bağlanarak immün sistemin poliklonal uyarılmasına neden olmaktadır.<sup>69, 81</sup>

**Süperantijenler (SAgs):** Süperantijenler belirli T hücre antijen reseptörlerinin beta zincirinin değişken bölgesine ( $V_{\beta}$ ) direkt olarak bağlanır ve bu reseptörleri, antijen sunucu hücrelerdeki MHC-II molekülleri ile köprü oluşturarak, non-spesifik olarak birleştirir. Sonuç olarak antijenin, antijen sunucu hücreler tarafından işlenmesi ve sunulması gerekmeksizin, uygun  $V_{\beta}$  gen ürününü taşıyan tüm T hücreleri aktive olur. Normal şartlarda bir antijen makrofaj yüzeyinde MHC II ile kompleks oluşturmuş halde eksprese edildiğinde, sadece kendisi için özgül T hücrelerini uyarırken, süperantijenler, çok az miktarlarda bile özgül olmayan T hücrelerine bağlanarak aşırı miktarda sitokin salgımasına neden olur. *S. aureus* türleri tarafından sentezlenen piyojenik toksinler, başta Stafilokokal Enteretoksin A ve Stafilokokal Enteretoksin B olmak üzere stafilokoksik enterotoksinler, TSST-1, ET-A, ET-B ve ET-D süperantijen olarak fonksiyon gösterir ve gıda zehirlenmelerine, TSS ve SSSS hastalıklarına yol açarlar.<sup>52, 82, 83</sup>

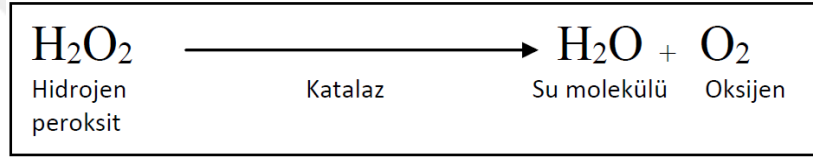
#### 2.1.4.4. Enzimler

**Koagülaz:** Koagülaz, fibrinojeni fibrine çevirme özelliğinde protrombin benzeri aktiviteye sahip bir proteindir. Koagülaz enzimi enfeksiyon sırasında in-vivo fibrin bir bariyer oluşturur ve bakteriyi fagositozdan korur. Koagülaz bağlı ve serbest olmak üzere iki formda bulunur. Bağlı koagülaz (clumping factor) bakteri hücre duvarına bağlı halde bulunur, kültür filtratlarında serbest olarak bulunmaz. Bakteriler plazma içinde süspansiyon edildiğinde, bakteriler arasında fibrin iplikçikleri oluşur ve bakterilerin gözle görünen kümeler oluşturmalarına neden olur. Serbest koagülaz ise kültür filtratlarında bulunan bir enzimdir. Koagülaz üreten mikroorganizma süspansiyonu plazma ile bir tüpte

karıştırıldığında görülebilir pıhtı oluşur.<sup>75</sup>

Koagülaz *S. aureus* için bir virülans faktörüdür. Koagülaz pozitif stafilocokların üzerinde oluşan fibrin tabakası mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak patojenitesini artırır. Stafilocoksik apsenin etrafında bir fibrin tabakasının oluşmasını sağlayarak enfeksiyonu lokalize edebilir ve organizmalar fagositozdan ve immün sistemin diğer hücrel ve hümorale savunma mekanizmalarından koruyabilir.<sup>49, 52, 84</sup>

**Katalaz:** Bütün stafilocoklar miyeloperoksidaz sisteminde düzenlenen toksik hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalize eden katalaz enzimi üretirler(Şekil 2.4). Stafilocokları streptokoklardan ayıran en önemli yöntemdir. Katalaz fagosite edilmiş bakterinin oksijen radikalleri ile öldürülmesini engeller.<sup>79</sup>



Şekil 2.4. Katalaz reaksiyonu

**Hyaluronidaz:** ‘Yayılma faktörü’ olarak da bilinir. Bu enzim bağ dokusu matriksindeki mukopolisakkarit kaynaklı hyaluronik asidi hidrolize ederek mikroorganizmanın dokulara invazyonundan ve yayılımından sorumludur. Stafilocokların büyük çoğunluğunda bulunmaktadır.<sup>72, 85</sup>

**Stafilokinaz (Fibrinolizin):** Streptokoklarda olduğu gibi stafilocoklarda da fibrinolitik bir etki vardır. Stafilocoklar tarafından salınan kinazlar plazmada bulunan plazminojeni, aktive ederek plazmin (fibrinolizin) oluştururlar.<sup>69</sup> Plazmin, fibrini eriten proteolitik bir madde olduğundan bakterinin dokular arasında yayılımını sağlar. Bazı izolatlarda kromozomal genler tarafından kodlanır, bazılarında ise faj genomunun kontrolündedir. Stafilokinaz aslında bir enzim değildir, ancak plazmin ile oluşturdukları kompleks yüksek aktiviteye sahiptir.<sup>86</sup>

**Lipaz:** *S.aureus*’un tüm izolatları ve KNS’lerin %30’dan fazlası birkaç farklı lipaz

üretirler. Lipaz yağları hidrolize ederek vücudun lipid içeren bölgelerinde stafilokokların yaşamasını sağlamaktadır. Yüzeysel dokuları invaze ederek fronkül ve karbonkül gibi enfeksiyonlarının gelişimine neden olmaktadır.<sup>79</sup>

**Penisilinaz ( $\beta$ -Laktamaz):** Penisilin grubu antibiyotiklerdeki  $\beta$ -laktam halkasının hidroksil grubunu parçalayarak etkisiz hale getiren enzimdir. Bunun sonucunda bakteriler hücre duvarı sentezini inhibe eden  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençli hale gelirler. Klinik kullanıma girdiği dönemlerde hemen hemen tüm stafilokok kökenleri penisiline duyarlı iken, günümüzde özellikle hastane kaynaklı izolatlarda bu oran %5'in altına düşmüştür. Bu enzimin salgılanmasını sağlayan genler, plazmid ve transpozonlarla aktarılır.<sup>87</sup>

**Deoksiribonükleaz (DNaz):** DNaz enzimleri endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. *S. aureus* izolatlarının % 90'dan fazlasında bulunur. Isıya dirençli bir enzimdir.<sup>38, 79</sup>

### **2.1.5. Tanısal Laboratuvar Testleri**

#### **2.1.5.1. Gram Boyama**

Tipik olarak Stafilokoklar, klinik materyalin gram boyanması ile pozitif koklar şeklinde görünmektedir. Boyama *S. aureus* gibi patojen olan türleri *S. epidermidis* gibi saprofitik olan türlerden mümkün değildir.

#### **2.1.5.2. Kültür Testi**

*Staphylococcus spp.* çoğu besiyerinde rahatlıkla ve hızlıca üreyebilen bakterilerdir. *S.aureus*'un beta hemoliz yapan ve sarı pigment oluşturan tipik kolonilerinin gözlenebilmesi için örnekler %5 Koyun kanlı agar (KKA) plaklarına ekilir ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edilir. Eğer örnekler kontamine ise stafilokokları izole etmek için Mannitol salt agar (MSA), Columbia kolistin nalidiksik-asit besiyeri (CNA) veya Feniletıl alkol agar (PEA) gibi selektif besiyerlerine ekim yapılabilir.<sup>88</sup>

### 2.1.5.3. Katalaz Testi

Stafilokok ve mikrokokları, enterokok ve streptokok gibi benzeri bakterilerden ayırmak için katalaz testi kullanılır. Bu test bakterilerde hidrojen peroksit enziminin varlığını ifade eder. Katalaz testi lam üzerinde %3 hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanılarak uygulanır. Hızlı ve kuvvetli hava kabarcığının oluşması H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin su ve oksijene dönüşmesini ifade eder ve bu durum bu bakteride katalaz enzimi içerdiğinin göstergesidir. Bu testin kan içermeyen besiyerinden yapılması gereklidir. Çünkü eritrositler katalaz enzimi varlığından dolayı zayıf pozitif katalaz reaksiyonuna neden olabilirler. Stafilocoklardan çok az sayıda izolat negatif olabilir hatta bazıları pseudokatalaz oluşturarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile zayıf tepkime veren enterokoklar da olabilir.<sup>75, 89</sup>

### 2.1.5.4. Koagülaz Testi

*S. aureus*'u diğer *Staphylococcus* türlerinden ayırmak için yapılan testtir. Her ne kadar *S. aureus* ile birlikte *S. intermedius* ve *S. delphini* türlerinde de koagülaz pozitifliğine rastlanabilmekte ise de bu türler insanlarda nadiren hastalık etkenidirler. Koagülaz testi için 1:5 oranında distile su ile seyreltilmiş sitratlı tavşan veya insan plazmasından 0,5-1 ml steril tüpün içerisine konulur ve üzerine et suyu kültürü ya da agar üzerinde oluşan kolonilerden eşit miktarda alınmak suretiyle karıştırılır ve 37°C'de inkübe edilir. Saat başı incelenmek suretiyle tüpler 4 saate kadar inkübasyona bırakılır. Tüp içerisinde oluşması beklenen gevşek bir fibrin ağı veya tam bir pıhtılaşmanın meydana gelip gelmediği gözlenir. Eğer ilk 4 saat içerisinde pıhtı meydana gelmişse koagülaz testi pozitif olarak değerlendirilir.

### 2.1.5.5. Duyarlılık Testi

Stafilokokların metisilin direncini ortaya çıkarmak için genellikle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında disk difüzyon, tüp dilüsyon, mikrodilüsyon, agar dilüsyon, agar tarama, otomatize edilmiş duyarlılık testleri, DNA hibridizasyon teknikleri

ve PCR kullanılmaktadır.<sup>68</sup>

MRSA'nın moleküler tanısı fenotipik ve genotipik yöntemlere göre yapılmaktadır. PCR genotipik tanı yöntemi olarak altın standart bir tanı yöntemi olarak kabul görmüş olsa bile, MRSA tanısında günümüzde fenotipik tanı yöntemleri rutin laboratuvarlarda büyük bir yer tutmaktadır. Bu sebeple hızlı, kolay, güvenilir ve uygulanabilir fenotipik testler genellikle direnç ortaya konması açısından oldukça önemli sayılmaktadır. Sefoksitin disk difüzyon, oksasilin agar tarama ve sıvı mikrodilüsyon testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen fenotipik yöntemler arasındadır.<sup>90</sup>

#### **2.1.5.6. Mikrokok ve Stafilokokların Ayrımı**

Klinik örneklerde çoğunlukla rastlanan katalaz pozitif olan bu iki türün ayırımı için kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Glukoz fermentasyonu, eritromisin varlığında gliserolden asit üretimi, lizostafin-furazolidon-basitrasine duyarlılık ve modifiye oksidaz testleri ile bu iki cins arasında ayırım yapılmaktadır. Genellikle *Staphylococcus* türleri lizostafin ve furazolidona duyarlıdır ama basitrasine karşı dirençlidir. Bununla birlikte glikozu fermente etmekte ve eritromisin varlığında asit üretimi gerçekleştirmektedirler. *S. sciuri*, *S. vitulinus* ve *S. lentus* dışındaki diğer bütün stafilokok türlerinde modifiye oksidaz testi negatiftir.<sup>75</sup>

#### **2.1.5.7. Stafilokokların Tanımlanmasında Kullanılan Diğer Tanımlama Yöntemleri**

Stafilokok türlerinde tanımlanma yapılabilmesi için birçok ticari amaçlı kit tanımlama sistemleri ile beraber otomatize sistemler de geliştirilmiştir. Bu testlerin doğruluk oranı türlerin ayırımı için % 70-90 civarındadır. Fakat bazı sistemlerin güvenilirliği için üretici firmaların önerdiği ek testlere ihtiyaç vardır. Bu testler genellikle koagülaz varlığı, novobiosin direnci, "clumping" faktör veya ornitin dekarboksilaz

aktivitesi gibi testlerdir.<sup>91</sup>

Günümüzde kullanılan mevcut tanımlama sistemlerine baktığımızda VITEK, ID32 STAPH, RAPIDEC Staph, API STAPH, MicroScan Pos ID panel, Sceptor Gram-Pozitif MIC/ID panel, MALDI-TOF MS, STAF-sistem 18-R, Crystal, BD Phoenix, GP MicroPlate test paneli, MIDI Sherlock tanımlama sistemleri örnek olarak gösterilebilir.<sup>75, 91</sup>

#### **2.1.5.8. Moleküler Testler**

*S. aureus* izolatlarında yapılan koagülaz testinde veya diğer biyokimyasal testlerde bazen şüpheli sonuçlar ortaya çıkabilir ya da metisilin/oksasilin duyarlılık testlerinde şüpheli sonuçlar olabilir. Genellikle böyle durumlarda alternatif olabilecek metotlar ile tanının doğrulanması gerekebilir. Metisilin/oksasilin duyarlılığını ortaya koyan hızlı moleküler testler ile eş zamanlı olarak *S. aureus*'a özgül hedeflerin tespit edilmesi MRSA izolatlarının hızlı tanısını da sağlamaktadır.<sup>92</sup>

*S. aureus*'un tanısı için genellikle PCR temelli moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Nükleaz (nuc), koagülaz (coa), protein A (spa), femA, femB, Sa442, 16 S rRNA ve yüzey ilişkili fibrinojen bağlayan protein genleri gibi daha çok türe özgü bölgeleri amplifiye eden birçok primer geliştirilmiştir.<sup>92</sup>

Bu ve buna benzer diğer alternatif olabilecek moleküler metotlar, son zamanlarda tanı ve duyarlılık testlerini kombine ederek daha da geliştirilmiş ve rutin laboratuvarların kullanılmaya başlanmıştır. MRSA epidemilerinin araştırılması, kolonizasyon varlığının belirlenmesi, enfeksiyon kaynağının tespiti gibi sebepler ve aynı zamanda taksonomik analizler için de moleküler tiplendirmeler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fakat bu yöntemler ek bir maliyet beraberinde getirmektedir. Bu açıdan diğer yöntemlerle şüpheli sonuçlar alınması durumunda moleküler testlerin doğrulama amaçlı kullanılması tavsiye edilmektedir.<sup>75, 92, 93</sup>

### **2.1.6. *S. aureus* Enfeksiyonları**

Son yıllarda stafilokokların neden olduğu enfeksiyonlar belirgin şekilde artmış ve hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ilk sıralarda yer almaya başlamıştır. Stafilokoklar genellikle daha basit sayılabilecek deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından, sepsis gibi çok daha ağır enfeksiyon tablolarına kadar uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunu içine almaktadır. Stafilokoklarla ilişkili enfeksiyonların gelişmesinde bakterilere ait virülans faktörlerinin yanı sıra konağa ait immün yeterlilik durumu da etkili olmaktadır. *S. aureus*'un neden olduğu hastalıkları 3 grupta toplamak mümkündür. Stafilokokların oluşturduğu enfeksiyonlar Tablo 2.4'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Bunlar;

#### **a) Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları**

- İmpetigo
- Selülit
- Folikülit
- Fronkül ve karbonkül
- Hidradenitis süpürativa
- Mastit
- Cerrahi alan enfeksiyonu

#### **b) Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar**

- Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu (SHDS)
- Toksik Şok Sendromu
- Besin zehirlenmesi

#### **c) Stafilokokların Yayılımı ile Oluşan Enfeksiyonlar**

- Bakteriyemi/sepsis

- Kardiyovasküler sistem enfeksiyonları (Endokardit, perikardit, mediastinit)
- Pnömoni ve ampiyem
- Eklem ve kemik enfeksiyonları
- Üriner sistem enfeksiyonları
- Menenjit

**Tablo 2.4.** Stafilokokların neden olduğu enfeksiyonlar<sup>63, 79, 94</sup>

Taşıyıcılık	Burun, nazofarenks, deri, vajen, aksilla, perine vs.
Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları	İntravenöz kateter Üriner kateter Periton diyaliz kateteri Santral sinir sistemi santları Prostatik kalp kapakları Kalp pili, elektrod ve telleri
Bakteriyemi	Metastatik enfeksiyonlar Vaskulit ve koagülopati Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu Çoğul organ yetmezliği
Metastatik enfeksiyon	Artrit, osteomyelit, menenjit, endokardit, perikardit, akciğer apsesi, piyomyozit vs.
Santral sinir sistemi enfeksiyonları	Beyin apsesi, Menenjit, Epidural apse
Pulmoner enfeksiyonlar	Nozokomiyal pnömoniler Ampiyem
Kas-iskelet sistemi enfeksiyonları	Artirit Osteomyelit Piyomyozit Prostatik materyal enfeksiyonları
Genito-üriner sistem enfeksiyonları	Üst üriner sistem enfeksiyonları Alt üriner sistem enfeksiyonları
Toksinle ilişkili hastalıklar	Besin zehirlenmesi Toksik şok sendromu Soyulmuş deri sendromu
Üriner sistem enfeksiyonları	Renal kortikal apse
Yabancı cisim enfeksiyonları	İntravenöz kateter Üriner kateter Periton diyaliz kateteri Santral sinir sistemi santları Prostatik kalp kapakları Kalp pili, elektrod ve telleri



### 2.1.6.1. Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

İnsanlarda en çok görülen enfeksiyon tipidir. Follikülit; kıl follikülü kanallarının tıkanması ile karakterize küçük, kızamık ve ağrılı bir lezyondur. Kendini sınırlayarak sistemik belirti vermez.<sup>52</sup>

**Follikülit:** Kıl follikülleri ve çevresi ile sınırlıdır. Sistemik semptomlar bulunmaz.

**Fronkül:** Kıl follikülünün sınırlarını aşan, özellikle yüz, boyun aksilla ve kalçalarda ağrılı, 1-2 cm çapında nodüler yapıdadır.

**Karbonkül:** Birçok kıl follikülünün bir anda tutan, özellikle boyunda deri altı dokuda ilerleyen büyük lezyonlardır.

**İmpetigo:** Özellikle çocuklarda görülen yüzeysel deri enfeksiyonlarıdır. Derinin yüzeysel tabakalarında kabuklu püstüllerin oluşumu ile karakterizedir.

**Mastit:** Emziren annelerin %1-3'ünde doğum sonrası ikinci ve üçüncü haftalarda görülür.

**Hidradenitis süpurativa:** Aksilla, perine ve genital bölgelerde görülen, ter bezlerinin piyojenik enfeksiyonudur. Lezyonlar fronkül benzeri gruplar halinde görülür. Birden fazla drenaj açıklığı olabilir. İyileştiğinde skar bırakır.<sup>79</sup>

**Selülit:** Deri ve deri altı bağ dokusunun enfeksiyonudur. Portakal kabuğu görünümü tipiktir.

**Yara enfeksiyonları:** Cerrahi yara enfeksiyonları, ikinci günde veya daha sonra ödem, eritem ve ağrı ile ortaya çıkar. Ateş sıklıkla görülür.<sup>57, 63</sup>

### 2.1.6.2. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Enfeksiyonlar

**Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu:** 1878 yılında tanımlanan sendrom Ritter hastalığı olarak da bilinir ve daha çok yeni doğanda ve infantlarda görülür. 1956 yılında erişkinde toksik epidermal nekroliz tanımlanmıştır. Geniş bir klinik spektrumu vardır ve en sık rastlanan klinik şekli büllöz impetigodur. Büllöz impetigoda toksin

oluşturan *S.aureus* izolatları ( faj tip 71 gibi) süperfisiyal deri kabarcıklarının oluşumu ile ilgilidir.<sup>67, 79, 88</sup>

**Toksik Şok Sendromu:** *S. aureus*'un toksin salgılayan izolatlarıyla kolonizasyon veya enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan *S. aureus*'un TSST (ekzotoksin) bağlı olarak meydana gelen, generalize eritem, diyare, yüksek ateş, hipotansiyon ve birçok sistemde fonksiyon bozukluğu ortaya çıkaran akut bir enfeksiyondur. Hastaların %85-90'nı menstrüasyonda tampon kullanan kadınlardır.<sup>95</sup>

Stafilokoklarla ortaya çıkan cerrahi yaralar, sellülit, apse, lenfadenit, sinüzit, trakeit, pnömoni, ampiyem, artirit ve osteomyelit gibi klinik tabloların hepsiyle beraber toksik şok sendromu görülebileceği bildirilmiştir.<sup>94</sup> Toksik şok sendromuna yol açan izolatların %50'si toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) üretir, diğer %50'si enterotoksin B ve C üretirler.<sup>96</sup>

**Stafilokokal Besin Zehirlenmesi:** Dünya çapında en sık görülen bakteriyel besin zehirlenmelerine stafilokoklar sebep olur. Genellikle salgınlar şeklinde görülür, ısıya dirençli stafilokokal enterotoksinlerin bulunduğu besinlerin alınması ile ortaya çıkar. Klinik tablodan, en sık enterotoksin A ve D sorumludur. Stafilokokal enterotoksinler bağırsaktan sıvı kaybına neden olduğu gibi, süperantijen olarak da etkilidirler. Enfekte besin maddesinin kokusunda ve tadında değişiklik yoktur. Sıvı kaybına bağlı olarak dehidratasyon ve hipotansiyon görülür. Hastalık 8-2 saat içinde kendiliğinden iyileşir. Hastalığa sebep olan suş genellikle gıdayı hazırlayan kişiden izole edilebilir, *S. aureus* izolatlarının %50'sinden fazlası enterotoksin oluşturur. Bu suşlar özellikle burun ve ellerinde *S. aureus* taşıyıcısı olan gıda üretiminde çalışan kişilerdir.<sup>68, 94, 96, 97</sup>

### 2.1.6.3. Bakteriyemi

Toplum kökenli stafilokokal enfeksiyonlar genel olarak sellülit, osteomyelit ve pnömoni gibi bir odaktan ortaya çıkarken hastane kökenli stafilokokal enfeksiyonlar ise

daha çok IV kateterlerden kaynaklanmaktadır. İntravenöz ilaç kullananlardaki bakteriyemilerde toplumdan kazanılmış olmasına rağmen MRSA sıklığı hastane kaynaklı stafilokok bakteriyemileri gibi yüksektir. Stafilokokal bakteriyemilerin %86'sı nozokomiyal kökenlidir.<sup>96</sup>

Uzun süreli hastanede yatış öyküsü *S.aureus*'a bağlı bakteriyemi olasılığını artırmaktadır. Toplum kökenli bakteriyemiler ise hastaneye yatışta var olan ya da ilk 24-72 saat içerisinde başlayan bakteriyemileri ifade eder. Hem toplum hem de hastane kökenli bakteriyemiler uygun antibiyotik tedavisine rağmen yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederek. Güney Afrika'da %26'sı diyabetik olan hastalar ile yapılan çalışmada; mortalite oranı %35 olarak tespit edilerek akut böbrek yetmezliği, solunumsal distres, şok, endokardit ve düşük trombosit seviyeleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.<sup>98</sup>

#### **2.1.6.4. Endokardit**

Uluslararası Endokardit Çalışma Grubu'nun oluşturduğu veri tabanında *S. aureus* dünya genelinde endokarditlerin bir numaralı nedeni olan streptokokların yerini almıştır. *S. aureus*'un neden olduğu endokarditlerde iki ayrı grup vardır.

**Birinci grup;** yaşlı ve altta yatan hastalığı olan, sol kalp endokarditi gelişen olgular olup %20-30 oranında mortalite söz konusudur. Olguların yarısında sağ kalp yetersizliği, yarısında ise santral sinir sistemi belirtileri oluşur. Olguların %40-50'sinde enfekte cilt lezyonları veya intravenöz kateter etkenin giriş kaynağını oluşturur. Olgularda kalbin sol tarafında oluşan *S. aureus*'a ikincil infektif endokardit genellikle akut seyirlidir ve sepsis bulguları eşlik eder. *S. aureus* önceden normal olan kalp kapaklarında da bu tabloyu oluşturabilir ve 1-2 haftada ateş, halsizlik ve yorgunluk gibi subakut semptomlar oluşturur. Olguların dörtte üçünde histolojik veya ekokardiyografik olarak kanıtlanan daha önceden hasarlı ve anormal kapak lezyonları söz konusudur. Giderek artan oranda hastanede gelişen bakteremi sonucunda da endokardit gelişir ve bu

olgularda saptanan *S. aureus*'larda ki metisilin direncinin yüksek oranlarda olduğu bildirilmektedir.<sup>99</sup>

**İkinci grup;** bu olgular intravenöz ilaç kullanımına ikincil gelişen *S. aureus*'un neden olduğu infektif olgulardır. Bu olgular genç yaşta ve sağlıklı olgulardır. Genellikle daha önceden bilinen herhangi bir kapak sorunu bulunmamaktadır ve olguların %80-90'ında triküspit kapakta endokardit gelişir. Başlangıçta major semptom septik pulmoner emboli ile ilgilidir. Akciğer grafisinde tipik olarak çeşitli loblarda multiple nodüler infiltrasyon oluşur ve sıklıkla kaviteleşme veya daha az sıklıkla pnömosel gelişimi söz konusudur. Olguların çoğunda pür sağ kalp endokarditi gelişir. Ancak olguların yarısında triküspit yetersizliği üfürümü duyulabilir. Bu olgularda mortalite hızı %1-2 oranındadır. İntravenöz madde kullanımı durumunda endokardit riski devam eder.<sup>99-101</sup>

#### **2.1.6.5. Menenjit**

Lokal enfeksiyonlardan komşuluk yoluyla ya da sepsis ve endokardit sonrası hematojen yolla ortaya çıkar. Toplumdan kazanılmış menenjitlerin %2.4'ü *S. aureus*'a bağlıdır, ancak mortalitesi %43'tür. Olguların %57'de endokardit vardır.<sup>96</sup>

#### **2.1.6.6. Pnömoni ve Ampiyem**

Sağlıklı, hastane dışındaki bireylerde toplum kaynaklı pnömonide *S. aureus* sık beklenen bir etken değildir ve %10'dan daha az sıklıkla saptanır. Ancak influenza sonrasında sıklığın giderek arttığı bilinmektedir. *S. aureus*'a sekonder toplum kaynaklı pnömoninin akciğer grafisinde pnömatosele benzeyen ince kenarlı kist ve apse görüntüsü saptanır. Nekrotizan pnömoni, çoğunluğunu çocukların oluşturduğu toplumdan kazanılmış MRSA ile enfekte küçük bir hasta grubunda görülmektedir. PVL bu türlerdeki virülansın gösterilmesinde kullanılan önemli bir göstergedir.

Toplum kaynaklı pnömoninin aksine, özellikle mekanik ventilatöre bağlı hastalarda hastane kaynaklı pnömonide en sık saptanan etkidir. Entübe hastaların

kontaminasyonunu minimale indiren teknikler ile alınan örneklerde hastaların üçte birinde üst solunum yolunun *S. aureus* ile kolonize olduğu görülür. Ventilatöre bağlı hastalarda gelişen pnömonide mortalite oranı yüksektir ve hastaların dörtte biri ile %25-50'sinde pnömoni nedeniyle ölüm riski bulunmaktadır. *S. aureus* veya diğer hastane kaynaklı etkenler ile oluşan pnömonileri radyolojik olarak ayırmak kolay değildir. *S. aureus* bakteremisi hastane kaynaklı pnömoni oluşumunda tek faktör değildir.

Sağ kalpte yerleşen *S. aureus* infektif endokarditi ile septik emboli ve sonrasında pnömoni oluşabilir. Bu olgularda *S. aureus* bakteremisi saptanır ve akciğerlerde birden çok lob etkilenerek göğüs ağrısı ve hemoptizi tabloya katılır. Erişkinlerde ampiyem kültüründe %15 sıklığında *S. aureus* üretilir. 1980'lerin ortalarından bu yana *S. aureus*'a ikincil ampiyem sıklığında azalma olmasına rağmen hala hastane kaynaklı ampiyemde en sık nedeni oluşturmaktadır.<sup>99, 102</sup>

#### **2.1.6.7. Kemik/Eklemler Enfeksiyonları**

Osteomyelit, septik artrit ve bursite neden olur. Akut osteomyelitlerin en sık rastlanılan nedenidir ve en sık 12 yaş altı çocuklarda görülür. Erişkinlerde hematogen yayılım sonucu vertebral osteomyelit sık görülür. Her yaş grubunda görülen septik artritlerin en sık sebebi *S. aureus*'tur. Septik bursitlerin ise yaklaşık % 90'ından sorumludur ve sıklıkla diz ve dirsek eklemlerini tutar.<sup>79</sup>

#### **2.1.6.8. Üriner Enfeksiyonlar**

*S. aureus* iki yolla üriner sistem enfeksiyonlarına neden olur; birincisinde bakteriyemi esnasında renal kortekse yerleşerek, renal kortikal apse veya karbonküle yol açar, ikincisinde ise kalıcı üriner kateteri olanlarda enfeksiyona yol açabilir.<sup>94</sup>

#### **2.1.7. Antibiyotik Direnci**

*S. aureus* tarihindeki en önemli ve en çarpıcı özelliklerden biri de hiç şüphesiz antibiyotiklere karşı geliştirdiği dirençtir. İlk üretilen antibiyotik olan penisilin ile

başlayan bu süreç daha sonraları yarı sentetik penisilinlerden olan metisilin direnci ile çoklu antibiyotik direncine neden olmuştur. Nihayet günümüzde metisilin dirençli *S. aureus* izolatlarında (MRSA) yaygın kullanılan glikopeptidlere direnç aşamasına ulaşmış ve vankomisin intermediate *S. aureus* (VISA) ile vankomisin resistant *S. aureus* (VRSA) izolatlarına rastlanmıştır.<sup>85</sup>

### 2.1.7.1. Beta Laktam Direnci

Penisilin kullanılmaya başlanmasından sonra az sayıda görülen penisilin direnci, maalesef artık insanlardan izole edilen *S. aureus* izolatlarının %95'inden fazlasında tespit edilmektedir.<sup>96</sup> Bu direnç mekanizması penisilin peptidoglikan sentezi aşamasında kullanılan enzimlere bağlanarak etki göstermesi özelliğine dayanır. Bakterideki hücre duvarı yapısının en önemli bileşeni olan peptidoglikan sentezi aşamasında gerçekleşen transpeptidasyon reaksiyonu penisilin bağlayan proteinler (PBP) tarafından gerçekleştirilir. PBP'lerin biri çapraz köprülerin yapımında rol alan transpeptidasyonda, diğeri glikan zincirinin uzamasını sağlayan transglikozilasyonda rol oynayan iki farklı protein domaini içermektedir. Penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotikler, peptidoglikan üretiminde kullanılan kök peptidin terminalindeki D-alanil-D-alanin ucunun analogudur. Bu özellikler dolayısıyla transpeptidazların aktif bölgesine bağlanmak için kök peptidlerle yarış halinde PBP'lerin transpeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitesini inhibe ederek, çapraz olarak bağlanmayı engellerler.<sup>103-105</sup> *S. aureus* kökenlerindeki ilk penisilin direnci 1944'te bildirilmiştir. Bu direnç bir beta laktamaz olan penisilinaz enzimi üretimi ile oluşmuştur. Penisilinaz enzimi plazmid kaynaklıdır ve indüklenebilir bir gen olan *bla* tarafından kodlanarak penisilini inaktif bir bileşiğe parçalayıp etkisiz kılmaktadır. *Bla* genine ait iki komponenti vardır, bunlar; *blaR1* ve *blaI* olarak bilinmektedir. Bunlardan *blaR1* hücre yüzey reseptörlerini kodlar ve penisilin varlığında bu reseptör aktifleşerek gendeki *blaI* reseptörünü uyarır ve penisilinaz salgılanmasını sağlar.<sup>69, 104, 106</sup>

Bir beta laktamaz olan penisilinaz sentezleyen *S. aureus* izolatlarına karşı 1960’larda geliştirilen yarı sentetik penisilinler (metisilin, nafsilin, oksasilin) penisilinaza dayanıklıydı ve başlangıçta penisilinaz üreten izolatlara karşı oldukça etkili oldukları görüldü. Ancak bu antibiyotiklerin kullanıma girmelerinden çok kısa bir süre sonra da “Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) olarak adlandırılacak izolatlar ortaya çıkmaya başladı. MRSA olarak adlandırılan bu bakterilerin metisiline duyarlı izolatlarda bulunmayan başka bir tür PBP ürettiği görüldü. PBP2a olarak adlandırılan bu enzim stafilokokların hücre duvarı sentezinde kullanılan PBP’in yapısından çok daha farklı bir morfolojide olup karbepenemler ve sefalosporinler de dahil tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı oldukça düşük bir afiniteye sahiptir. PBP2a kodlayan gen MRSA ya da MRSE kromozomuna entegre olan ve günümüzde A’dan E’ye kadar beş farklı kompleks şekilde tanımlanan *mec* genidir. *mec* geni bakteri kromozomundaki 15-60 kb büyüklüğünde staphylococcal cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) adlı mobil genin bir parçasıdır. Günümüzde *SCCmec* geninin sekiz tipi olduğu bilinmektedir. Bunlardan SCC tip 1,2,3 HK- MRSA izolatlarında görülürken SCC tip 4, tip 5 bazen de tip 7 TK-MRSA izolatlarında rastlanmaktadır.<sup>107</sup> *SCCmec* mobil gen bölgesinde PBP2a sentezinden sorumlu *mec* geni ile birlikte *ccrA*, *ccrB* ve *ccrC* genleri de bulunmaktadır.<sup>107, 108</sup> *ccrA*, *ccrB* ve *ccrC* rekombinaz özelliği taşıyarak *SCCmec* gen bölgesine mobilizasyon kazandırmakta böylece bu gen bölgesinin kromozoma entegrasyonuna ya da kromozomdan ayrılmasına olanak sağlamaktadır.<sup>85</sup>

PBP2a’nın ekspresyonu, penisilinaz geninin (*bla*), *blaRI* ve *blaI* düzenleyicilerinin homoloğu olan *mecRI* ve *mecI* determinantları aracılığıyla gerçekleşmektedir. *mecRI* determinanti, hücre yüzeyine bağlı sinyal transdüksiyon proteini olarak bilinen *mecR1*’i kodlarken, diğer taraftan *mecI* ise *mecA*’yı baskılayan bir protein olan *mecI* adlı gen represörünü kodlamaktadır. Beta-laktamaz sentezinin aksine

metisilin direncinde PBP2a'nın sentezi için gereken indüksiyon daha zayıftır ve daha yavaş gerçekleşmektedir. Bu süreler beta-laktam için 5 dakika iken, PBP2a için 48 saat gibi uzun bir zamanda sentezlenmektedir. Bunun sebebi ise, *mecI* adlı gen reseptörünün *mecA* geni için güçlü bir düzenleyici olmasının yanı sıra birçok beta-laktam antibiyotik için de membrandaki *mecR1* reseptörünü etkili bir biçimde harekete geçirememeleridir. Bu durum *mecA* geni taşımaya rağmen *S. aureus* izolatlarının bazılarının metisiline duyarlı olmasına neden olur.<sup>108, 109</sup> MRSA izolatlarının beta laktamlar dışında eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim/sulfametoksazol (TMP/SMX), kinolonlar ve aminoglikozidlere de direnç gösterdiği saptanmıştır.<sup>69, 110</sup>

#### **2.1.7.2. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç**

Kinolon grubu antibiyotiklerde ortaya çıkan direnç gelişimi başka antibiyotiklerde görüldüğü gibi doğal veya kazanılmış olabilmektedir. Ayrıca bakteriler tarafından sentezlenen efflux pompaları görülebilmektedir. Bakterilerde kromozomal mutasyonlar ile kazanılmış kinolon direnci meydana gelmektedir. Bu mutasyonların sonucu olarak ya kinolonların hedef enzimleri olan DNA giraz ve topoizomerez IV'ün alt ünitelerinde değişim ortaya çıkmakta veya kinolonları substrat olarak kullanan çoklu ilaç geri atım pompaları aktive olmaktadır. Kinolon direncinin en sık ve en temel mekanizmaları hala bu tip kromozomal mutasyonlardır. Bunun yanı sıra porin sayısının düşürülmesi ile hücre içine alımın azaltılması kinolon direncini olumlu yönde etkilemektedir. Nalidiksik asitin antimikrobiyal etkisi büyük oranda DNA giraz tarafından gerçekleştirilirken, yeni kinolon türevi olan florokinonlara direnç hem DNA giraz hem de topoizomerez IV subunit A ve subunit B'nin kodladığı genlerdeki bir dizi mutasyon sonucu gerçekleşmektedir.<sup>111-113</sup>

#### **2.1.8. Metisilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

1961 yılında ilk olarak İngiltere'de Colindale Hastanesi'nde izole edilen MRSA



daha sonraları tüm dünyada Hastane Kaynaklı (HK) olarak tanımlanmış ve 1990'lardan sonra Toplum Kaynaklı (TK) olarak da izole edilmeye başlanmıştır.<sup>4, 114</sup> Günümüzde özellikle ABD'de HK-MRSA ile TK-MRSA sıklığı birbirine yakın oranlarda seyretmekte ve TK-MRSA ile HK-MRSA ayrımı yapmak giderek zorlaşmaktadır. Yapılan çalışmalar TK-MRSA ile HK-MRSA izolatları arasında epidemiyolojik, genotipik, fenotipik ve antimikrobiyal direnç açısından fark olduğunu ortaya koymuştur.<sup>114, 115</sup>

TK-MRSA enfeksiyonları son bir ay içinde evde, rehabilitasyon merkezinde ya da hastanede intravenöz tedavi ya da sağlık hizmeti almamış; üç ay içinde iki ya da üç günden fazla hastanede yatmamış; rehabilitasyon merkezi veya bakım evlerinde kalmayanlarda görülen enfeksiyonlar şeklinde tanımlanabilir.<sup>4, 114, 115</sup>

İlk TK-MRSA izolatı Batı Avustralya'da yaşayan ve daha önce herhangi bir sağlık bakım hizmeti almayan Avustralyalı hastalardan izole edildiği bildirilmiştir. TK-MRSA olarak isimlendirilen bu yeni MRSA izolatları 1993 yılından itibaren gittikçe artan oranlarda görülmeye başlanmış ve günümüzde sık görülen ve ciddi bir problem haline gelmiştir.<sup>115, 116</sup>

Metisilin ve diğer  $\beta$ -laktamaz dirençli penisilinlerin, penisiline dirençli *S.aureus*'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanıma girmesiyle başlangıçta başarı sağlanmış olsa da, kısa bir süre sonra MRSA kökenleri görülmeye başlanmıştır.<sup>117</sup> <sup>118</sup> MRSA özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların başta gelen etkenlerinden olmakla birlikte, son yıllarda toplum kökenli enfeksiyonlarda da giderek önem kazanmaktadır.<sup>119</sup>

MRSA'da, metisiline duyarlı *S. aureus*'ta (MSSA) bulunmayan ve *SCCmec* olarak adlandırılan ve kromozomla bütünleşebilen, mobil bir ekzojen DNA parçası bulunmaktadır. *ccrA*, *ccrB* ve *mecA* genleri *SCCmec*'te bulunan en önemli genlerdir. *ccrA* ve *ccrB*'nin kodladığı rekombinaz proteinler, *mecA* genini kromozomla bütünleştirebilir ya da kromozamdan çıkarabilirler. *mecA* geni, metisilin ile diğer beta laktam

antibiyotiklerin büyük bir kısmına düşük afinite gösteren PBP2a'yı kodlar. PBP-2a hücre membranına bağlıdır ve transpeptidasyon reaksiyonunu katalize eden bir enzimdir. Stafilokokal PBP'ler  $\beta$ -laktamaza dayanıklı beta laktam antibiyotikler ile inhibe olsa da, PBP-2a'nın transpeptidaz aktivitesi sayesinde hücre duvarı sentezi devam etmektedir. PBP-2a MRSA'nın tüm beta-laktamlara direncinden sorumludur.<sup>118, 120, 121</sup>

Mobil stafilokok gen kaseti *SCCmecA* sayesinde *S.aureus*'da metisilin direnci gelişmektedir. *ccrA*, *ccrB* ve *mecA* komplekslerinin yapısına göre *SCCmec* beş tipe ayrılmaktadır. *SCCmec* tip I,II ve III genellikle HK-MRSA kökenlerinde, *SCCmec* tip IV ve V ise TK- MRSA kökenlerinde bulunur. Bunlara ek olarak, TK-MRSA kökenlerinde bakteri virülansında etkili bir toksin olan "Panton-Valentine leukocidin (PVL)" genini de kodlamaktadır.<sup>122, 123</sup>

Evde intravenöz (IV) tedavi veya son bir ay içinde sağlık hizmeti alanlarda, son bir aydır hastane ya da rehabilitasyon merkezinde IV kemoterapiye başlayanlarda, üç ay içinde iki ya da üç gün hastanede yatanlarda, rehabilitasyon merkezi veya bakım evlerinde kalanlarda görülen enfeksiyonlar ve hastaneye yattıktan 48 saat veya daha sonra gelişen enfeksiyonlar "Hastane kaynaklı enfeksiyonu (Hospital acquired-associated-HA)" olarak adlandırılır. Bu faktörlerden hiçbiri olmaksızın enfeksiyon görülürse "Toplum kaynaklı enfeksiyon (Community acquired-CA)" olarak adlandırılır. MRSA'ların neden olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonlar "HK-MRSA" toplum kaynaklı enfeksiyonlar ise "TK-MRSA" olarak adlandırılır.<sup>63, 116, 123</sup>

TK-MRSA ve HK-MRSA izolatları direnç profili, genotipik ve fenotipik özellikleri açısından farklılık gösterir. HK-MRSA çoklu ilaç direnci gösterir. Bu izolatlar beta laktam antibiyotiklerin yanı sıra makrolidler, linkozamidler, tetrasiklinler, kinolonlar, TMP/SMX ve aminoglikozidlere de dirençlidir. TK-MRSA izolatları ise klindamisin, TMP/SMX, tetrasiklin ve florokinolon grubu antibiyotiklere genellikle

duyarlıdır. TK-MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonlar HK-MRSA enfeksiyonları ile benzerdir. Ancak TK-MRSA bağlı olarak gelişen enfeksiyonlar genelde deri ve deriyle ilişkili yapılar ile ilgili olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle kronik osteomyelit, nekrotizan pnömoni ve ampiyemli olgularda TK-MRSA önemli bir etkidir.<sup>122</sup>

### 2.1.8.1. MRSA Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Özellikle TK-MRSA izolatları için folik asit sentezini bozup bakterisidal aktivite gösteren TMP-SMX ile birlikte bakteri 30S ribozom alt birimine bağlanıp tRNA-mRNA arasında kodon-antikodon etkileşiminin bozan tetrasiklin ve DNA giraz enzimini inhibe edip DNA replikasyonunu bozan florokinolonlar tedavi amaçlı kullanılabilir.<sup>124</sup> Ayrıca PVL dahil çeşitli MRSA virülans faktörlerini ve ekzotoksin üretimini baskılayan klindamisin de HK-MRSA için yüksek direnç profilleri nedeniyle tercih edilmemekle birlikte TK-MRSA enfeksiyonlarında kullanılabilir.<sup>50, 125</sup>

Ancak özellikle HK-MRSA kökenlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi direnç açısından son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli sorunlar ortaya çıkarmaktadır.<sup>126</sup> Bu tür enfeksiyonların tedavisi için kullanılmakta olan başlıca antibiyotikler şunlardır;

**Vankomisin:** İlk kez 1997 yılında Japonya'dan vankomisine orta düzeyli dirençli *S. aureus* izolatı ("vancomycin intermediate resistant *S. aureus* [VISA]") (MİK=8 µg/mL) bildirilmiştir. VISA'da direnç mekanizması bakteriyel hücre duvarında kalınlaşma ve irregüler yapıdır. Sonuçta vankomisin hücre duvarının dış yüzeyinde yakalanamaz ve sitoplazmik membrandaki asıl hedefine ulaşamaz. Vankomisine dirençli ilk *S. aureus* ("vancomycin resistant *S. aureus* [VRSA]") (MİK=64 µg/mL) izolatı 2002 yılında ABD'den bildirilmiş ve sonrasında farklı merkezlerden VRSA izolatları rapor edilmeye başlanmıştır.<sup>127</sup> VRSA izolatlarında direnç mekanizması VISA'dan farklıdır. Direnç *Enterococcus faecalis* 'teki *vanA* operonunun konjugal yolla *S. aureus* 'a transferi sonucu

gelişmektedir. Diğer mekanizma ise peptidoglikan biyosentezindeki değişikliktir.<sup>127</sup>

**Linezolid:** Oksazolidinon grubunun ilk ilacıdır. Protein sentezini inhibe ederek etkisini bakteriyostatik veya bakterisidal olarak gösterir. Metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA), çoklu ilaç direnci gösteren *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus agalactiae* gibi birçok Gram pozitif mikroorganizmaya karşı etkindir. Linezolid etki mekanizmasının özgüllüğünden dolayı MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilir. Yüksek biyoyararlanımı, uzun süreli tedavi gerektiren enfeksiyonlarda linezolidi uygun bir alternatif haline getirmiştir.<sup>128, 129</sup>

FDA tarafından 2000 yılında diyabetik ayak enfeksiyonlarının da dahil olduğu komplike Cilt ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları (CYDE), TK ve HK pnömonilerde, VRE etkenli bakteriyemilerin de dahil olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır.<sup>118, 130</sup> Bununla birlikte *Nocardia* ve *Mycobacterium* türlerine karşı da etkinliği bildirilmiştir.<sup>131, 132</sup> Biyoyararlanımının yüksek olması ve hem oral hem de intravenöz kullanımının mümkün olması uzun süreli tedavi gerektiren enfeksiyonlar için linezolidi uygun bir alternatif kılmaktadır. Linezolidin en sık yan etkileri ishal, bulantı ve baş ağrısı olmakla birlikte *Clostridium difficile* artışına bağlı olarak psödomembranöz enterokolit, kemik iliğinin baskılanması (anemi, lökopeni ve trombositopeni) laktik asidoz, periferik nöropati, optik nöropati bildirilen diğer yan etkilerdir.<sup>133</sup>

**Daptomisin:** Siklik lipopeptid olarak adlandırılan bir grubun ilk örneğidir. Konsantrasyona bağlı bakterisidal etki gösterir. Gram pozitif bakterilerin stoplazmik membranına bağlanan ilaç hücre içerisine potasyum girmesini, membranın depolarizasyonunu, makromoleküler sentezin disfonksiyonunu ve parçalanma olmadan organizmanın kollapsını sağlar. Bu mekanizma; konsantrasyon, serbest kalsiyum bağımlı, hızlı ve özgün bir mekanizmadır.<sup>134</sup> Daptomisin mikrobiyolojiyi parçalamadan yok etmesi avantajıdır. İn-vitro öldürme zamanlarına bakıldığında vankomisin, linezolid ve

kinupristin/dalfopristinden üstün bulunmuştur.<sup>135</sup>

**Tigesiklin:** Geniş etki spektrumu olan minosiklin türevi sentetik bir antibiyotiktir. Tetrasikline benzerlik gösteren tigesiklin 30S ribozomal alt üniteye bağlanarak, protein sentezini engeller. Tüm hayvan çalışmalarında dokulara dağılımının iyi olduğu gösterilmiştir. Özellikle deri-yumuşak doku ve karın içi enfeksiyonlarda etkilidir. Direnç gelişim potansiyelinin düşük olması ve geniş etki spektrumu çoklu direnç gösteren mikroorganizmalarla ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde tigesiklini ön sıralara taşımaktadır.<sup>118, 128</sup>

**Kinupristin-dalfopristin:** Semisentetik streptogramin türevleridir. Difüzyon yoluyla bakteri hücrelerine girip, bakteriyel protein sentezini geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler. İki ajanın sinerjik etkisi protein sentezinin hem erken hem de geç fazlarını durdurur. MRSA'ya karşı bakterisidal etkilidir.<sup>118</sup> Makrolid ve linkozamidlerle bağlanma bölgelerinin yakın olması ve etki mekanizmalarının benzerliği nedeniyle Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLSB) direnci gelişme olasılığı yüksektir. Yan etki profili nedeniyle de MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak tercih edilmezler.<sup>118, 136</sup>

**Oritavansin, dalbavansin ve telavansin:** Semisentetik glikopeptidlerdir. Hücre duvarı biyosentezini inhibe ederek bakterisidal aktivite gösterirler. Oritavansin, vankomisin benzeri etki spektrumu gösterir ancak bakterisidal etkinliği vankomisine göre daha hızlıdır. Komplike cilt enfeksiyonlarının dahil edildiği bir çalışmada, oritavansin vankomisin ve sefalaksin kadar etkin bulunmuştur.<sup>137</sup> *S.aureus*'a bağlı bakteremide 10-14 gün 5-10 mg/kg dozunda vankomisin kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Telavansinin *S.pneumoniae* ve stafilokoklara karşı lipid sentezinin bozulması ve membran hasarı yoluyla etki ettiği bilinmektedir. Hayvan modellerinde etkili olduğu gibi sağlıklı gönüllülerde de dokuya geçişi yüksektir. Dalbavansin de farmakokinetik profili açısından

Gram pozitif enfeksiyonların tedavisinde haftalık 14 uygulamayı mümkün kılmaktadır. Komplike cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarında linezolid kadar etkin olduğu düşünülmektedir. Her üç antibiyotikle ilgili klinik çalışmalar devam etmektedir.<sup>118, 124, 137</sup>

**Seftabiprol, seftarolin:** Geniş spektrumlu beta laktamaz dirençli parenteral bir sefalosporindir.<sup>138</sup> Penisilin bağlayan protein PBP-2a'ya karşı yüksek afinite göstermektedir. Dirençten sorumlu olan bu proteinlere bağlanması seftobiprolü önemli hale getirmektedir. MRSA'nın da içinde bulunduğu Gram pozitif koklara, ayrıca Gram pozitif ve Gram negatif pek çok organizmaya karşı etkili olan bu ajan, hayvan modellerindeki etkinliğiyle klinik enfeksiyonlarda da umut verici bir tablo çizmektedir. Geniş spektrumu nedeniyle monoterapi olarak kullanılabilen seftobiprol ile yapılan klinik çalışmalar devam etmektedir.<sup>137, 138</sup>

### 2.1.9. Florokinolonlar

Kinolonlar 1962 yılında antimalaryal bir bileşik olan klorokinin sentezi sırasında bir yan ürün olan nalidiksik asidin bulunmasıyla kullanıma girmişlerdir.<sup>111, 139</sup> Daha sonra nalidiksik asidin dar spektrumlu olması, düşük serum düzeyi ve doku toksisitesi nedeniyle kullanımını sınırlı kalmış, ancak *Shigella* ve *E. coli*'nin o dönemlerde kullanılan diğer antibiyotiklere direnç geliştirmesi nedeniyle 1980'li yıllarda diyare ve üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi için yeniden ele alınmıştır.<sup>139</sup> 1980'lerde kinolon çekirdeğine flor atomu eklenerek etki spektrumu geniş florokinolonlar sentezlenmiş ve böylece kinolonlar Üst Solunum Yolu Enfeksiyonları (ÜSYE) dışında da kullanılmaya başlanarak güçlü antibakteriyel aktiviteleri ve olumlu farmakolojik özellikleriyle klinik anlamda büyük önem kazanmışlardır.<sup>140</sup>

Florokinolonlar özellikle gram negatif bakterilere etkin geniş spektrumlu antibakteriyel ajanlardır. Florokinolonlar tip 2 topoizomeras olan bakteriyel DNA giraz enzimini inhibe ederek bakteriyel hücre replikasyonunu inhibe ederler.<sup>141, 142</sup> DNA giraz

topoizomeraz olarak bilinen bir grup enzime bağlanır ki bu enzimler DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve rekombinasyonunda kritik rol oynarlar.<sup>142</sup> Orijinal florokinolon ajanlar 1980'ler sonrasında üretilmiştir. İlk kinolonlar oral olarak kullanılabilen, gram negatif mikroorganizmalara özellikle *pseudomonas* türlerine karşı etkili olan ajanlar olduklarından yaygın olarak kullanılmıştır.<sup>141</sup>

Levofloksasin ve sparfloksasin 1996'da, grepafloksasin ve trovafloksasin 1997'de, gatifloksasin ve moksifloksasin 2000 yılında üretilmiştir. Siprofloksasine göre bu 6 yeni florokinolonun gram pozitif etkinliği daha fazladır. Özellikle *Streptococcus pnömonia*'ya karşı etkindirler. Levofloksasin *S. pnömonia*, *S.aureus*, enterokok türleri, mikoplazma ve klamidyaya karşı aktivite gösterir. Trovafloksasin, *bakteriodes* türleride geçerli olmak kaydıyla anaeroplara karşı en potent aktiviteye sahiptir.<sup>143</sup>

Birinci jenerasyon ilaçlar ( örneğin nalidiksik asit ) minimal kan seviyelerine ulaşabilirler. İkinci jenerasyon kinolonlar ( örneğin siprofloksasin ) artmış gram negatif ve sistemik aktiviteye sahiptir. Üçüncü jenerasyon ilaçların (örneğin levofloksasin) atipik patojen ve gram pozitif etkinliği daha fazladır. Dördüncü jenerasyon kinolonlar ise (örneğin trovafloksasin) üçüncü kuşaklara ek olarak anaerob aktivite gösterirler. (Tablo 2.5).<sup>143</sup>

**Tablo 2.5.** Florokinolon grubu antibiyotiklerin sınıflandırılması

Sınıflandırma	Ajanlar	Antimikrobiyal Spektrum
Birinci Jenerasyon	Nalidixic acid (NegGram) Cinoxacin (Cinobac)	Gram-negatif organizmalar (Pseudomonas species hariç)
İkinci Jenerasyon	Norfloxacin (Noroxin)	Gram-negatif organizmalar (Pseudomonas species dahil), bazı gram- pozitif organizmalar

**Tablo 2.5.** (Devamı)

	Lomefloxacin (Maxaquin) Enoxacin (Penetrex) Ofloxacin (Floxin) Ciprofloxacin (Cipro)	( <i>Staphylococcus aureus</i> dahil fakat <i>Streptococcus pneumoniae</i> hariç) ve bazı atipik patojenler.
Üçüncü Jenerasyon	Levofloxacin (Levaquin) Sparfloxacin (Zagam) Gatifloxacin (Tequin) Moxifloxacin (Avelox)	İkinci Jenerasyon Ajanlarla aynı + genişlemiş grampozitif etki (Penisiline duyarlı ve dirençli <i>S. pneumoniae</i> ) ve atipik patojenlere karşı artmış etki.
Dördüncü Jenerasyon	Trovafloxacin (Trovan)	Üçüncü Jenerasyon Ajanlarla aynı + anaerobik etki.

## 2.2. Siprofloksasin

Sentetik bir florokinolon derivesidir ve bakterisid bir etkiye sahiptir. Enterobakteriler bütünüyle siprofloksasine duyarlıdır. Bakterisid etkisi çabuk olup uzun sürelidir. Direnç gelişimi nadirdir. Etki mekanizması bakteri DNA'sını süperheliks kıvrımında tutan DNA giraz enzimini inhibe etmesidir. *H. influenzae*, *K. pneumoniae* gibi diğer gram negatif patojenler de aynı derecede hassastır. Oportünistik nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.* de duyarlıdır. Siprofloksasin gram (+) patojenlere karşı da etkilidir. *S. pneumoniae* ve *S. faecalis*'e ise orta derece aktivitesi vardır. Anaerobik organizmaların çoğu duyarlı değildir. Ancak siprofloksasinin *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* ve *Mycobacterium*



*avium/intracellulare*'ye karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Aminoglikozidler, beta-laktam antibiyotikleri, tetrasiklinler ve folik asit antagonistleri ile çapraz direnç göstermez. Verilen üç günlük rejimlerde, fluorokinolonlar (siprofloksasin, fleroksasin, norfloksasin ve ofloksasin) TMP/SMX'ye eşit etkinlik gösterirler. Florokinolonların TMP ve TMP/SMX'e göre daha geniş spektrumu vardır. Bu ajanların %90'dan fazlası bakteriüriyi eradike etmektedir.<sup>144</sup>

Siprofloksasin FDA (Food and Drug Administration) tarafından 1987'de oral formülasyonu, 1991'de IV formülasyonu onaylanmış bir ikinci kuşak kinolondur. *P. aeruginosa*'ya karşı en etkili kinolondur. Üriner sistem enfeksiyonları dışında sistemik enfeksiyonların tedavisinde de kullanılabilir. İkinci kuşak florokinolonların oldukça geniş etki spektrumlarına karşın, Gram pozitiflere, özellikle *Streptococcus pneumoniae*'ye etkinlikleri sınırlıdır. Ayrıca anaerob bakterilere de etkinlikleri iyi değildir.<sup>111, 139, 145-147</sup>

### 2.2.1. Biyokimyasal Yapısı

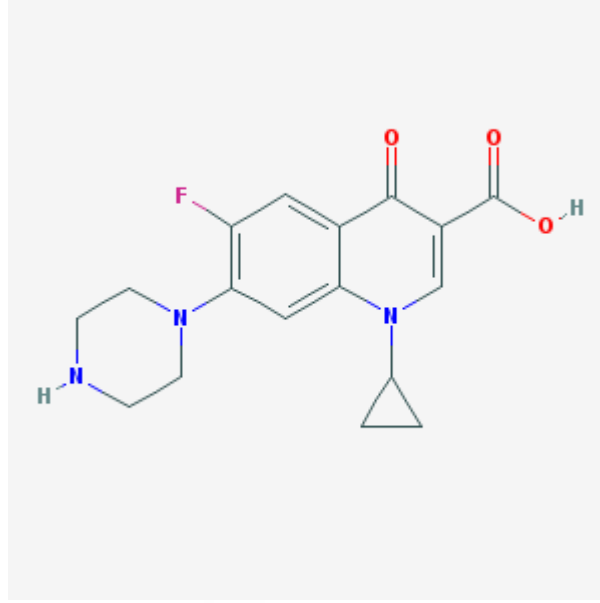
Tamamen sentetik antibiyotikler olan kinolonların temel yapısı, 1. pozisyondaki nitrojen, 3. pozisyondaki karboksil grubu ve 4. pozisyondaki karbona çift bağla bağlanmış oksijenin bulunduğu ikili halkadan oluşmaktadır.<sup>148</sup> Kinolonlar antibiyotik değildir, tamamen sentetik olarak üretilen saf kimyasal maddelerdir.<sup>149</sup>

Siprofloksasinin diğer kinolonlardan farkı 6. pozisyonunda flor atomu, 7. pozisyonunda piperazinil halkası ve 1. pozisyonunda siklopropil halkasına sahip olmasıdır (Şekil 2.5).<sup>150</sup> Flor atomu ve piperazinil halkası geniş gram negatif ve gram pozitif antibakteriyel aktivite oluşturur.<sup>151</sup>

**Kimyasal adı:** 1-siklopropil-6-floro-1,4-dihidro-4-okso-7-(1-piperazinil)-3-kinolon karboksilik asit

**Kapalı formülü:** C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**Molekül ağırlığı:** 331,347 g/mol



Şekil 2.5. Siprofloksasin'in biyokimyasal yapısı<sup>152</sup>

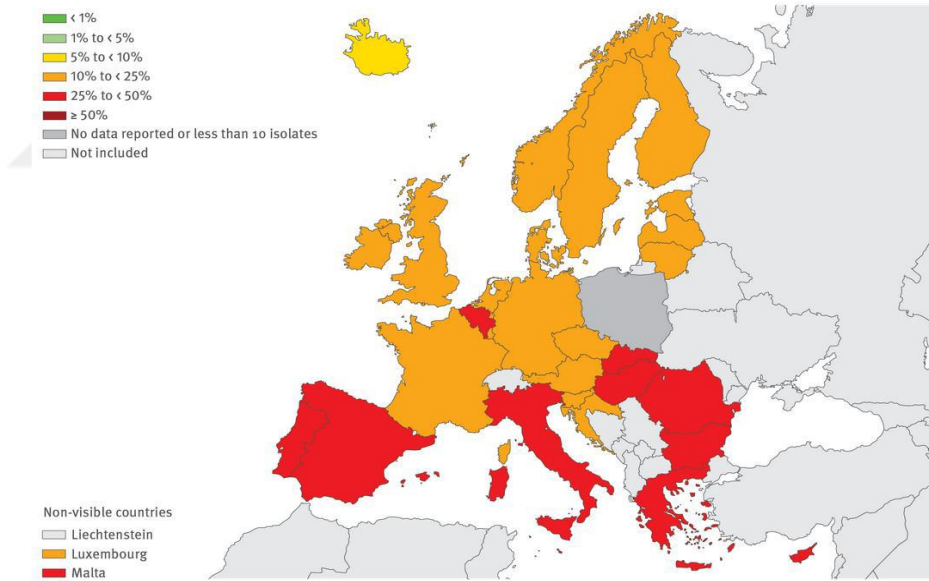
### 2.2.2. Etki Mekanizması

Kinolon grubu antibiyotikler, bakterilerde DNA replikasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan tip 2 topoizomerez enzimleri, DNA giraz ile topoizomerez 4' ün aktivitesini bloke ederek DNA sentezini durdurmaktadır.

### 2.2.3. Direnç Mekanizması

Kinolon grubu antibiyotiklere karşı gelişen direnç, hedef enzimde meydana gelen mutasyonlara, geçirgenliğin azalmasına veya antibiyotiğin aktif olarak atılımına bağlı olabilmektedir. Gram negatif bakterilerde ki birincil hedef DNA giraz'dır. DNA giraz, iki GyrA ve iki GyrB alt biriminden oluşmaktadır. Son yıllarda plazmid kontrolünde olan ve düşük düzeyde dirençten sorumlu olan 3 yeni mekanizma tanımlanmıştır. Plazmid aracılı dirençten sorumlu olan proteinlerden biri Qnr proteindir.<sup>153</sup> İn-vitro çalışmalarla saflaştırılmış Qnr proteininin *E. coli* DNA girazını siprofloksasinin inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir. Qnr proteini tek başına düşük düzey kinolon direncine neden olmasına rağmen, kromozomal farklı mekanizmaların birlikteliği ile yüksek düzey kinolon direncine yol açabilmektedir.<sup>148</sup> Türkiye'de Öktem ve arkadaşlarının yaptığı iki benzer çalışmada *E. coli* ve *K. pneumonia* qnrA geninin yaygın olduğu saptanmıştır.<sup>154</sup>

<sup>155</sup> 1044 izolatın incelendiği diğer bir çalışmada %44 Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitifliği %22 GSBL ve siprofloksasin direnci birlikteliği ve %33 siprofloksasin direnci saptanmış, 20 izolat qnr pozitif bulunmuştur.<sup>156</sup> Bütün bu verilerde, ülkemizde hızla artan kinolon direncinin sebebinin, kullanımının yaygın olmasının yanı sıra plazmid aracılığıyla da aktarılmasından kaynaklı olabileceği görüşünü desteklemektedir. Ayrıca, plazmid kaynaklı GSBL genleriyle kinolon direnci ilişkisini açıklamaya da yardımcı olmaktadır. Direnç verileri bölgeden bölgeye göre farklılıklar göstermektedir. Avrupa 2014 direnç verilerine bakıldığında %25-50 arasında olan bölgeler olduğu gibi direncin %10-25 arasında olduğu bölgelerde bulunmaktadır (Şekil 2.6).<sup>157</sup> Her bölgenin kendi lokal direnç verilerini oluşturması bu yüzden önem taşımaktadır.



Şekil 2.6. Avrupa 2014 florokinolon direnç verileri<sup>157</sup>

#### 2.2.4. Farmakokinetik ve Dağılımı

Siprofloksasinin oral biyoyararlanımı yaklaşık %70 olup intravenöz (İV) formülasyonlarının biyoyararlanımına eşitir. Lineer bir emilim kinetiği göstermektedir. Oral yoldan kullanıldığında gastrointestinal kanaldan hızla ve iyi absorbe edilmektedir.

1-2 saat sonra maksimum serum konsantrasyonuna ulaşır. Florokinolonlar gastro intestinal kanaldan hızlı bir şekilde ve tamamen absorbe olurlar. Alüminyum, magnezyum, kalsiyum, demir yada çinko ile oral olarak alındıklarında emilimleri azalır.<sup>143</sup> Gıda alımı emilimini azaltmamakla birlikte serum tepe değerlerine ulaşma süresini geciktirebilir. Gastrik kanaldan hızla emilmesi ve yavaş elimine olması nedeniyle ortalama sistemik biyoyararlanımı %85'tir. Böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda serum eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 4 saattir. Bu süre renal fonksiyonları azalmış olanlarda uzamaktadır. İlacın %40-50' si idrar yolu ile değişmeden atılır.<sup>146</sup>

Siprofloksasin, beyin omurilik sıvısı (BOS) hariç tüm vücut sıvıları ve dokularda geniş bir dağılım ve hücre içi de dahil pek çok dokuya geçiş gösterir ve serum değerlerinin de üzerinde konsantrasyonlara erişir. Bir başka önemli nokta da transintestinal eliminasyon da söz konusu olduğundan dışkıda oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunmasıdır.<sup>146, 158</sup>

Antibakteriyel tedavinin amacı enfeksiyonlu bölgede enfeksiyondan sorumlu bakteriler için minimum inhibitör konsantrasyondan (MIC<sub>90</sub>) daha yüksek ilaç konsantrasyonu sağlamaktır.<sup>159</sup> Siprofloksasinin MIC<sub>90</sub> değeri 0,5 µg/ml civarındadır. İnsanlara 200 mg iv enjeksiyonundan ve 1g oral uygulanmasından 1 saat sonra maksimum aköz hümör konsantrasyonları sırasıyla 0,16 µg/ml ve 0,3 µg/ml'dir. Bu konsantrasyonlar siprofloksasinin MIC<sub>90</sub> değerinden daha düşüktür.<sup>160</sup>

### **2.2.5. Yan Etkileri**

Kinolonlar iyi tolere edilebilen ilaçlardır. Yan etkiler genellikle kinolon yapısı ile ilişkilidir. Kinolonların en sık istenmeyen etkileri arasında %2–20 arasında değişen bir sıklıkta iştahsızlık, bulantı, kusma ve karın ağrısı gibi gastrointestinal sistemi ilgilendiren bulgular sayılsa da bu bulgular genellikle hafif seyretmektedir.<sup>161, 162</sup>

Sıklık açısından ikinci sırada %0,9–11 ile merkezi sinir sistemi bulguları

gelmektedir. Alerjik reaksiyon ve döküntü sıklığı %0,4–2,2 arasında görülür.<sup>163</sup>

Kinolonların toksik etkileri özellikle ağırlık taşıyan kalça ve diz eklemi kırıkdağında görülür.<sup>164</sup> Siprofloksasinin iki oral dozu sonrasında bile kırıkdağ matriksinde dejenerasyon gözlenmiştir.<sup>165</sup> Mont ve ark. siprofloksasinin erişkin insan kondrositlerinde hücre replikasyonunu etkilediğini belirtmişlerdir.<sup>166</sup>

### **2.2.6. İlaç Etkileşimleri**

Siprofloksasin, teofilin ve kafeinin de dahil olduğu metilksantinlerle etkileşir. Siklosporinlerle kombinasyonu nefrotoksisiteye neden olabilir.<sup>158</sup> Magnezyum, alüminyumlu antiasitler ve demir bileşikleriyle etkileşirler. Siprofloksasin, penisilinlerle ve aminofilinle geçimsizlik gösterir; bu ilaçların solüsyonları birbirine karıştırılırsa çökme meydana gelebilir.<sup>167</sup> Birçok çalışma florokinolonların kondroblast, kapsüler fibroblast, osteoblast ve endotelial hücrelere inhibitör etki gösterdiklerini bildirmektedir.<sup>168, 169</sup>

### **2.3. Antimikrobiyal Kombinasyon Testleri**

Antimikrobiyal ilaç kombinasyonları sıklıkla ciddi veya septisemik olguların ampirik tedavisinde geniş etki spektrumu sağlamak amacıyla kullanılır. Genel olarak antimikrobiyal ilaç kombinasyonları şu amaçlarla kullanılır:

1. Dirençli kökenlerin ortaya çıkmasını engellemek
2. İlaç dozlarındaki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkacak toksik etkiyi önlemek
3. Polimikrobiyal enfeksiyonları tedavi etmek
4. En önemli amaç ise antimikrobiyaller arasında sinerjik etki elde etmektir.<sup>170</sup>

Bunlardan farklı olarak antibiyotik kombinasyonları direnç gelişiminin geciktirilmesi veya önlem amaçlı olarak da kullanılabilir. Antibiyotik kombinasyonları genellikle ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanıldığı için kombinasyonda yer alan ilaçlarının etkileşiminin daha önceden değerlendirebileceği in-vitro yöntemlerin

uygulanması önemlidir. Bu nedenle çeşitli yöntemler geliştirilmesine rağmen günümüzde standart bir yöntem bulunmamaktadır.<sup>171</sup>

Sinerji testleri antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkisini saptamak için kullanılan testlerdir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) ve Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Test, EUCAST) tanımlarına göre; antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkinliği aynı ilaçlar tek başına kullanıldığında elde edilen etkinlikler toplamından daha yüksek ise buna sinerjik etkileşim, toplamına eşit ise aditif etkileşim, tek ilaç ile elde edilen sonuca eşit ise etkisiz durum (indifference), her iki ilacın herhangi birinin etkisinden daha düşük ise antagonistik etkileşimden (antagonizma) söz edilir.<sup>171</sup>

Antimikrobiyal ilaç kombinasyonlarının in-vitro aktivitelerini saptamakta kullanılan yöntemler şunlardır:

### **2.3.1. Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Array)**

In-vitro olarak en sık kullanılan sinerji testi yöntemidir. Bunun nedeni: Uygulamasının kolay olması, sonuçların hesaplanmasında basit matematik bilgisinin yeterli olması, gerekli araç ve gereçlerin kolay bulunabilir olması ve yapılan çalışmalarla in vivo etkinliği göstermede başarısının kanıtlanmış olmasıdır.<sup>170</sup>

Ayrıca sinerjik etki değerlendirilmesinde kullanılan mikro ve makro dilüsyon yöntemleri inhibitör, bakterisidal konsantrasyonların saptanmasında ve antibiyotik duyarlılığının ölçümünde CLSI'nin sıvı dilüsyon yöntemlerine benzer çalışılmaktadır, fakat burada antibiyotikler hem tek başına hem de diğer ajanlar ile birlikte etkinlikleri değerlendirilmektedir. In-vitro etkileşimler fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FİK) indeksi ile değerlendirilir. Kombinasyon ile elde edilen antibakteriyel etkinlik, her antibiyotik tek başına iken saptanan MİK değerleri ile kıyaslanan, elde edilen değer FİK

olarak ifade edilir. FİK değeri sinerjik, aditif, etkisiz ya da antagonistik şekilde yorumlanır.<sup>171</sup>

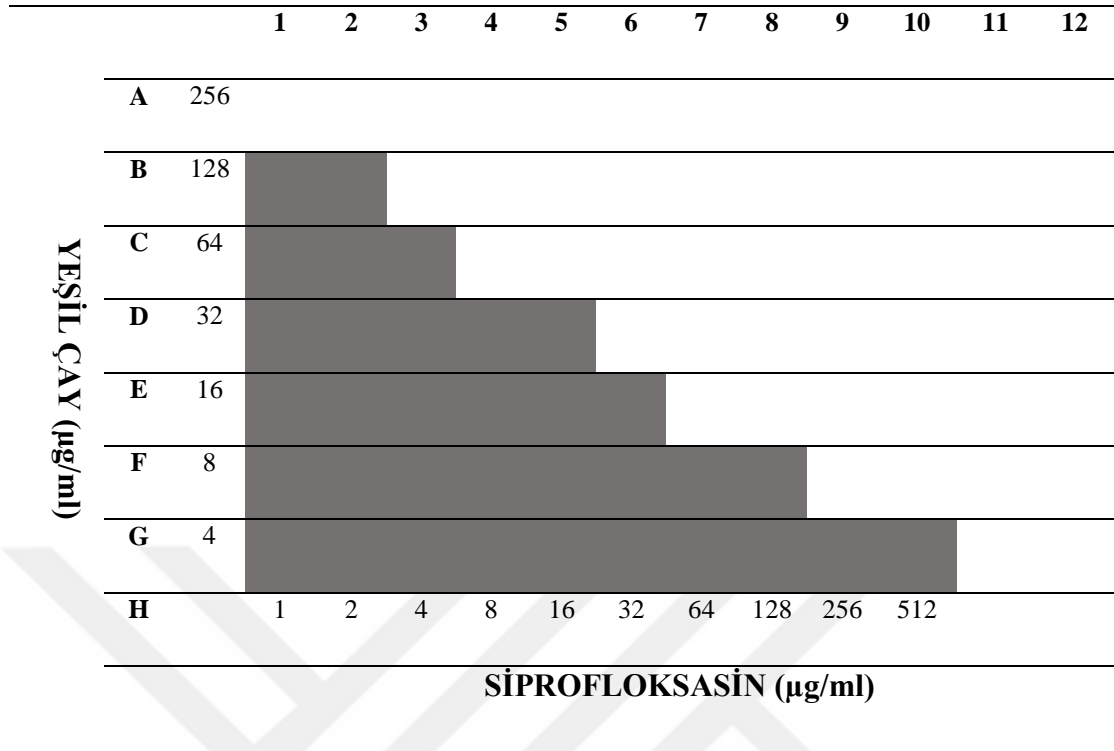
### **2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi**

Antibiyotik kombinasyonlarının etkilerinin incelenmesinde genellikle mikrodilüsyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde, kombinasyonda yer alan iki antibiyotiğin bir mikrotitrasyon plağında farklı düzlemlerde sulandırımı ve plaktaki her kuyucukta farklı konsantrasyonlarda bir araya gelmeleri söz konusudur.<sup>171, 172</sup> Dama tahtası panel örneği Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

#### **Dama Tahtası Yönteminin uygulanması**

- a. Mikrodilüsyon panelleri hazırlanır.
- b. Panel için kullanılacak antibiyotik son konsantrasyonları hesaplanır.
- c. Antibiyotik solüsyonları hazırlanır.
- d. Kuyucukta bulunması istenen son konsantrasyonun dört katı yoğunlukta olan ara sulandırmalar hazırlanır.
- e. 100 µl buyyon besiyeri tüm kuyucuklara dağıtılır.
- f. Kombinasyonda kullanılacak ilk antibiyotik 100 µl yarı yarıya dilue edilerek dağıtılır, sonrasında diğer antibiyotik hangi oranda hazırlandıysa dilue edilen kuyucuklara 100 µl eklenir (11. kuyucuk besiyeri kontrolü, 12. Kuyucuk üreme kontrolü olarak kullanıldığından bu kuyucuklara antibiyotik eklenmez).
- g. Antimikrobik ajanlar 5 µl olacak şekilde plaklara dağıtılır (11. Kuyucuk besiyeri kontrolü olarak kullanıldığından bu kuyucuğa antimikrobik ajan eklenmez).<sup>173</sup>

**Tablo 2.6.** Mikrodilüsyon dama tahtası panel örneği



### 2.3.3. Zamana Bağlı Öldürme Eğrisi (Time-Kill Curves)

Dama tahtası yönteminde antimikrobiyal kombinasyonlarının inhibitör etkileri ölçülmesine karşın, bu yöntemde kombinasyonların mikrobisidal aktivitesi belirlenir. Bu nedenle bakterisidal tedavinin gerekli olduğu endokardit gibi klinik tablolarda zamana bağlı öldürme eğrisi yöntemi kullanılmalıdır. Bu yöntemin bir diğer avantajı da antimikrobiyal etki ve etkileşimin zamana bağlı değişimini verebilmesidir. Oysa dama-tahtası yönteminde değerlendirme sadece bir defa yapılmaktadır. Zamana bağlı öldürme eğrisi yönteminin dezavantajları ise zaman alıcı ve uygulanmasının zor bir yöntem olmasıdır. Çok sayıda koloni sayımı gerekmesi kullanılan antimikrobiyal sayısını kısıtlamaktadır. Bu nedenle test edilecek antimikrobisallerin ve konsantrasyonlarının çok dikkatle seçilmesi gerekmektedir.<sup>170, 174, 175</sup>

### 2.3.4. Difüzyon Yöntemleri

Bu yöntemin en önemli avantajı ticari olarak antibiyotik emdirilmiş disk, şerit veya agar plağının sağlanabilmesidir. Günümüzde ticari olarak sağlanabilen değişen



konsantrasyonlarda antimikrobiyal emdirilmiş şeritler (E-test şeritleri) kullanıma girmiştir. E-test şeritlerinin kullanıldığı difüzyon yönteminin diğer (time-kill ve dama tahtası) yöntemlere göre belirgin avantajları vardır. Bunlardan en önemlisi uygulaması kolay ve daha az zaman alıcı bir yöntem olmasıdır. Bu yöntemin daha pratik olmasının bir nedeni de değerlendirmesinin daha kolay ve objektif olmasıdır. Zamana bağlı öldürme eğrisi ve dama tahtası yöntemlerinde belirli antibiyotik konsantrasyonlarında test yapılabilirken E-test yönteminde antibiyotiklerin değişen konsantrasyonlarında etkileşimi araştırma olanağı vardır.<sup>170, 174, 176, 177</sup>

#### **2.4. Yeşil Çay (*Camellia sinensis*)**

*Camellia sinensis* bitkisinden 5000 yıldır çay ürünleri üretilmektedir.<sup>178</sup> Çay bitkisinden üretim tekniklerindeki farklılıklara göre çay; siyah çay (%75), yeşil çay (%23) ve oolong (%2) çayı elde edilmektedir.<sup>179</sup> Siyah çay üretiminde yapraklar ezilerek çay polifenollerinin kondenzasyonuna sebep olan enzimatik oksidasyon ve fermentasyon işlemleri gerçekleştirilmektedir. Yeşil çay üretiminde ise taze yapraklar ısıtılarak enzimlerin inaktivasyonu sağlanmakta böylece polifenoller oksidasyondan korunmuş olmaktadır. Oolong çayı ise yeşil yaprakların kısmi-fermantasyonu ile üretilmektedir. Böylece yeşil ve siyah çay karışımı elde edilmektedir. Bunların her biri “*Camellia sinensis*” bitkisinden elde edilmiş olsa bile farklı üretim teknikleri bu çayların birbirinden farklı bir kimyasal bileşime sahip olmasını sağlamaktadır (Tablo 2.7). Siyah çayın temel antimikrobiyal ve antioksidan potansiyelini teafavinler ve tearubiginler gibi kompleks antioksidanlar oluştururken yeşil çay’ın temel antioksidan kapasitesini kimyasal olarak daha basit bir yapıya sahip olan kateşinler sağlamaktadır.<sup>180</sup>

**Tablo 2.7.** Yeşil çay ve siyah çayın karşılaştırılması (%)<sup>181</sup>

<b>Bileşik</b>	<b>Yeşil çay*</b>	<b>Siyah çay*</b>
Protein	15	15
Aminoasit	4	4
Fibril	26	26
Karbonhidrat	7	7
Lipid	7	7
Pigment	2	2
Mineral	5	5
Fenolik bileşikler	30	5
Okside fenolik bileşikler	0	25

\*Veriler, çay yapraklarının kuru ağırlığına işaret etmektedir.

#### **2.4.1. Yeşil Çayın Kimyasal Yapısı**

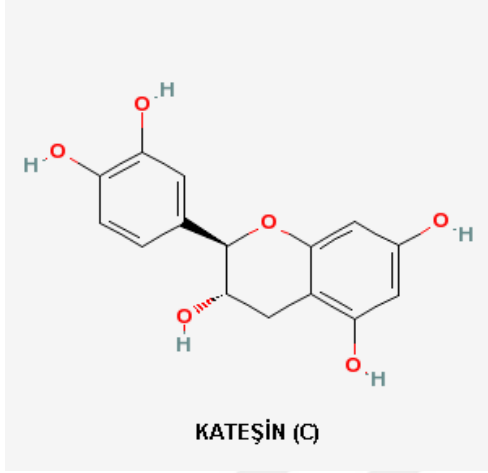
Çayın yapısında bulunan flavanoidler sayesinde güçlü bir antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Önemli flavonoidlerden epigallokateşin-3-gallat (EGCG), epikateşin (EC), epikateşingalat (ECG) ve epigallokateşin (EGC) yeşil çay içerisinde fazlaca bulunmakla beraber, siyah çay içerisinde daha az miktarda bulunmaktadır. Çay polifenollerinden en fazla ve yaygın olarak görülen EGCG kateşinidir.<sup>182</sup>

1. (+) kateşin (C),
2. (-) epikateşin (EC),
3. (+) gallokateşin (GC),
4. (-) epigallo kateşin (EGC),
5. (+) kateşin gallat (CG),
6. (-) epikateşin gallat (ECG),

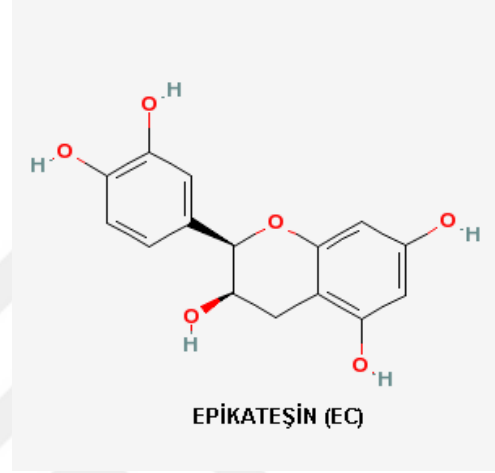
7. (+) gallokateşin gallat (GCG),

8. (-) epigallokateşin gallat (EGCG)

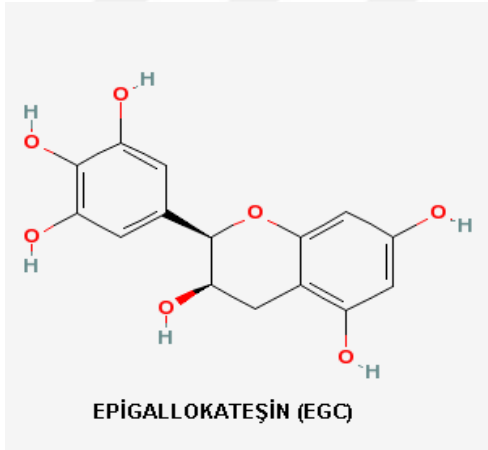
Çay bitkisindeki polifenollerin miktarı genç yapraklardan, yaşlı yapraklara doğru giderek azalır.<sup>183</sup> Çayın yapısında bulunan flavanol bileşikleri ve bu bileşiklerin açık formülleri Şekil 2.7, Şekil 2.8, Şekil 2.9, Şekil 2.10 ve Şekil 2.11 de gösterilmiştir.<sup>184</sup>



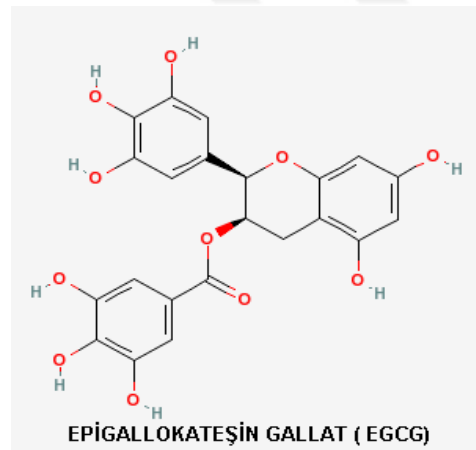
Şekil 2.7. Kateşin (C)



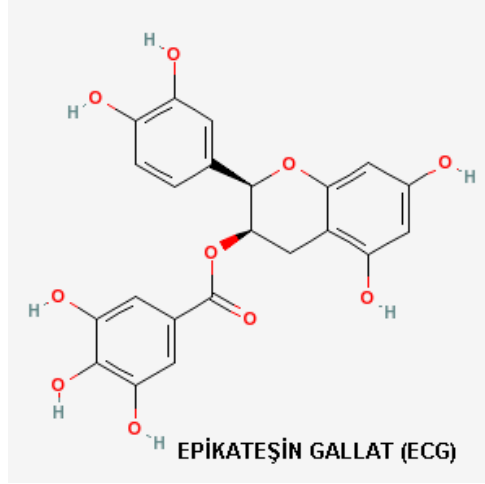
Şekil 2.8. Epikateşin (EC)



Şekil 2.9. Epigallokateşin (EGC)



Şekil 2.10. Epigallokateşin Gallat (EGCG)



**Şekil 2.11.** Epikateşin Gallat (ECG)

Kateşinler aynı zamanda polifenoller grubundan, şarap, çay, meyve ve çikolatada bulunan flavanoidlerdir. Bu grup flavanoidler majör olarak kateşin, epikateşin, epigallokateşin alt gruplarını içermektedir. Kateşinler doğal antioksidan aktiviteleriyle bilinirler ve bitkilerdeki bu polifenoller genellikle viral, inflamatuvar, vasküler, gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılırlar.<sup>185, 186</sup>

**Tablo 2.8.** Yeşil çayın fenolik madde kompozisyonu<sup>187, 188</sup>

<b>Bileşen</b>	<b>( mg/100 mL)</b>	<b>Kuru madde (%)</b>
Epikateşin	1.0-9.54	0.55-0.87
Epikateşin gallat	3.0-4.92	1.95-2.91
Epigallokateşin	2.0-36.2	0.44-0.88
Epigallokateşin gallat	6.0-32.6	13.37-13.74
Gallokateşin	2.57-2.81	-
Gallokateşin gallat	-	0.26-0.38

Kateşinler yeşil çay yapraklarındaki ana biyoaktif bileşenleri oluşturur (kuru ağırlığın % 25-35'lik kısmı). Bir bardak yeşil çay 100-200 mg kateşin içerir.<sup>22, 189</sup>

#### **2.4.2. Yeşil Çayın Sağlık Üzerine Etkisi**

Çay en çok tüketilen içeceklerden birisidir. Özellikle yeşil çayın, 2000 yıldan beri sağlıklı bir içecek olarak kullanımı tavsiye edilmektedir.<sup>190</sup> İnsan sağlığı açısından olumlu

etkilerinin görülmesi sebebiyle son 20 yıldır yeşil çay üzerindeki ilgi katlanarak artmaktadır.<sup>191</sup> Yeşil çayın başta kardiyovasküler rahatsızlık olmak üzere oral kanser ve obezite insidansını azaltan, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan aktivite gösteren biyolojik etkileri bilinmektedir.<sup>192-195</sup>

Ayrıca yeşil çayın polifenol içeriğinin *Helicobacter pylori*, MRSA, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysentery*, *Shigella flexneri* ve *Vibrio cholera* gibi birçok patojen bakterinin gelişmesini inhibe edici etkisinin olduğu da rapor edilmiştir.<sup>24, 193, 195-197</sup> Ayrıca bu polifenollerin human immunodeficiency virüs (HIV), Hepatit ve influenza virüslerine karşı da etkili oldukları bildirilmiştir.<sup>198, 199</sup> Yeşil çayın insan sağlığı üzerine birçok yararlı etkisinin görülmesi araştırmacıları yeşil çayın ağız ve diş sağlığı üzerine etkilerine yoğunlaştırmıştır ve bu alandaki çalışmalarını da arttırmıştır.<sup>190, 200, 201</sup>

Yeşil çayın *S. mutans* ve *S. sobrinus* üzerine inhibe edici etkisinin olduğu çalışmalarda gösterilmektedir.<sup>202</sup> Naderi ve arkadaşlarının İran siyah çayı ve yeşil çayının *S. mutans* üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında İran siyah çayının 100 mg/ml ve üzeri, İran yeşil çayının ise 150 mg/ml ve üzeri konsantrasyon düzeylerinde *S. mutans*'ı inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>203</sup> Xu ve arkadaşları ise yeşil çayın *S. mutans*'ın virulans aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, yeşil çayın epigallokateşin gallate içeriğinin *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ayrıca çürük gelişimi ile ilgili virulans faktörlerini baskıladığını bildirilmektedir.<sup>204</sup>

Yeşil çayda bulunan polifenollerin bir diğer yararı ise mikroorganizmaların diş sert dokularına tutunmalarını engellemeleridir. Bu sayede dental plak oluşumunu engellemekte ve mikroorganizmaların diş yüzeyinde asit üretimini azaltmaya yardımcı olmaktadır.<sup>205</sup>

Yeşil çayın antiviral etkinliği içerdiği polifenollerin antioksidan aktivitesine

bağlanmaktadır. Polifenoller virüsün hücre membranına zarar veren enzimlerini inaktive ederek virüsün hücreye tutunmasını ve penetrasyonunu engellemektedir. *In vitro* olarak EGCG'in influenza virüsünün viral hemaglutinine tutunarak hedef hücre reseptörüne bağlanmasını engellediği gösterilmektedir. Yeşil çayın, HIV tip 1, Herpes Simlex Virus (HSV) tip 1, Epstein Barr ve Adenovirüs ve daha birçok virüsün mekanizmasını bozduğu belirtilmektedir.<sup>206</sup>

EGCG, teaflavin digallate ve diğer yeşil çay bileşenleri konsantrasyona bağlı olarak çeşitli mantar türlerine karşı antifungal etkinlik gösterebilmektedir. EGCG, antifungal olarak kullanılan Amfoterisin B'nin antifungal etkinliğini arttırmaktadır. Ayrıca EGCG'nin flukonazol ile kombine kullanımı flukonazol dirençli mantarları inhibe edebilmektedir. EGCG ve antifungal ilaçların kombine kullanımı *Candida albicans*'in oral, intestinal ve vajinal süper enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olabilmektedir.<sup>207</sup>

Dünyadaki en popüler içeceklerden biri olan yeşil çayın MRSA ve MDR-*P. aeruginosa* dahil olmak üzere çeşitli patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri olduğu bildirilmiştir.<sup>26, 208</sup>

Yeşil çay ekstraktlarının ve polifenollerinin (özellikle EGCG, ECG), mikrobiyal sistemlerde (*Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli*), memeli hücre sistemlerinde ve *in vivo* hayvan deneylerinde çeşitli mutajenlere karşı antimutajenik etki gösterdiği de bildirilmiştir.<sup>209</sup>

Çaydaki polifenoller olan kateşinler, antosiyanidinler ve hidrolize edilebilir taninler antimikrobiyal etki göstermektedir. Bakterilerin polifenollere olan toleransı, bakteri türü ve polifenol yapısına göre değişiklik göstermektedir.<sup>210</sup> Yeşil çaydan ekstrakte edilen polifenoller, gram negatif bakteriler kadar gram pozitif bakteriler üzerinde de inhibitör etki göstermektedir. Yeşil çay ekstraktlarının çeşitli bakteri izolatlarına olan duyarlılığı hücre zarlarındaki farklılıklarla da ilişkilendirilebilmektedir.

Yeşil çay ekstraktında bulunan kateşinler arasında, EGCG ve ECG yapılarında bulunan galloil kısımlarından dolayı antimikrobiyal aktivite göstermede diğer kateşinlerden çok daha etkilidir. Bir bakterinin dış hücre zarı ya da sitoplazmik zarı, çift katmanlı fosfolipit ve proteinlerden oluşmaktadır ve bu kısım antimikrobiyal bileşiklerle etkileşimin majör kısmıdır. Doğal bitki ekstraktlarının reaktif gruplarındaki konjuge çift bağlar ve fonksiyonel hidroksil gruplar, hücre duvarı bileşenlerinin bağlarında bulunmaktadır. Kateşinler (galloil ve gallik kısımlar), çift katlı lipit zar üzerinde, hücre ölümüne kadar gidebilen, hücre yapısı ve fonksiyonu kayıplarıyla sonuçlanan bozucu bir etkiye sahiptir. Epikateşin, kafeik asit, benzoik asit ve sirinjik asit gibi majör fenolik bileşenler, hücrenin ozmotik basıncını etkileyerek hücre morfolojisini değiştirmekte, böylece sitoplazmik zarı bozmakta ve hücre bileşenlerinin sızmasına neden olmaktadır.<sup>211</sup>

Polifenoller, klostridya spp. ve *Helicobacter pylori*'yi inhibe etmekte fakat bazı intestinal laktik bakterileri inhibe etmemektedir. Çay ekstraktlarının *S aureus*, *S. disenteriae*, *V. cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, vs. gibi gıda patojenlerinin inhibitörleri olarak etki ettiklerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>210</sup> Kateşin içeriği *Clostridium botulinum*'un da gelişmesini azaltmaktadır.<sup>212</sup> Spor oluşturan termofilik bakteriler üzerine yeşil çay polifenollerinin etkisi üzerine yapılan bir başka çalışmada, *Bacillus* bakterileri arasında, çay polifenollerinin *Bacillus stearothermophilus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca yine aynı çalışmada, çay polifenollerinin ana bileşeni olan (-)- epigallokateşin galat hem *Bacillus stearothermophilus* hem de *Clostridium thermoaceticum*'a karşı güçlü aktivite gösterdiği belirtilmektedir.<sup>213</sup>

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışma, Atatürk Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08/12/2016 tarihli oturumu ve B.30.2.ATA.0.01.00/217 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

#### **Kullanılan Madde ve Cihazlar**

1. Kanlı Agar (Blood Agar Base) (Oxoid)
2. Mueller-Hinton Broth (MHB) (Merck)
3. Mueller-Hinton Agar (MHA) (Merck)
4. Etüv
5. Hassas Terazî
6. Siprofloksasin Toz (Sigma-Aldrich)
7. McFarland Densitometre (Biosan)
8. Büyüteç
9. Sefoksitin E-test Strip (BioMerioux)
10. E-test Strip (Siprofloksasin içeren) (BioMerioux)
11. U Tabanlı ELISA Mikroplate
12. Evaporatör
13. Steril Distile Su
14. Metanol ve Etil Asetat
15. DMSO (Dimetil Sülfoksit)
16. Membran Filtre 0,2 µm (Whatman, USA)
17. Hızlı lateks koagülaz kiti (Plasmatec, UK)
18. Derin Dondurucu
19. Eppendorf Tüpleri 2 ml.'lik
20. Steril Pamuklu Eküvyon Çubuğu

#### **3.1. İzolatlar**

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi

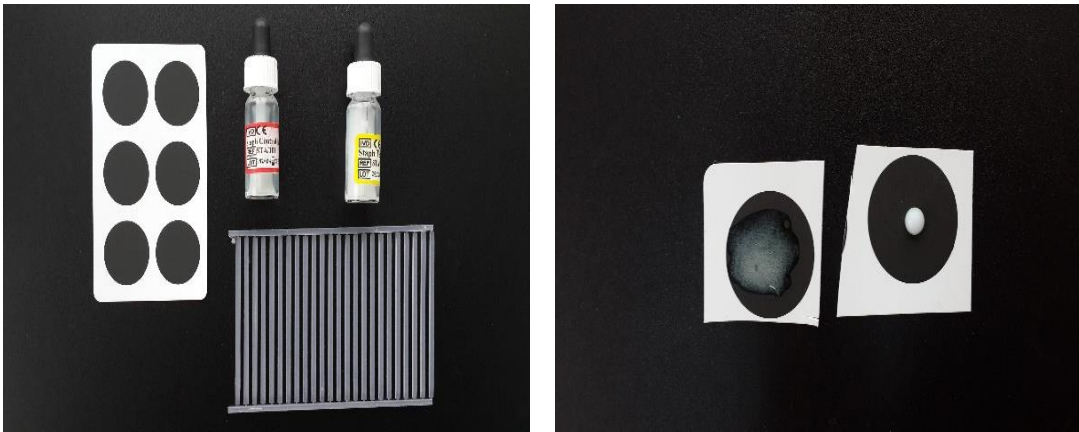


Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarında 01 Ocak 2010-12 Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli klinlerden gönderilen farklı klinik örneklerden (yara, kan, idrar) izole edilen 90 MRSA suşundan 54'ü siprofloksasine dirençli bulundu ve bu 54 suşların her biri farklı hastalardan izole edilmiş kökenlerdi. 54 MRSA izolatının her birinin ayrı ayrı yeşil çay; siprofloksasin MİK değeri tespit edildi. Daha sonra siprofloksasin dirençli 54 izolatta yeşil çay + siprofloksasin kombinasyonunun sinerjik etkisi dama tahtası yöntemiyle araştırıldı. Dama tahtası yöntemiyle elde edilen FİK değerlerine göre bu izolatlarda yeşil çayın siprofloksasin ile sinerjik etkisi belirlendi.

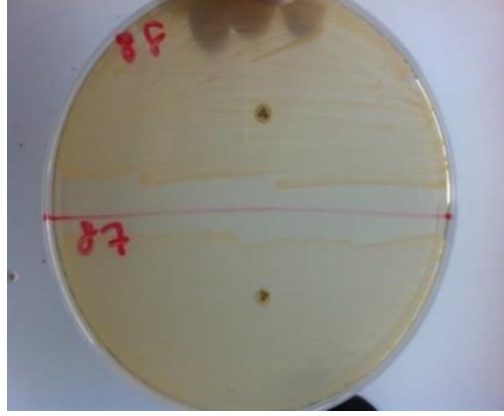
### 3.1.1. İzolatların Tanımlanması

Besiyerinde saf koloni şeklinde üreyen, gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, aerob ve kok morfolojisine sahip, oksidaz negatif, katalaz pozitif, koagülaz pozitif (Şekil 3.1) ve sefoksitine dirençli (Şekil 3.2) görülen izolatlar değerlendirilmiştir. Bu izolatlar ayrıca VİTEK 2® (BioMérieux, USA) otomatize bakteri tanımlama sistemi (Şekil 3.3) kullanılarak da tür düzeyinde tanımlama yapılmıştır. Tiplendirme yapılan MRSA izolatları çalışma zamanına kadar -80°C %16'lık gliserol buyyon besiyerinde saklanmıştır.<sup>214</sup>

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



Şekil 3.1. *S. aureus* tanımlamak için hızlı lateks koagülaz kiti (Plasmatec, UK)



**Şekil 3.2.** Sefoksitin diski ile metisilin direncinin araştırılması



**Şekil 3.3.** Otomatize bakteri tanımlama sistemi (VİTEK 2®)

## **3.2. İzolatların Siprofloksasin Direncinin Saptanması**

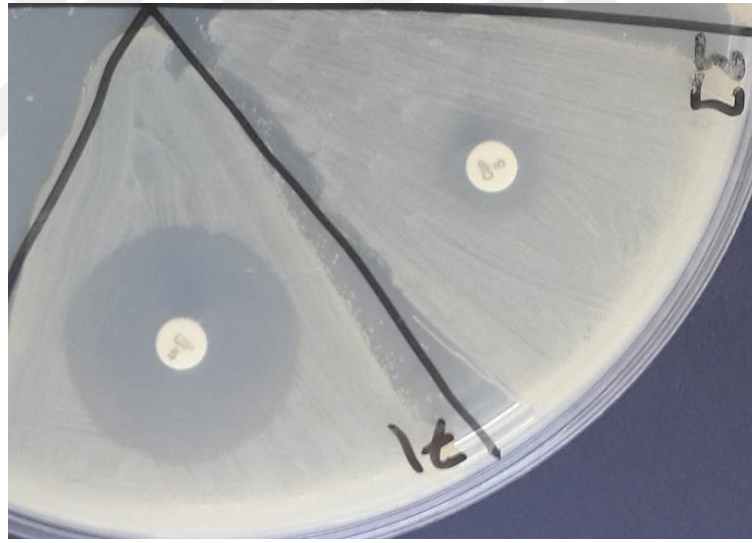
### **3.2.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi**

Çalışma amacıyla mikrotüplerde uygun koşullarda biriktirilip saklanan izolatlar çalışma günü %5'lik koyun kanlı agara ekildi ve bir gece 35 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında taze kültürdeki kolonilerden buyyon agar içerisinde 0,5 McFarland yoğunluğunda ( $10^8$  CFU/mL) olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyondan steril eküvyon çubuk yardımıyla 4 mm kalınlığındaki Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine ekim yapıldı. Daha sonra Siprofloksasin (CIP, 5µg) (Oxoid, UK) yerleştirildi ve 35 °C'de 18-24 saat etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonrası elde edilen zon çapları CLSI M100-S24'de önerilen kriterlere göre disk difüzyon

duyarlılık zon çaplarına (Tablo 3.1.) göre S (susceptible, duyarlı), I (intermediate, orta duyarlı) ve R (resistant, dirençli) olarak değerlendirildi.<sup>90</sup> alışmaya dahil edilen izolatlardan siprofloksasin dirençli görülen 54 MRSA izolatı siprofloksasin MİK değerlerinin araştırılması için çalışma kapsamına alındı.

**Tablo 3.1.** CLSI tarafından nerilen *S. aureus* CIP zon çapları ve MİK değerleri

Antibiyotik	Disk İçerik Miktarı	Zon çapları (mm)			MİK Değerleri (μg/ml)		
		Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
<b>Siprofloksasin</b>	0.5 μg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4



**Şekil 3.4.** Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle MRSA'larda CIP direnci

### 3.2.2. Siprofloksasine Dirençli İzolatların MİK Değerlerinin Belirlenmesi

#### 3.2.2.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi, BMD)

Öncelikle retici firmadan (Sigma Aldrich, USA) temin edilen siprofloksasin toz formu antibiyotiğin potens değerlerine göre uygun çözücü ve sulandırıcı olarak steril distile su kullanılarak 1024 μg/ml son konsantrasyon olacak Şekilde stok solüsyonu hazırlandı.

Çalışmada kullanılacak siprofloksasinin toz formu için CLSI'nin önerdiği şekilde steril distile su kullanılarak antibiyotik stok solüsyonu hazırlandı.<sup>90</sup> Distile su olarak ticari firmalarca üretilen 5 cc'lik hazır ampullerden temin edildi. Darası alınmış steril kaplarla hassas terazide tartılan antibiyotik tozu, uygun sıvı hacimleri göz önünde bulundurularak yine uygun çözücü ve sulandırıcıda karıştırılmak suretiyle eritilip, dilüe hale getirildi. CLSI'nin sıvı mikrodilüsyon yöntemi için standardize ettiği Katyon Ayarlı (20-25 mg/l Ca<sup>++</sup> ve 10-12,5 mg/l Mg<sup>++</sup> içeren) Mueller Hinton Broth (KAMHB) besiyeri hazırlandı ve çalışmamızda kullanıldı.<sup>90</sup>

Daha sonra 96 kuyucuklu steril U tabanlı plaklara 100'er µl KAMHB besiyeri eklendikten sonra ilk kuyucuğa test edilecek antibiyotiğin başlangıç konsantrasyonunu içeren çözeltisinden 100'er µl konuldu. Test edilecek en yüksek ilaç konsantrasyonunun eklendiği ilk kuyucuktan 100 µl alınıp 2. kuyucuğa aktarım ve pipetaj, 2. kuyucuktan 100 µl alınıp 3. kuyucuğa aktarım ve pipetaj şeklinde 10. Kuyucuğa kadar, ilacın çift kat seri dilüsyonları yapıldı (dilüsyon aralığı: 1-512 µg/ml) ve son kuyucuktan 100 µl alınıp dışarı atıldı. Plak üzerindeki 11. kuyucuk üreme kontrolü, 12. kuyucuk ise besiyeri kontrolü için kullanıldı. Bu iki kuyucuğa antibiyotik pipetlenmedi. Daha sonra %5 Koyun Kanlı Agar (KKA) besiyerine ekilmiş ve etüvde aerobik ortamda, normal atmosferde, 37°C'de, 18-24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra saf olarak elde edilen bakteri kolonilerinden 3cc steril distile su içinde 0,5 McFarland bulanıklığa eşit olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyon, 1/10 oranında KAMHB ile sulandırılarak, son bakteri inokulüm konsantrasyonu 5x10<sup>5</sup> CFU/ml olacak şekilde üreme kontrol kuyucuğu da dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 10 µl eklendi. Besiyeri kontrol kuyucuğuna bakteri süspansiyonu pipetlenmedi. Daha sonra plağın üstü kapatılarak 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra plak etüvden çıkarıldı, kuyucuklar gözle değerlendirildi ve üreme görülmeyen en düşük antibiyotik

konsantrasyonu o ilacın çalışılan bakteri için MİK değeri olarak saptandı.

### **3.3. Yeşil Çay Ekstraktının Hazırlanması**

Sezonunda Rize'den toplanan 2.5 yapraklık yeşil çay bitkisi kurumaya bırakıldı. Daha sonra Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Laboratuvarında özütleme işlemine tabi tutuldu. Öncelikle kurutulmuş ve daha sonra toz haline getirilen 100 gram yeşil çay yaprakları 1 litre metanolle Soxhlet ekstraktörde (SIGMA-ALDRICH, 322415) kullanılarak kaynama noktasını geçmeyecek sıcaklıkta 72 saatte ekstrakte edildi. Ekstraktlar Whatman filter No.1 ( Dassel, Germany) ile filtre edildikten sonra bir döner buharlaştırıcı kullanılarak 40 °C' de vakumda konsantre edildi. Hazırlanan yeşil çay ekstraktı liyofilize edilerek test aşamasına kadar +4°C' de saklandı.<sup>215</sup>

#### **3.3.1. Siprofloksasin Dirençli İzolatların Yeşil Çay MİK Değerinin Belirlenmesi**

Öncelikle DMSO içerisinde çözülmüş olan yeşil çay süspansiyonundan serum fizyolojik (SF) kullanılarak son konsantrasyonda 1024 µg/ml olacak şekilde yeşil çay stok solisyonu hazırlandı.

Daha sonra 96 kuyucuklu steril U tabanlı plaklara 100'er µl KAMHB besiyeri eklendikten sonra ilk kuyucuğa yeşil çay başlangıç konsantrasyonunu içeren çözeltisinden 100'er µl konuldu. Test edilecek en yüksek ilaç konsantrasyonunun eklendiği ilk kuyucuktan 100 µl alınıp 2. kuyucuğa aktarım ve pipetaj, 2. kuyucuktan 100 µl alınıp 3. kuyucuğa aktarım ve pipetaj şeklinde 10. Kuyucuğa kadar, ilacın çift kat seri dilüsyonları yapıldı (dilüsyon aralığı: 1-512 µg/ml) ve son kuyucuktan 100 µl alınıp dışarı atıldı. Plak üzerindeki 11. kuyucuk üreme kontrolü, 12. kuyucuk ise besiyeri kontrolü için kullanıldı. Bu iki kuyucuğa yeşil çay pipetlenmedi. Daha sonra %5 Koyun Kanlı Agar (KKA) besiyerine ekilmiş ve etüvde aerobik ortamda, normal atmosferde,

37°C’de, 18-24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra saf olarak elde edilen bakteri kolonilerinden 3 cc steril distile su içinde 0,5 McFarland bulanıklığa eşit olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyon, 1/10 oranında KAMHB ile sulandırılarak, son bakteri inokulüm konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  CFU/ml olacak şekilde üreme kontrol kuyucuğu da dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 10 µl eklendi. Besiyeri kontrol kuyucuğuna bakteri süspansiyonu pipetlenmedi. Daha sonra plağın üstü kapatılarak 37°C’de inkübasyona bırakıldı. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra plak etüvden çıkarıldı, kuyucuklar gözle değerlendirildi ve üreme görülmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu o ilacın çalışılan bakteri için MİK değeri olarak saptandı.

### **3.4. Sinerji Testi**

Çalışmaya alınan 54 MRSA izolatında CIP+Green Tea Ekstrakt (GTE) kombinasyonunun sinerjik etkinliği dama tahtası yöntemiyle değerlendirildi.

#### **3.4.1. Dama Tahtası Yöntemiyle Yeşil Çay + Siprofloksasin Kombinasyonun Sinerjik Etkisinin Araştırılması**

##### **Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Yöntemi)**

Bu yöntem için sinerji testi yapılacak 54 MRSA izolatı için ayrı ayrı belirlenen yeşil çay ve siprofloksasin MİK değerlerine göre stok solüsyonları hazırlandı. Daha sonra stok solüsyonları hazırlanan yeşil çay ve siprofloksasin için ayrı tüplerde çift kat seri dilüsyonlar yapıldı. Çalışılacak MİK değerlerinin belirlenmesinde sinerji test edilecek yeşil çay ve siprofloksasinin aynı kuyucuğa konulunca birbirini bir kat dilüe edeceğinden dolayı kombinasyonu gerçekleştirilen siprofloksasin ve yeşil çayın, çalışılan izolatlar için önceden belirlenmiş olan MİK değerlerinin beş kat aşağısından iki kat yukarısına kadar dilüsyonlarını verecek olmasına dikkat edilmiştir. Bu amaçla siprofloksasin için 2048-4 µg/ml ve yeşil çay için her izolatın elde edilen MİK değerine göre seri dilüsyonu yapılmış tüpler hazırlanmıştır.

Daha sonra %5 koyun kanlı agardaki bir gecelik inkübasyon sonrası elde edilen MRSA kolonilerinden katyonlanmış Mueller-Hinton Buyyon'a (MHB: Mg+2: 10-12.5 mg/L, Ca+2: 20-25 mg/l) bulanıklık 0.5 McFarland ( $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) olacak şekilde inoküle edilmiş süspansiyonlar hazırlandı. Ardından bu süspansiyonlar 1:30 oranında dilüe edildikten sonra ( $5 \times 10^6$  CFU/ml) sterilite kontrol kuyucuğu dışındaki bütün kuyucuklarına 10'ar µl inokülasyon yapıldı. İnokulum saflık kontrolü için, kullanılan bakteri süspansiyonu ( $5 \times 10^6$  CFU/ml) 1:100 oranında sulandırılıp 1 µl bir kanlı agar plağına yayıldı ve ertesi gün saflık araştırıldı. İnokulum yoğunluğunun kontrolü için üreme kontrol kuyucuğundan alınan bir miktar bakteri süspansiyonu 1:500 oranında %8.5 steril tuzlu suyla dilüe edildi ve buradan alınan 100 µl bir kanlı agar plağına yayıldıktan sonra ertesi gün üreyen koloni sayısı hesaplanarak kontrolü yapıldı.

Böylece her MRSA izolatu ve buna karşı denenecek kombinasyon için ayrı bir 96 kuyucuklu U tabanlı ELISA plağı (Şekil 3.5) hazırlandı.

Ardından daha önce hazırlanan yeşil çay ve siprofloksasin seri dilüsyon tüplerinden her kuyucuğa dama tahtası yöntemine uygun olarak 50'şer µl eklendi. Her ELISA plağında bir kuyucuk (A1) üreme kontrol kuyucuğu olarak antibiyotiksiz bırakılırken bir kuyucuk da (H12) sterilite kontrol kuyucuğu olarak yalnız besiyeri içerecek şekilde hazırlandı. İlk yatay sıra (A2-A12) ve ilk dikey sütun (B1-H1) kuyucukları yeşil çay ve siprofloksasinin tek başına MİK'lerinin belirlenmesi için kullanıldı (Tablo 3.2).

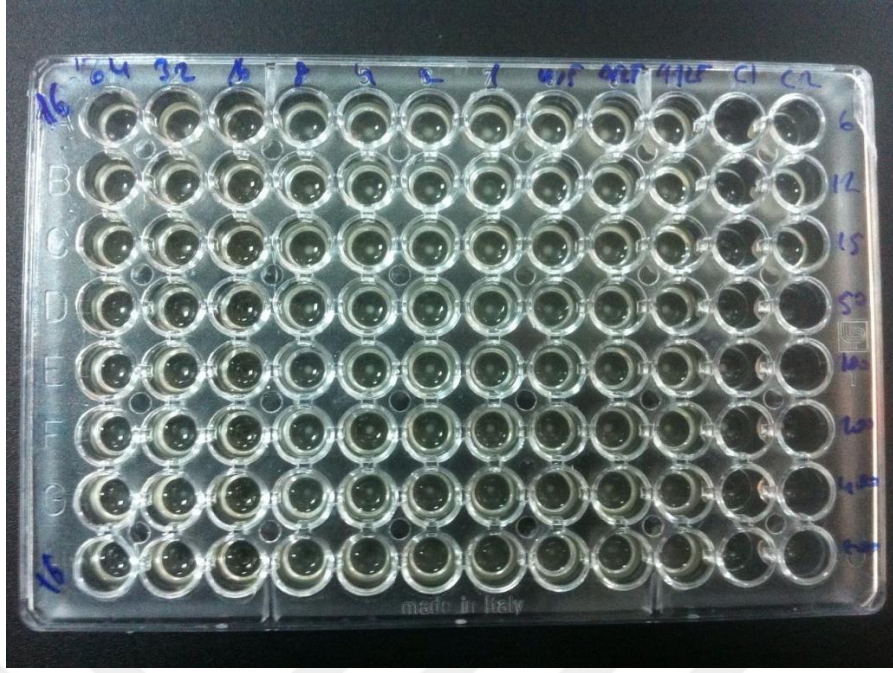
**Tablo 3.2.** Kombinasyon etkisi denenen siprofloksasin ve yeşil çayın paneldeki kombinasyon-dilüsyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )<sup>216</sup>

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	Üreme Kontrol	a1	a2	a4	a8	a16	a32	a64	a128	a256	a512	a1024
<b>B</b>	b4	a1 + b4	a2 + b4	a4 + b4	a8 + b4	a16 + b4	a32 + b4	a64 + b4	a128 + b4	a256 + b4	a512 + b4	a1024 + b4
<b>C</b>	b8	a1 + b8	a2 + b8	a4 + b8	a8 + b8	a16 + b8	a32 + b8	a64 + b8	a128 + b8	a256 + b8	a512 + b8	a1024 + b8
<b>D</b>	b16	a1 + b16	a2 + b16	a4 + b16	a8 + b16	a16 + b16	a32 + b16	a64 + b16	a128 + b16	a256 + b16	a512 + b16	a1024 + b16
<b>E</b>	b32	a1 + b32	a2 + b32	a4 + b32	a8 + b32	a16 + b32	a32 + b32	a64 + b32	a128 + b32	a256 + b32	a512 + b32	a1024 + b32
<b>F</b>	b64	a1 + b64	a2 + b64	a4 + b64	a8 + b64	a16 + b64	a32 + b64	a64 + b64	a128 + b64	a256 + b64	a512 + b64	a1024 + b64
<b>G</b>	b128	a1 + b128	a2 + b128	a4 + b128	a8 + b128	a16 + b128	a32 + b128	a64 + b128	a128 + b128	a256 + b128	a512 + b128	a1024 + b128
<b>H</b>	b256	a1 + b256	a2 + b256	a4 + b256	a8 + b256	a16 + b256	a32 + b256	a64 + b256	a128 + b256	a256 + b256	a512 + b256	Sterilite Kontrol

a: Siprofloksasin b: Yeşil Çay

Dama tahtası paneli tamamlandıktan sonra ELISA plağı (Şekil 3.5) kapakları kapatıldı ve plaklar 16-20 saat 35-37°C'de inkübe edildi. Bu sürenin sonunda üreme kontrolü ve besiyeri sterilite kontrolü yapıldıktan sonra plaklar okundu. Önce A2-A12 sırasındaki siprofloksasinin daha sonra da B1-H1 sütunundaki yeşil çayın tek başına MİK değerleri okunup kaydedildi.





Şekil 3.5. Dama tahtası yöntemiyle çalışılmış Siprofloksasin-Yeşil Çay

Ardından kombinasyon testi okundu ve her sıra ve sütunda üreme olan kuyucuklar pozitif kabul edilerek kayıt formunda işaretlendi, hiç üreme görülmeyenler boş bırakıldı.

Sonuçların yorumu için her iki antimikrobiyal ajanın fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FİK) indeksleri ayrı ayrı hesaplandı.

### Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi (FİK)

Kombinasyon Etkinlik Değerlendirilmesi Kombinasyonların etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre uygulandı.<sup>217</sup>

A: Kombinasyonda kullanılan antibiyotik

B: Kombinasyonda kullanılan yeşil çay ekstraktı

FİK indeksinin hesaplanması:

$$FİK_A = \frac{B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri}{Tek başına A'nın MİK sayısal değeri}$$

$$FİK_B = \frac{A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri}{Tek başına B'nin MİK sayısal değeri}$$

$\Sigma \text{FİK indeksi} = \text{FİK A} + \text{FİK B}$

$\Sigma \text{FİK indeksi} \leq 0,5$ : sinerji

$\Sigma \text{FİK indeksi} >0,5$  ve  $<1$ : aditif

$\Sigma \text{FİK indeksi} \geq 1$  ve  $4 \leq$  : etkisiz

$\Sigma \text{FİK indeksi} >4$ : antagonizma

Bu çalışmaya alınan 54 MRSA klinik izolatında denenen iki antimikrobiyal ajanın kombinasyonu için FİK indeksleri hesaplanıp etkileşimler sinerjik, aditif, etkisiz ve antagonistik olarak kaydedildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik İzolatların Özellikleri

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezinde yatmakta olan hastalardan 13 farklı servisten tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen ve değişik klinik örneklerden Ocak 2010 ile Aralık 2014 tarihleri arasında izole edilen 90 MRSA izolatı değerlendirilmiştir. MRSA izolatları en fazla İç Hastalıkları, Ortopedi ve Travmatoloji ile Beyin Cerrahisi servislerinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan MRSA izolatlarının servislere göre dağılımı Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışılan MRSA izolatlarının kliniklere göre dağılımı (n=90)

Servis	n (İzolat sayısı)	Yüzde(%)
İç Hastalıkları	14	15.6
Ortopedi ve Travmatoloji	14	15.6
Beyin Cerrahisi	12	13.3
Pediatri	11	12.2
Anestezi ve Reanimasyon	10	11.1
Enfeksiyon Hastalıkları	6	6.7
Genel Cerrahi	6	6.7
Nöroloji	5	5.6
Üroloji	5	5.6
Göğüs Cerrahisi	3	3.3
Kardiyoloji	2	2.2
Kulak Burun Boğaz	1	1.1
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi	1	1.1
<b>Toplam</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

Çalışmaya dahil edilen MRSA izolatlarının %49’u yara, %27’si kan ve %14’ü idrar olmak üzere 3 farklı klinik örnek türünden izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların klinik örneğin türüne dağılımları Tablo 4.2’de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Çalışılan MRSA izolatlarının klinik örneklere göre dağılımı (n=90)

<b>Klinik Örnekler</b>	<b>n (İzolat Sayısı)</b>	<b>Yüzde (%)</b>
Yara	49	54.4
Kan	27	30
İdrar	14	15.6
<b>Toplam</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

## **4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları**

### **4.2.1. MRSA İzolatlarında Disk Difüzyon Yöntemiyle Siprofloksasin Duyarlılıklarının Belirlenmesi**

Çalışmaya alınan 90 MRSA izolatında MİK ve sinerji bakılmadan önce disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasinin (CIP) antibiyogram sonuçlarına bakılmış ve dirençli izolatları belirlenerek bir sonraki aşama olan MİK için ayrılmıştır. Antibiyogram sonucuna göre MRSA izolatlarının 54 (%60)'ü siprofloksasine dirençli 36'sının da (%40) duyarlı olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 4.3).

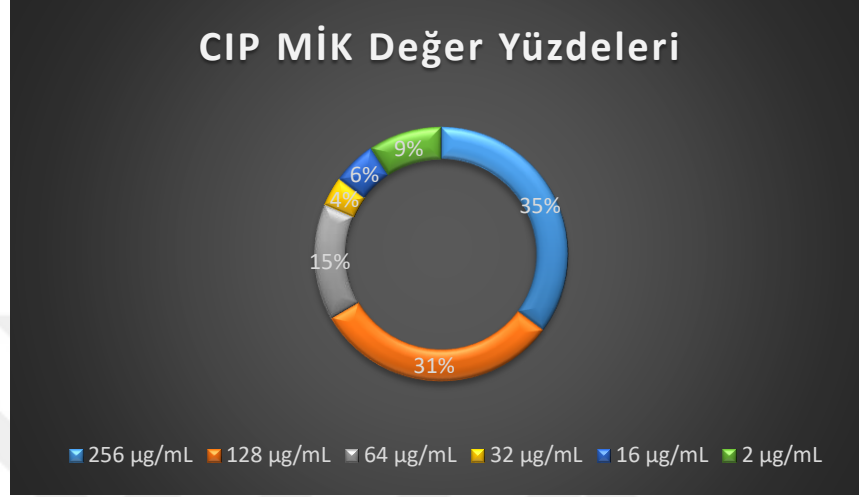
**Tablo 4.3.** MRSA izolatlarının disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılıkları

<b>Antibiyotik</b>	<b>n (CIP)</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>Duyarlı (S)</b>	36	40
<b>Orta Duyarlı (I)</b>	0	0
<b>Dirençli (R)</b>	54	60
<b>CIP: Siprofloksasin</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

### **4.2.2. MRSA İzolatlarında Sıvı Mikro Dilüsyon Yöntemiyle Siprofloksasin Duyarlılıklarının Belirlenmesi**

Disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasin direnci tespit edilen 54 MRSA izolatının CIP MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. İzolatlardan 19'unda

256 µg/mL, 17'sinde 128 µg/mL, 8'inde 64 µg/mL, 2'sinde 32 µg/mL, 3'ünde 16 µg/mL ve 5 tanesinde de 8 µg/mL MİK değerleri tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edilen MRSA CIP antibiyotik duyarlılık test sonuçları izolat kodlarıyla birlikte Tablo 4.4'de gösterilmiştir. MİK<sub>50</sub>: 128 µg/mL, MİK<sub>90</sub>: 256 µg/mL



**Şekil 4.1.** MRSA izolatlarında siprofloksasin (CIP) MİK değer yüzdeleri (n: 54)

**Tablo 4.4.** MRSA izolatlarında siprofloksasin MİK değerleri (µg/mL)

Suş Kayıt No	Siprofloksasin(µg/mL)	Suş Kayıt No	Siprofloksasin(µg/mL)
MRSA 39	128	MRSA 86	128
MRSA 40	128	MRSA 74	128
MRSA 8	64	MRSA 77	128
MRSA 14	256	MRSA 84	16
MRSA 80	128	MRSA 60	256
MRSA 58	128	MRSA 88	256
MRSA 73	128	MRSA 87	16
MRSA 25	64	MRSA 2	256
MRSA 29	8	MRSA 4	256
MRSA 28	64	MRSA 65	64
MRSA 27	64	MRSA 66	128
MRSA 7	256	MRSA 83	64
MRSA 26	256	MRSA 32	256

**Tablo 4.4.** (Devamı)

MRSA 72	128	MRSA 12	256
MRSA 81	128	MRSA 13	8
MRSA 17	256	MRSA 11	128
MRSA 1	256	MRSA 37	128
MRSA 6	16	MRSA 16	128
MRSA 75	256	MRSA 42	64
MRSA 67	8	MRSA 41	256
MRSA 69	256	MRSA 61	256
MRSA 70	32	MRSA 68	8
MRSA 71	8	MRSA 22	64
MRSA 43	128	MRSA 10	32
MRSA 35	256	MRSA 36	128
MRSA 33	256	MRSA 18	256
MRSA 38	256	MRSA 19	128

**n: 54**, Standart Suş Metisilin Dirençli *S.aureus* ATCC 43300: **128** ( $\mu\text{g/mL}$ ) MİK

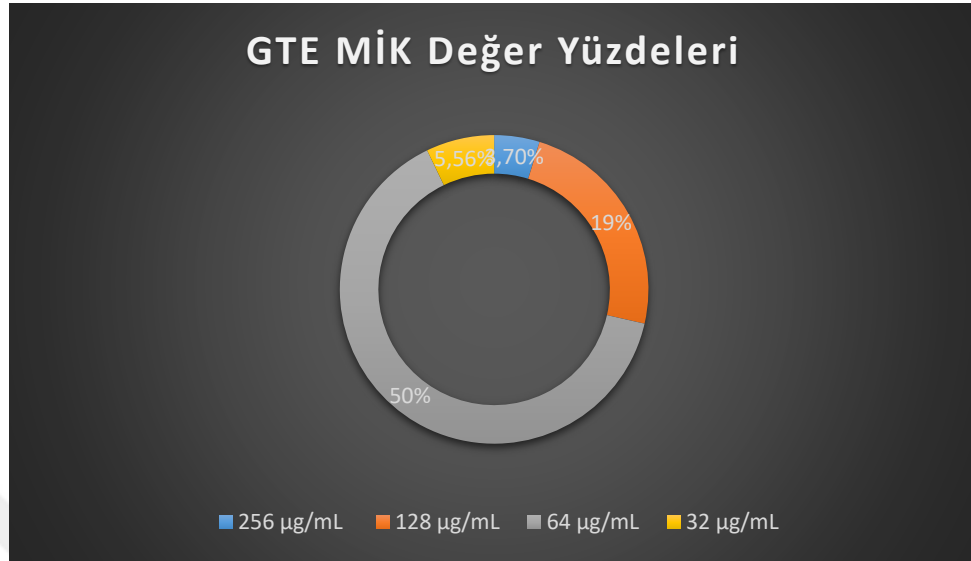
**Tablo 4.5.** MRSA İzolatlarında Siprofloksasin MİK<sub>min-max</sub> MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )

Siprofloksasin (CIP)	
MİK <sub>min-max</sub>	8-256
MİK <sub>50</sub>	128
MİK <sub>90</sub>	256

### 4.3. Yeşil Çay Ekstraktı (GTE) Duyarlılık Sonuçları (MİK)

Disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasin direnci tespit edilen 54 MRSA izolatının Yeşil çay ekstraktı (GTE) MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. İzolatlardan 27'sinde 64  $\mu\text{g/mL}$ , 12'nde 32  $\mu\text{g/mL}$ , 10'nunda 128  $\mu\text{g/mL}$ , 3'nde 16  $\mu\text{g/mL}$  ve 2'sinde 256  $\mu\text{g/mL}$  MİK değerleri tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon

yöntemi ile tespit edilen MRSA GTE MİK duyarlılık test sonuçları suş kodlarıyla birlikte Tablo 4.6’da gösterilmiştir.



Şekil 4.2. MRSA suşlarında yeşil çay ekstraktı (GTE) MİK değer yüzdeleri (n: 54)

Tablo 4.6. MRSA suşlarında yeşil çay MİK<sub>min-max</sub> MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri (µg/mL)

Yeşil Çay Ekstraktı (GTE)	
MİK <sub>min-max</sub>	16-256
MİK <sub>50</sub>	64
MİK <sub>90</sub>	128

Tablo 4.7. MRSA suşlarında yeşil çay ekstraktı (GTE) MİK değerleri (µg/mL)

Suş Kayıt No	GTE (µg/mL)	Suş Kayıt No	GTE (µg/mL)
MRSA 39	64	MRSA 86	64
MRSA 40	64	MRSA 74	32
MRSA 8	256	MRSA 77	16
MRSA 14	64	MRSA 84	128
MRSA 80	64	MRSA 60	16
MRSA 58	32	MRSA 88	32
MRSA 73	64	MRSA 87	32

**Tablo 4.7.** (Devamı)

MRSA 25	128	MRSA 2	128
MRSA 29	64	MRSA 4	32
MRSA 28	64	MRSA 65	64
MRSA 27	128	MRSA 66	32
MRSA 7	64	MRSA 83	32
MRSA 26	64	MRSA 32	32
MRSA 72	64	MRSA 12	32
MRSA 81	64	MRSA 13	16
MRSA 17	64	MRSA 11	64
MRSA 1	64	MRSA 37	128
MRSA 6	128	MRSA 16	64
MRSA 75	64	MRSA 42	128
MRSA 67	64	MRSA 41	64
MRSA 69	32	MRSA 61	64
MRSA 70	64	MRSA 68	64
MRSA 71	32	MRSA 22	128
MRSA 43	32	MRSA 10	128
MRSA 35	128	MRSA 36	64
MRSA 33	64	MRSA 18	256
MRSA 38	64	MRSA 19	64

**n: 54**Standart Suş Metisilin Dirençli *S.aureus* ATCC 43300: **64** ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) MİK

### 4.3. Siprofloksasin (CIP) + Yeşil Çay Ekstraktı (GTE) Kombinasyon

#### Duyarlılık Sonuçları (MİK)

Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle MRSA siprofloksasin MİK değeri elde edilen 54 izolat için siprofloksasin (CIP) ve yeşil çay ekstraktının (GTE) kombinasyon MİK duyarlılık değerleri dama tahtası yöntemiyle tespit edilmiştir. Dama tahtası yöntemiyle bu 54 izolat için siprofloksasin + Yeşil çay kombinasyonundan elde edilen MİK değerleri aşağıdaki Tablo 4.8’de gösterilmiştir.



**Tablo 4.8.** MRSA izolatlarında CIP + GTE kombinasyonundan elde edilen MİK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )

Suş Kayıt No	CIP +( $\mu\text{g/mL}$ )	GTE	Suş Kayıt No	CIP	GTE
MRSA 7	4	16	MRSA 4	16	64
MRSA 19	8	32	MRSA 2	8	32
MRSA 26	16	64	MRSA 32	8	32
MRSA 17	16	32	MRSA 12	8	32
MRSA 1	8	32	MRSA 41	8	32
MRSA 35	8	32	MRSA 61	8	32
MRSA 33	16	64	MRSA 18	8	32
MRSA 38	16	64	MRSA 75	16	64
MRSA 60	8	32	MRSA 69	8	32
MRSA 88	16	64	MRSA 14	8	32
MRSA 39	8	32	MRSA 40	8	32
MRSA 8	8	32	MRSA 80	4	16
MRSA 86	32	128	MRSA 74	16	64
MRSA 77	2	8	MRSA 84	8	32
MRSA 87	2	8	MRSA 73	16	64
MRSA 65	16	64	MRSA 25	16	64
MRSA 58	1	8	MRSA 29	4	16
MRSA 28	4	16	MRSA 72	4	16
MRSA 27	8	32	MRSA 81	8	32
MRSA 66	8	32	MRSA 83	4	16
MRSA 13	2	8	MRSA 6	2	8
MRSA 11	16	64	MRSA 16	16	64
MRSA 37	4	16	MRSA 42	2	8
MRSA 67	4	16	MRSA 68	1	4
MRSA 70	8	32	MRSA 22	32	128
MRSA 71	8	32	MRSA 43	4	16
MRSA 10	16	64	MRSA 36	8	32

n: 54, MRSA ATCC 43300 CIP: 16 GTE: 64

Dama tahtası yöntemiyle elde edilen siprofloksasin FİK değerlerine göre yeşil çayın izolatların 18'inde (%33.3) etkisiz olduğu görüldüğü, 17'sinde (%31.5) aditif, 19'unda (%35.2) sinerjik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ortalama  $\Sigma$ FİK değerine göre ( $\Sigma$  FİK: 0,74) yeşil çayın siprofloksasine etkisinin izolatlarda aditif olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 4.9).

**Tablo 4.9.** Siprofloksasin dirençli MRSA izolatlarında siprofloksasin ve yeşil çay MİK ve FİK değerleri

Suş Kayıt No	Antimikrobiyal Ajanlar	MİK Değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )		FİK Değerleri		Sonuçlar
		CIP GTE	Kombinasyon	FİK	$\Sigma$ FİK	
MRSA ATCC 43300	Siprofloksasin	128	16	0.12	1.12	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 39	Siprofloksasin	128	8	0.06	0.53	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 40	Siprofloksasin	128	8	0.06	0.56	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 8	Siprofloksasin	64	8	0.12	0.24	Sinerji
	Yeşil Çay	256	32	0.12		
MRSA 14	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.53	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 80	Siprofloksasin	128	4	0.03	0.28	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 58	Siprofloksasin	128	1	0.01	0.26	Sinerji
	Yeşil Çay	32	8	0.25		
MRSA 73	Siprofloksasin	128	16	0.12	1.12	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 25	Siprofloksasin	64	16	0.25	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	128	64	0.5		
MRSA 29	Siprofloksasin	8	4	0.5	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 28	Siprofloksasin	64	4	0.06	0.31	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 27	Siprofloksasin	64	8	0.12	0.37	Sinerji
	Yeşil Çay	128	32	0.25		
MRSA 7	Siprofloksasin	256	4	0.02	0.27	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		

**Tablo 4.9.** (Devamı)

MRSA 26	Siprofloksasin	256	16	0.06	1.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 72	Siprofloksasin	128	4	0.03	0.28	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 81	Siprofloksasin	128	8	0.06	0.56	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 17	Siprofloksasin	256	16	0.06	0.56	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 1	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.53	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 6	Siprofloksasin	16	2	0.12	0.18	Sinerji
	Yeşil Çay	128	8	0.06		
MRSA 75	Siprofloksasin	256	16	0.06	1.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 67	Siprofloksasin	8	4	0.5	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 69	Siprofloksasin	256	8	0.03	1.03	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	32	1		
MRSA 70	Siprofloksasin	32	8	0.25	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 71	Siprofloksasin	8	8	1	2	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	32	1		
MRSA 43	Siprofloksasin	128	4	0.03	0.28	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 35	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.28	Sinerji
	Yeşil Çay	128	32	0.25		
MRSA 33	Siprofloksasin	256	16	0,06	1.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 38	Siprofloksasin	256	16	0,06	1.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 86	Siprofloksasin	128	32	0,25	2.25	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	128	2		
MRSA 74	Siprofloksasin	128	16	0,12	2.12	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	64	2		
MRSA 77	Siprofloksasin	128	2	0.02	0.52	Aditif
	Yeşil Çay	16	8	0.5		
MRSA 84	Siprofloksasin	16	8	0.5	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	128	32	0.25		

**Tablo 4.9.** (Devamı)

MRSA 60	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.23	Sinerji
	Yeşil Çay	16	32	2		
MRSA 88	Siprofloksasin	256	16	0.06	0.06	Sinerji
	Yeşil Çay	32	64	2		
MRSA 87	Siprofloksasin	16	2	0.12	0.37	Sinerji
	Yeşil Çay	32	8	0.25		
MRSA 2	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.28	Sinerji
	Yeşil Çay	128	32	0.25		
MRSA 4	Siprofloksasin	256	16	0.06	2.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	64	2		
MRSA 65	Siprofloksasin	64	16	0.25	1.25	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 66	Siprofloksasin	128	8	0.06	1.06	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	32	1		
MRSA 83	Siprofloksasin	32	4	0.12	0.37	Sinerji
	Yeşil Çay	64	16	0.25		
MRSA 32	Siprofloksasin	256	8	0.03	1.03	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	32	1		
MRSA 12	Siprofloksasin	256	8	0.03	1.03	Etkisiz
	Yeşil Çay	32	32	1		
MRSA 13	Siprofloksasin	8	2	0.25	0.75	Aditif
	Yeşil Çay	16	8	0.5		
MRSA 11	Siprofloksasin	128	16	0.12	1.12	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 37	Siprofloksasin	128	4	0.03	0.15	Sinerji
	Yeşil Çay	128	16	0.12		
MRSA 16	Siprofloksasin	128	16	0.12	1.12	Etkisiz
	Yeşil Çay	64	64	1		
MRSA 42	Siprofloksasin	64	2	0.03	0.09	Sinerji
	Yeşil Çay	128	8	0.06		
MRSA 41	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.53	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 61	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.53	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 68	Siprofloksasin	8	1	0.12	0.18	Sinerji
	Yeşil Çay	64	4	0.06		
MRSA 22	Siprofloksasin	64	32	0.5	1.5	Etkisiz
	Yeşil Çay	128	128	1		

**Tablo 4.9.** (Devamı)

MRSA 10	Siprofloksasin	32	16	0.5	1	Etkisiz
	Yeşil Çay	128	64	0.5		
MRSA 36	Siprofloksasin	128	8	0.06	0.56	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		
MRSA 18	Siprofloksasin	256	8	0.03	0.15	Sinerji
	Yeşil Çay	256	32	0.12		
MRSA 19	Siprofloksasin	128	8	0.06	0.56	Aditif
	Yeşil Çay	64	32	0.5		

**n: 54**

## 5. TARTIŞMA

Tıp dünyasında yeni gelişmeler yaşanmasıyla beraber insanoğlunun yaşam kalitesinde artış ve yaşam süresinde uzama gözlenmektedir. Fakat diğer taraftan tanı ve tedavi amaçlı uygulanan girişimler, yoğun antibiyotik kullanımı gibi faktörler karşımıza “hastane enfeksiyonları” ve “antibiyotiklere dirençli bakteriler” gibi ciddi sorunlar ortaya çıkarmaktadır.

Bu dirençli izolatlarla oluşan enfeksiyonlar tüm dünyada giderek önemli bir sağlık sorununu ortaya çıkarmaktadır. İlk defa 1884 yılında Rosenbach tarafından izole edilen *S. aureus* günümüzde tüm dünyada morbidite ve mortalitesi yüksek olan hem hastane hem de aynı zamanda toplum kökenli enfeksiyonların önemli nedenlerinden biri olarak izole edilmektedir. Bunların başta yara ve yumuşak doku enfeksiyonları olmak üzere, osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi gibi ciddi enfeksiyonların oluşumuna neden olan *S. aureus*, ilk metisilin direncinin gözleendiği 1961’den günümüze dek çok ciddi bir mortalite ve morbidite nedeni olarak karşımızda durmaktadır.<sup>218</sup>

Ülkelere göre değişiklik gösteren metisilin direnci, ABD, Güney Avrupa, bazı Asya ülkeleri ve Uzak Doğuda prevalansı en yüksek, Kuzey Avrupa’da ise bu direnç en düşük seviyelerdedir. Metisilin direnci Amerika Birleşik Devletlerinde yoğun bakım ünitelerinde %60 ‘lara kadar yükselmiştir ve 2005 yılına gelindiğinde ABD’de MRSA’ya bağlı olarak 90.000’den fazla invaziv enfeksiyon saptanmıştır.<sup>116, 219</sup> 1999-2002 yılları arasında gerçekleştirilen ve yaklaşık olarak yirmi altı Avrupa ülkesini içine alan ve European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) çalışmasında, İtalya (%40,9), İngiltere (%41,5), Malta (%43,8) ve Yunanistan (%44,4) metisilin direncinin en fazla olduğu ülkeler olarak bildirilmiştir.<sup>119</sup> 2003-2005 yılları arasında gerçekleştirilen Türkiye’nde içerisinde yer aldığı ve Akdeniz ülkelerini kapsayan çalışmada ülkemizdeki metisilin direnci %39 olarak rapor edilmiştir.<sup>220</sup>

MRSA izolatlarıyla oluşan enfeksiyonlarda kullanılabilir antibiyotiklerin sınırlı olması ayrıca önemli bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Son zamanlarda MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkili olan vankomisin MİK değerlerinde artış saptanması ve bazı merkezlerde MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde sınırlı endikasyona sahip olan diğer antibiyotiklerden olan kinupristin/dalfopristin, tigesiklin, daptomisin ile beraber kullanım endikasyonu daha geniş olan linezolid karşı da direnç gelişimi gösterilmeye başlanması araştırmacıları MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilir yeni ajan arayışına itmiştir. Bu amaçla son dönemde faz çalışmaları tamamlanıp klinik kullanıma giren 5. kuşak sefalosporinler (seftarolin, seftabiprol) gibi yeni antibiyotikler üretilmekle birlikte MRSA enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılabilir çeşitli ilaç kombinasyonları araştırmaları da devam etmektedir.<sup>219, 221</sup>

Siprofloksasin geniş antibakteriyel spektrumu, gastrointestinal sistemden iyi emilimi, iyi doku dağılımı ve düşük yan etki potansiyeli nedeniyle MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde alternatif bir antibakteriyel ajan olarak karşımızda durmaktadır.<sup>222, 223</sup> Siprofloksasinin MRSA kökenlerine karşı etkinliği olmakla birlikte zaman içerisinde MRSA'larda siprofloksasine karşı direnç gelişmeye başlamıştır. Bugün coğrafik olarak bazı bölgelerden izole edilen MRSA'larda siprofloksasine direnç oranı %100 yaklaşmıştır.<sup>224, 225 149</sup>

Dünyada MRSA izolatlarında siprofloksasin direnci ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda Hassanzadeh ve ark.<sup>226</sup> 2017 yılında Tahran/İran'da 60 MRSA izolatı için siprofloksasin direncini %70 olarak bulmuşken; yine 2010 yılında Şiraz/İran'da Japoni ve ark.<sup>227</sup> bu oranı 156 MRSA izolatında %82 şeklinde bildirmişlerdir. Lamichhane-Khadka ve ark.<sup>228</sup> Amerika'da yaptıkları çalışmalarda *S.aureus* izolatları arasında siprofloksasine karşı olan direncin %90 ve hatta bazı bölgelerde % 100'e kadar ulaştığını

tespit etmişlerdir.

Ülkemizde 2003 yılında Küçükateş ve ark.<sup>229</sup> 71 MRSA izolatında siprofloksasin duyarlılığını %14 olarak tespit etmişken; 2006 yılında Yakupoğulları ve ark.<sup>230</sup> 67 MRSA izolatı için bu oranı %42 şeklinde tespit etmişlerdir. Bölgemizde 2002 yılında Altoparlak ve ark.'nın<sup>231</sup> yaptığı bir çalışmada 83 MRSA izolatında siprofloksasin direnci %48 olarak gözlenmişken bizim çalışmamızda bu oran %60 olarak belirlenmiştir. Bölgemizde siprofloksasin direncinde artış olduğu görülmektedir. Siprofloksasinin geniş spektruma sahip olması ve oral formunun bulunması bu durumun sebebi olarak düşünülebilir.

Cho ve ark. *S. aureus*'larda, kinolonlara karşı gelişen direnç florokinolonlar ve diğer ajanlar için bir geniş spektrumlu taşıyıcıyı kodlayan bir gen olan *norA*'nın artışından kaynaklandığını bildirmişlerdir.<sup>232</sup>

Siprofloksasin stafilokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanıldığında bunlara karşı hızlı bir şekilde direnç gelişimi ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Stafilokoklarda meydana gelen kromozomal mutasyonlar sonrasında siprofloksasine karşı direnç kazanmaktadır. Tek başına kullanıldığı zaman kinolonlarda hızlı bir şekilde direnç gelişimi olduğu için kombine kullanımının direnç gelişimi daha geç sürede ortaya çıkabilir.

Günümüz literatüründe stafilokokların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde hızla gelişen direnç durumundan dolayı alternatif kombinasyon tedavileri ön plana çıkmıştır bu kapsamda yeşil çay dahil olmak üzere çeşitli bitki özütleri ile yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Örnek olarak Amin ve ark.<sup>233</sup> 2015 yılında *S. aureus*'lar üzerinde bazı flavonoidlerin siprofloksasin ile sinerjik etkisini araştırmış ve flavonoidlerle oluşturdukları üç farklı kombinasyon formunda sinerjik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Chan ve ark.<sup>234</sup> 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada Baykal Kasidesi (*Scutellaria baicalensis*) bitkisinin özütü olan baicalein flavonoidi ile siprofloksasin



antibiyotiğinin MRSA üzerinde dama tahtası yöntemiyle sinerjik etkisine bakmış ve 20 hastane kaynaklı MRSA'da yalnız siprofloksasin MİK değerlerini 16-256 µg/ml aralığında, yalnız baicalein MİK değerlerini 64-256 µg/ml olarak bulmuşlardır. Dama tahtası kombinasyon MİK değerlerini ise siprofloksasin için 4-128 µg/ml, baicalein için 2-64 µg/m olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak sinerjik etki anlamlı bulunmuştur. İbrahim ve ark.<sup>235</sup> 2014 yılında yaptıkları çalışmada MRSA'lar üzerinde yeşil çayın ve Afrika Bamyası (*Hibiscus sabdariffa*)'nın antibakteriyel etkinliğini ve nefrotoksite önleyici etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda yeşil çayın hem antibakteriyel bir etkinliğe sahip olduğunu hem de gentamisin tarafından oluşturulan nefrotoksik etkiyi önlediğini Afrika Bamyasının ise antibakteriyel etkinliğinin olmadığını ancak bunun da nefrotoksik oluşumunu önleyici etkisinin olduğunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise Chou ve ark.<sup>236</sup> 1999 yılında *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *B. subtilis*, *Salmonella spp.* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde siyah çay ve yeşil çayın antimikrobiyal aktivitesini araştırmış ve sonuç olarak tüm bakteriler üzerinde en etkili çay türünün fermente edilmemiş olan yeşil çay olduğunu belirtmişlerdir ayrıca yeşil çayın en çok *Pseudomonas fluorescen* en az *Bacillus subtilis* ve benzer ölçüde ise *Salmonella spp.* *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakteri türleri üzerinde orta düzeyde etkili olduklarını tespit etmişlerdir. Yine bir başka çalışmada Mustafa ve ark.<sup>237</sup> 2011 yılında Tembel Tarçın (*Cinnamomum Iners*) bitkisinin MRSA izolatları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırmış ve MİK değerini 100 µg/ml olarak bulmuşlardır. Sonuç olarak temel tarçın bitkisinin MRSA izolatları üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yeşil çay çeşitli çalışmalarda MRSA'lara karşı antimikrobiyal etkinliği ortaya konmuş bitkilerden biridir. Yapılan birçok çalışmada Yeşil çay özütlerinin hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı olan etkinliği araştırılmıştır. Skariyachan ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir

çalışmada yeşil çayın emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksitite (ADMET) özellikleri göz önünde bulundurularak yapılan bu çalışmada aloe vera, nar ve yeşil çayın MRSA ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde teröpatik olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.<sup>238</sup>

Lee ve ark.<sup>25</sup> 2005 yılında yaptıkları çalışmada kronik prostatik bakteriler (*E. coli* Z17, O2:K1:H-) üzerinde yeşil çay kateşinleri ile siprofloksasinin in vivo etkisini mikrobiyolojik ve histolojik olarak araştırmışlardır. Oluşturulan dört farklı rat grubundan alınan mikrobiyolojik ve histolojik örneklerinden siprofloksasin ile kateşinlerin verildiği grupta bakteri oranının anlamlı bir şekilde azaldığını ve sonuç olarak da kateşinlerin siprofloksasin kombinasyon tedavisinin sinerjik etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yine bir başka çalışmada Jazani ve ark.<sup>239</sup> 2007 yılında yaptıkları çalışmada idrar örneklerinden elde edilen *E. coli* bakterinleri üzerinde yeşil çay ekstraktı ile siprofloksasinin kombinasyonunun sinerjik etkisi araştırılmış ve sonuç olarak belirgin bir şekilde sinerjik etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Araghizadeh ve ark.<sup>200</sup> 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada 20'şer karyojenik ve periodontopatik bakterileri üzerinde yeşil çay ekstraktının antimikrobiyal etkisi disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmış ve sonuç olarak *S. mutans*, *A. aktinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* ve *P. intermedia* bakteri üzerinde başta *S. mutans* olmak üzere güçlü bir antimikrobiyal aktivite gözlemlendiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada Cui ve ark. 2011 yılında yeşil çay kateşini olan Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)'nin gram pozitif ve gram negatif bakterilerin hücre zarfları üzerindeki etkilerini araştırmış ve sonuç olarak *Staphylococcus aureus*, *E. coli* (O157:H7), *Streptococcus mutans* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin hücre zarflarının lizise uğradığını tespit etmiştir. Yine Erbil ve ark.<sup>240</sup> 2013 yılında yaptıkları çalışmada yeşil çay yapraklarından elde edilen sulu ekstraktların stafilokok türleri üzerine antimikrobiyal etkileri ve bazı bakteriler ile sinerjik etkilerini incelenmiştir. Çalışmada

Streptomisin, Sefalosforin, Ampisilin ve Penisilin G antibiyotikleri ve *Staphylococcus sciuri*, *S. auricularis*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. hemoliticus* ve *S. xylosus* bakterileri türlerinden birer klinik izolat kullanılmıştır. Sonuç olarak yeşil çay ekstraktının tüm antibiyotiklerle sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir. Kono ve ark.<sup>241</sup> 1997 yılında yaptığı bir çalışmada 71 mide ülseri olan hastadan elde ettikleri *Helicobacter pylori* bakterisi üzerinde yeşil çayın polifenollerinden biri olan epigallokateşin gallat (EGCG)'ın antibakteriyel aktivitesi araştırılmış ve belirgin bir düzeyde bir etki tespit etmişlerdir.

Bakteriyel çalışmaların yanında aynı zamanda literatürde viral ve fungal enfeksiyonların tedavisinde de yeşil çayın etkinliğini değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır. Son zamanlarda yeni anti-viral moleküller arayan üç bağımsız grup (Ciesek ve ark., 2011; Calland ve ark., 2012; Chen ve ark., 2012) yeşil çay kateşinlerinden biri olan EGCG'nin Hepatit C Virus (HCV) giriş yolunun güçlü bir inhibitörü olduğunu bulmuşlardır.<sup>242-244</sup> Yeşil çayın ve kateşinlerinin viral çalışmaları sadece HCV ile sınırlı olmamakla buna ek olarak HIV-1, Hepatit B Virus (HBV), HSV-1/HSV-2, EBV, Adebovirüs, İnfluenza virüsü ve Enterovirüs üzerinde de yeşil çayın anti-viral etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur.<sup>245-251</sup> Yeşil çay ve kateşinleri ile yapılan bir çok in-vitro anti-fungal çalışma mevcuttur bunlara örnek olarak; Pappas ve ark.<sup>252</sup> 2009 *Candida spp.*, Okubo ve ark.<sup>253</sup> 1991 *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Cryptococcus neoformans* gösterilebilir. Ayrıca Park ve ark.<sup>254</sup> 2006 yılında *C. albicans* maya mantarı üzerinde yaptıkları çalışmada amfoterisin B ve flukonazol anti-fungalleri ile yeşil çay kateşini olan EGCG'nin sinerjik etkisine bakılmış sonuç olarak aditif ve sinerjik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalar yeşil çay ile bazı antibiyotiklerin farklı bakteri türleri üzerinde özellikle de *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakteri türlerinde sinerjik etki gösterdiğini bildirmiştir. Yeşil çay kateşinleri  $\beta$ -laktamlarla, tetrasiklin ve florokinonlarla beraber sinerjik etki göstermektedir.<sup>23, 255</sup>

Yeşil çayın MRSA izolatlarına karşı olan etkinliğini araştıran çalışmalarda ise yeşil çay hem tek başına hem de çeşitli antibiyotiklerle kombine edilerek sinerjik etkinlik açısından değerlendirmiştir. Abaza ve ark.<sup>256</sup> 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada nazal taşıyıcılığı olan kişilerden elde ettikleri 81 MRSA izolatında yeşil çay etkinliğini disk difüzyon yöntemiyle araştırmış ve yeşil çayın izolatların %55'inde güçlü (zon çapı >20mm) %45'nde orta derecede (zon çapı 16-20 mm) etkinlik gösterdiğini tespit etmişleridir. Mahmoud ve ark.<sup>257</sup> 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada MRSA izolatları üzerinde yeşil çay kateşinlerinin bazı antibiyotiklerle sinerjik etkisine bakmışlardır. Çalışmada 90 MRSA izolatından 57 (%83)'sinde EGCG için MİK değerinin 64-256 µg/ml aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca siprofloksasin ile EGCG kateşininin MRSA izolatlarından üzerinde sinerjik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yine Radji ve ark.'nın<sup>21</sup> 2013'te yaptıkları bir çalışmada bir MRSA izolatını bir MSSA standart izolatu ile karşılaştırarak yeşil çay etkinliği disk difüzyon yöntemi ve BMD yöntemiyle araştırılmış, yeşil çay zon çaplarının ve MİK değerlerinin çalışılan MRSA ve standart MSSA izolatında birbirine yakın değerlerde olduğunu tespit etmişleridir. Bizim çalışmamızda da MRSA izolatlarında yeşil çay MİK değeri BMD yöntemiyle çalışılmış ve MİK50, MİK90 değeri sırasıyla 64 mg/ml ve 128 mg/ml şeklinde bulunmuştur. Abascal ve Yarnell'in<sup>258</sup> 2002 yılında yaptıkları çalışmada, *C. sinensis*'in metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) dahil olmak üzere birçok patojenik mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite açısından ciddi potansiyel faydalara sahip olduğunu ve özellikle β-laktam antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında sinerjik etkisinin var olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar önceki yapılan benzeri çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Bizim çalışmamızda da yeşil çayın MRSA izolatlarında siprofloksasin ile sinerjik etkisi dama tahtası yöntemiyle test edilmiştir. Elde ettiğimiz MİK değerlerine göre yeşil

çayın siprofloksasin FİK indeksine göre sinerjik etki değerlendirildiğinde 54 izolatın 18'inde (%33.3) etkisiz olduğu görüldüğü, 17'sinde (%31.5) aditif, 19'unda (%35.2) sinerjik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca Ortalama  $\Sigma$ FİK değerine göre ( $\Sigma$  FİK: 0,74) yeşil çayın siprofloksasine etkisinin izolatlarda aditif olduğu tespit edilmiştir.

Yeşil çayın stafilocoklardaki PBP2'nin sentezini ve beta laktamaz salınımını inhibe etmek suretiyle anti-stafilokokal etki gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca MRSA'nın tedavisinde yeni bir yaklaşım olduğu söylenebilir.<sup>259</sup>

Peng ve ark. HPCL yöntemi kullanılarak yeşil çaydaki miktarı ortaya konulan kateşinlerin stafilocoklarda beta-laktam antibiyotiklere olan direnç gelişimini saptamışlardır. Bu amaçla ampisilin, sefazolin, amoksisilin, oksasilin tek başına ve çay özütünün bu antibiyotiklerle kombinasyonları hazırlanmış ve çay özütü ile amoksisilin haricindeki diğer antibiyotiklerin sinerjik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Hatta çay özütünün amoksisilinle birlikte kullanılması durumunda amoksisilin MİK değerinin yükseldiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak amoksisilin tedavisi alan kişilerin tedavileri sırasında beraber antibiyotikleri aldıkları zaman yeşil çay içmemelerini önermişlerdir.<sup>260</sup>

Yapılan benzeri başka çalışmalarda yeşil çayın MRSA izolatlarında beta laktam antibiyotiklerin MİK değerini düşürdüğü de gösterilmiştir. Cho ve ark.'nın<sup>232</sup> 2008'de yaptıkları bir çalışmada 17 MRSA izolatında yeşil çay polifenollerinin MRSA izolatlarında oksasilin MİK değerini düşürdüğünü belirlemişlerdir. Yani bu çalışmada *S. aureus* suşunda oksasilin kullanarak MİK değerini araştırmış ve 30 suşun 13'nü MRSA olarak saptamıştır. 13 suşun duyarlılığını yeşil çay ve oksasilin birlikte kullanılmak suretiyle yaptığı çalışmada ise MİK değerlerinin 1/8 ila 1/128 arasında düşüşe neden olduğunu saptamıştır. Bu sonuçlara dayanarak yazarlar çay polifenollerinin bakteride bulunan çeşitli proteinlerin ekspresyonunu uyardığını ve oksasilinin bakterisidal aktivitesine sinerjik etki yaptığını belirtmişlerdir.

Birçok çalışmada bildirilmiş olan farklı sinerji oranları ortaya çıkmasının sebebi literatür araştırmalarından anlaşılmaktadır. Örneğin dama tahtası dilüsyon yöntemi, standart bir uygulama yöntemi gibi görölse de yapılmış olan çalışmalara bakıldığında FİK değerleri hesaplanırken seğilen kuyucuk ve FİK değerleri indeksi hesaplandıktan sonra etkileşim türünü belirlemek için kullanılan sınır değerleri bakımından farklılık olduğunu göstermektedir.<sup>261</sup>

Ülkemizde yapılan sinerji yayınları kontrol edildiğinde görölmüştür ki, araştırmacıların büyük bir kısmının yayınlarda uygulaması daha kolay ve az zahmetli bir yöntem olması sebebiyle, genellikle sinerji çalışmalarında E-test yöntemini tercih etmişlerdir.<sup>262</sup> Dama tahtası yönteminin kullanıldığı yayınlarda oldukça sınırlıdır genellikle araştırmacılar sinerji tanımlaması için kullandıkları sınır değerlerini bildirirler de, dama tahtası plağını yorumlamada hangi yöntemi kullandıklarını net bir şekilde açıklamamaktadırlar. Kullanılan mevcut yöntemler haricinde, test edilen izolatlarla bağlı olarak da sinerjik aktivite oranlarının değişiklik gösterebileceği unutulmamalıdır.

Çoklu ilaç direnci *S. aureus* kaynaklı enfeksiyonu bulunan hastaların tedavisinde daha önce yapılmış in-vitro çalışmaları ışığında etkili olabilecek kombinasyonlar ampirik olarak tercih edilebilir. Bununla birlikte, izolatın test edilen antimikrobiyal ajana yüksek direnç veya duyarlılık göstermesi, sinerjik aktiviteyi değiştirebilmektedir. Bundan dolayı kullanılan kombinasyonun hastadan izole edilen suşa etkinliğinin sinerji testleri ile belirlenmesi kritik öneme sahiptir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerinden gönderilen örneklerden izole edilen MRSA izolatlarında yeşil çay bitkisinin tek başına etkinliği ile birlikte siprofloksasin ile meydana getirdiği sinerji durumu araştırılmıştır.

Metisilin dirençli *S. aureus* suşlarının sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlarla karşı karşıya olduğumuz bir gerçektir. Klinik kullanıma yeni giren ve girme umudu olan antibiyotiklerin oldukça az olması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu amaçla kombine antibiyotik kullanımı, hem daha etkin sonuç almak, hem de direnç oranlarını düşürmek açısından doğru bir strateji olabilir. Tedavi yönteminin belirlenmesinde, in-vivo kullanımlara yol gösterici olması açısından in-vitro araştırmaların önemli bir veri sağlayacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamızda yeşil çay ve siprofloksasin kombinasyonu için elde ettiğimiz %31,5'lik kısmi sinerji(aditif) ve %33,3'lük etkileşimin görülmediği suşlar dikkate alındığında, yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler sonucunda aşağıdaki önerilerde bulunabiliriz:

1. Gereksiz ve uygun olmayan antibiyotik kullanımını direnç gelişimini artırdığından ve her hastanede görülen direnç profilinin farklı olması sebebiyle hastaneler kendi antibiyotik kullanım stratejisini oluşturmalı ve buna titizlikle uyulmalıdır.
2. Direnç gelişimi önleme açısından kombine antibiyotik kullanımının önemli bir alternatif olduğu her zaman göz önünde tutulmalı ve MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların uygun ve başarılı tedavisi için daha fazla suşla ve farklı antibiyotik kombinasyonları ile daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.
3. Tüm in-vitro çalışmaların in-vivo ortamı yansıtmadığı bilinmektedir.

Dolayısıyla in-vitro çalışmalardan elde edilen veriler ışığında in-vivo çalışmalar yapılmalıdır.





## KAYNAKLAR

1. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*. Baskı. Nobel Tıp, 2008.
2. Jevons MP, Coe A, Parker M. Methicillin resistance in staphylococci. *The Lancet*, 1963, 281: 904-907.
3. Campanile F, Bongiorno D, Borbone S, Stefani S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* evolution: the multiple facets of an old pathogen. *Eur Infect Dis*, 2010, 4: 70-76.
4. Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. *Int J Infect Dis*, 2010, 14: S19-S22.
5. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 339: 520-532.
6. Balows A. *Hausler WJ Herman KL et al*. Baskı. 1991.
7. Öztürk R, Midilli K, Ergin S, Aygün GCT, Cerrahpaşa T. Tıp Fakültesi'nde yatan hastalardan izole edilen stafilocokların antimikrobik maddelere duyarlılıkları. *Ankem Derg*, 1996, 10: 48-51.
8. Acar J, Goldstein F. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 1997, 24: S67-S73.
9. Anderson L. Antibiotics Guide. <https://www.drugs.com/article/antibiotics.html>. 15.04.2018.
10. Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1997, 61: 377-392.
11. Hooper DC. New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clin Infect Dis*, 2000, 30: 243-254.
12. Abut Lİ, Durmaz B, Tekerekoğlu MS, Taştekin N. Yatan Hastalardan İzole Edilen Stafilocokların Florokinolonlara Direnci. *J Turgut Ozal Med Cent.*, 2001, 8.

13. Goldstein FW, Acar J. Epidemiology of quinolone resistance: Europe and North and South America. *Drugs*, 1995, 49: 36-42.
14. Turnidge J. Epidemiology of quinolone resistance. *Drugs*, 1995, 49: 43-47.
15. Frost J, Kelleher A, Rowe B. Increasing ciprofloxacin resistance in salmonellas in England and Wales 1991–1994. *J Antimicrob Chemother*, 1996, 37: 85-91.
16. Özyurt M, Albay A, Yıldırğan ŞT, Saraçlı MA. KISA Ö, GÜN H. Hastane İnfeksiyonlarından İzole Edilen MRSA Suşlarında Siprofloksasin ve Çoklu Antibiyotik Direnci. [http://www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/managete/fu\\_folder/1999-01/html/1999-3-1-055-061.htm](http://www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/managete/fu_folder/1999-01/html/1999-3-1-055-061.htm). 20.05.2018.
17. Gunal E EH. Kinolonlar. *İç Hastalıkları Derg.*, 2014, 21: 69-85.
18. Rios J, Recio M. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*, 2005, 100: 80-84.
19. Nitta T, Arai T, Takamatsu H, Inatomi Y, Murata H, Iinuma M, Tanaka T, Ito T, Asai F, Ibrahim I. Antibacterial activity of extracts prepared from tropical and subtropical plants on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Jor Health Sci*, 2002, 48: 273-276.
20. Cabrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea—a review. *J Am Coll Nutr*, 2006, 25: 79-99.
21. Radji M, Agustama RA, Elya B, Tjampakasari CR. Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2013, 3: 663-667.
22. Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci*, 2006, 78: 2073-2080.
23. Isogai E, Isogai H, Hirose K, Hayashi S, Oguma K. In vivo synergy between green

- tea extract and levofloxacin against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection. *Curr Microbiol*, 2001, 42: 248-251.
24. Tiwari R, Bharti S, Kaur H, Dikshit R, Hoondal G. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. *Indian J Med Res*, 2005, 122: 80.
  25. Lee YS, Han CH, Kang SH, LEE SJ, Kim SW, Shin OR, SIM YC, LEE SJ, CHO YH. Synergistic effect between catechin and ciprofloxacin on chronic bacterial prostatitis rat model. *Int J Urol*, 2005, 12: 383-389.
  26. Kim S, Ruengwilysup C, Fung D. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on foodborne pathogens in laboratory medium and in a food model. *J Food Prot*, 2004, 67: 2608-2612.
  27. Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27: 1965-1969.
  28. Shibata H, Kondo K, Katsuyama R, Kawazoe K, Sato Y, Murakami K, Takaishi Y, Arakaki N, Higuti T. Alkyl gallates, intensifiers of  $\beta$ -lactam susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49: 549-555.
  29. Moody J. Susceptibility tests to evaluate synergism. In Isenberg HD, *Clinical microbiology procedures handbook*, 2<sup>th</sup> ed. Washington, DC, ASM Press, 2004, 267.
  30. Haddad F, Horn K, Carbonaro C, Aguerro-Rosenfeld M, Wormser G. Evaluation of antibiotic combinations against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* using the E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005, 24: 577-579.
  31. Llarrull LI, Testero SA, Fisher JF, Mobashery S. The future of the beta-lactams. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13: 551-557.

32. Şardan YÇ. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hastan İnfeks Derg*, 2000, 4: 205-217.
33. Boyce J, Jackson M, Pugliese G, Batt M, Fleming D, Garner J. collaborateurs. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A briefing for acute care hospitals and nursing facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1994, 5: 105-115.
34. Parisi JT. Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiol Rev*, 1985, 49: 126.
35. Bekker JH. The plasma coagulation reaction. Studies on Staphylococci. In: *Antonie van Leeuwenhoek*. Nederland, Rijks Instituut voor de Volksgezondheid at Utrecht, 1946: 63-66.
36. Yavari SA. Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilocok suşlarının koagülaz özelliğinin tavşan ve insan plazması ile denenmesi ve aynı suşların penisilinaz aktivitesi ile metisilin dirençlilik oranı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 1992.
37. Cengiz A, Mısırlıgil A, Aydın M. *Tıp ve Dişhekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Güneş Kitapevi, Ankara, 2004: 17-57.
38. Ustaçelebi Ş. *Temel ve klinik mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, 1999.
39. Kayaalp SO. *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 10. Baskı. Ankara, Hacettepe Taş Kitapçılık, 2002: 547-561.
40. Dündar V. Metisiline dirençli stafilocok infeksiyonları. *Klimik Derg*, 2000, 13: 26-27.
41. Prevention C. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin: United States, 2002. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 2002, 51: 565.
42. Ayliffe G. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, 1997, 24: S74-S79.

43. Duckworth G, Lothian J, Williams J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: report of an outbreak in a London teaching hospital. *J Hosp Infect*, 1988, 11: 1-15.
44. Öksüz L, Gürler N. Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisiline Dirençli Stafilokok Suşlarının Son Yillarda Kullanıma Giren Antibiyotiklere İn-Vitro Duyarlilik Sonuçları. *Ankem Derg*, 2009, 23: 71-77.
45. Ogston A. Micrococcus poisoning. *J Anat Physiol*, 1882, 16: 526.
46. Ogston A. On abscesses. *Rev Infect Dis*, 1984, 6: 122-128.
47. Rainey FA, Whitman WB, Krieg NR, Garrity GM, Vos P, Schleifer K-H, Jones D, Ludwig W. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Three The Firmicutes*, 2<sup>th</sup> ed. New York, Springer, 2009: 1450.
48. Winn WC, Koneman EW. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 574-576.
49. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey WR, Streptococcus, Enterococcus, and similar organisms. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12<sup>th</sup> ed. United States, St. Louis, Mo. : Elsevier Mosby, 2007: 265-280.
50. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. *Asya Mikrobiyoloji*. 4. Baskı. İzmir, Asya Tıp Kitapevi, 2005: 54.
51. Harris LG, Richards RG. Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury*, 2006, 37: 3-14.
52. Winn WC, Allen S, Janda W, Koneman EW , Schreckenberger P, Propcop G, Woods G. The gram-positive cocci: Part I: Staphylococci and related organism. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6<sup>th</sup> ed. Baltimore, 2006: 623-671.
53. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. *Temel ve klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı. Ankara, Güneş Kitapevi, 1999: 571.

54. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock), In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5.<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000, 2069-2099.
55. Aydın N, İzgür M, Diker K, Yardımcı H, Esenal Ö, Paracıkoğlu J, Akan M. *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, 1. Baskı. Ankara, İlke Emek Yayınları, 2006: 53-55.
56. Goldman L, Ausiello DA. *Cecil medicine*. 24<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2008:431.
57. Kutlu S. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci ve E-Test İle vankomisin MIC değerlerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, TC Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, 2006.
58. Kloos W, Bannerman T. Staphylococci and Micrococcus, In: *Manual of Clinical Microbiology*, 7<sup>th</sup> ed, Washington, D.C, American Society for Microbiology, 1999: 264-282.
59. Bohach GA, Foster TJ. *Staphylococcus aureus* Exotoxins, *Gram Positive Pathogens*, Washington, D.C, American Society for Microbiology, 2000: 367-378.
60. Höök M, Foster TJ. *Staphylococcal surface proteins, Gram-positive pathogens*, Washington, DC, American Society for Microbiology Press, 2000: 386-391.
61. Güleroglu S, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş, Metisiline dirençli stafilokoklarda vankomisin, teikoplanin ve fusidik asit direncinin mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. *Ankem Derg*, 2002, 16(4): 457-462.
62. Branger C, Goulet P, Boutonnier A, Fournier J. Correlation between esterase electrophoretic types and capsular polysaccharide types 5 and 8 among methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J Clin*

- Microbiol*, 1990, 28: 150-151.
63. Dündar V, Öztürk Dündar D. *Stafilokok enfeksiyonları*. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 1507-1516.
64. Joklik W, Willett H, Amos D, Wilfert C, *Microbiology Z. Appleton & Lange*, 20<sup>th</sup> ed. Norwalk, Conn: Appleton & Lange, 1992: 401-416.
65. Winn WC, Allen S, Janda W, Koneman EW , Schreckenberger P, Propcop G, Woods G. Gram-positive cocci part II: streptococci, enterococci, and the “streptococcus-like” bacteria. *Konemans’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore, 2006: 623-671.
66. Megan Simmer. Prescription Antibiotics–How Exactly Do These Drugs Work. <http://www.scq.ubc.ca/prescriptionantibiotics-how-exactly-do-these-drugs-work/>. 08.20.2006.
67. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller A. Stafilokoklar. İçinde: Başustaoğlu AC (çeviri editörü). *Tıbbi mikrobiyoloji*, 6. Baskı. Ankara, Atlas Kitapçılık, 2010: 946-965.
68. Hasbek M, Hakgüden Y, Kaya S, Bakıcı Z. Stafilokoklarda metisilin direncinin farklı yöntemlerle belirlenmesi ve çoğul antibiyotik direnci. *Cumhuriyet Tıp Derg*, 2002, 24: 179-184.
69. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji) Enfeksiyonları*. 10 Baskı. İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000: 199-204.
70. Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 585-596.
71. Akan M. *Staphylococcus* enfeksiyonları. İçinde: Aydın N, Paracıkoğlu J (editörler). *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, Ankara, İlke-Emek Yayınları,

- 2006: 332.
72. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller A. Staphylococcus and Related Organisms, *In: Medical Microbiology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005: 221-236.
  73. Albus A, Arbeit R, Lee J. Virulence of *Staphylococcus aureus* mutants altered in type 5 capsule production. *Infect immun*, 1991, 59: 1008-1014.
  74. Winn WC, Allen S, Janda W, Koneman EW , Schreckenberger P, Procop G, Woods G. Gram-positive cocci part II: streptococci, enterococci, and the “streptococcus-like” bacteria. *Konemans’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore, 2006: 856-961.
  75. Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 539-576.
  76. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller A. Stafilokoklar. İçinde: Başustaoğlu AC (çeviri editörü). *Tıbbi mikrobiyoloji*, 6. Baskı. Ankara, Atlas Kitapçılık, 2010: 209-223.
  77. Cengiz AT. *Staphylococcus*. İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999: 339-347.
  78. Karahan M. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen Streptokok ve Stafilokok etkenlerinde genetik polimorfizmin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi 2005.
  79. Tünger A. *Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji*, 1. Baskı. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004.
  80. Gri G, Frossi B, D'Inca F, Danelli L, Betto E, Mion F, Sibilano R, Pucillo C. Mast cell: an emerging partner in immune interaction. *Front. Immunol*, 2012, 3: 120.
  81. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol*, 2000, 61: 1-10.



82. Plano LR. *Staphylococcus aureus* exfoliative toxins: How they cause disease. *J Invest Dermatol*, 2004, 122: 1070-1077.
83. Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane S, Oono T. Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression. *J Dermatol Sci*, 2006, 42: 203-214.
84. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, and Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of clinical microbiology*, 8<sup>th</sup> ed. Washington, DC, American Society for Microbiology Press, 2003: 384-404.
85. Gillespie S, Hawkey PM. *Principles and practice of clinical bacteriology*. 2<sup>th</sup> ed. England, John Wiley & Sons, 2006.
86. Arvidson S. Extracellular enzymes. İçinde: *Gram-Positive Pathogens*, Second Baskı. Washington, American Society of Microbiology, 2006: 379-384.
87. Bilgehan H. *Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları*. 2 Baskı Baskı. İzmir, Barış Yayınları, 1994.
88. Mahon C. *Streptococcus*. 3rd ed Baskı. Missouri, Saunders Elsevier; St. Louis, 2007.
89. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 4. Baskı. İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2004: 495-506.
90. Wayne P. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth informational supplement, M100-S24. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, 2014, 34.
91. Başustaoğlu AC. Klinik Mikrobiyoloji (*Manual Of Clinical Microbiology*), 9. Baskı. Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009: 309-404.
92. Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, Wren MW. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemother*,

- 2005, 56: 1000-1018.
93. Ünal S. *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus (MRSA)*. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008: 3-36.
  94. Ünal S, Aşçıoğlu SA, Çetinkaya Y. Enfeksiyon Hastalıkları. İçinde: Saraçoğlu ÖF (editör) *Temel ve Klinik Bilimler*. 2. baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, 1996: 1-41.
  95. Gaye Ü. Dermatolojik Aciller. *Cerrahpaşa Tıp Derg*, 2002, 33: 132-137.
  96. Dündar V., Öztürk Dündar D. Stafilokok İnfeksiyonları. İçinde: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri, 2002: 1507-1517.
  97. Bremer P, Fletcher G, Osborne C. *Staphylococcus aureus*. Christchurch , New Zealand : New Zealand Inst. for Crop and Research Limited, 2004: 1-8.
  98. Willcox P, Rayner B, Whitelaw D. Community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia in patients who do not abuse intravenous drugs. *QJM*, 1998, 91: 41-47.
  99. Odell CA. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) skin infections. *Curr opin in pediatr*, 2010, 22: 273-277.
  100. Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, Tang AW, Phung TO, Spellberg B. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1445-1453.
  101. Fowler VG, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E, Corey GR, Spelman D, Bradley SF, Barsic B. *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *Jama*, 2005, 293: 3012-3021.
  102. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Talan DA. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the

- emergency department. *N Engl J Med*, 2006, 355: 666-674.
103. Barton M, Hawkes M, Moore D, Conly J, Nicolle L, Allen U, Boyd N, Embree J, Van Horne L, Le Saux N. Guidelines for the prevention and management of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A perspective for Canadian health care practitioners. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2006, 17: 4C-24C.
  104. Appelbaum P. MRSA—the tip of the iceberg. *Clin microbiol infect*, 2006, 12: 3-10.
  105. Bogdanovich T, Ednie LM, Shapiro S, Appelbaum PC. Antistaphylococcal activity of ceftobiprole, a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49: 4210-4219.
  106. Brumfitt W, Hamilton-Miller J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *New England journal of medicine*, 1989, 320: 1188-1196.
  107. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44: 1549-1555.
  108. Deurenberg R, Vink C, Kalenic S, Friedrich A, Bruggeman C, Stobberingh E. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin microbiol infect*, 2007, 13: 222-235.
  109. Aksoy DY, Tanriover MD, Unal S. Antimicrobial Resistance: Preventable or Inevitable? İçinde: Gould IM, van der Meer JW (editörler). *Antibiotic policies: fighting resistance*, Berlin, Springer-Verlag, 2008: 113-133.
  110. Eliopoulos G. Antimicrobial agents for treatment of serious infections caused by resistant *Staphylococcus aureus* and enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005, 24: 826-831.

111. Andriole VT. The quinolones: past, present, and future. *Clin Infect Dis*, 2005, 41: S113-S119.
112. Bradbury BJ, Pucci MJ. Recent advances in bacterial topoisomerase inhibitors. *Curr. Opin. Pharmacol*, 2008, 8: 574-581.
113. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56: 463-469.
114. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy M-E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 978.
115. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA, Harriman K, Harrison LH, Lynfield R, Farley MM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl j med*, 2005, 2005: 1436-1444.
116. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, Harrison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *Jama*, 2007, 298: 1763-1771.
117. Johnson MD, Decker CF. Antimicrobial agents in treatment of MRSA infections. *Dis Mon*, 2008, 54: 793-800.
118. Ünal S. MRSA problemi. *Ankem Derg*, 2009, 23(Ek 2): 1-12.
119. Dündar D, Tamer GS. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları: Üç Yıllık Değerlendirme. *Ankem Derg*, 2009, 23: 8-12.
120. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. MRSA. In: Geo JSB, Brooks F, Morse SA (editörler). *Jawetz, Melnick and Alberg's Medical Microbiology*. 22<sup>th</sup> ed. New

- York, McGraw-Hill, 2001: 160-166.
121. Farley JE. Epidemiology, clinical manifestations, and treatment options for skin and soft tissue infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Acad Nurse Pract*, 2008, 20: 85-92.
  122. Stryjewski ME, Chambers HF. Skin and soft-tissue infections caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, 2008, 46: S368-S377.
  123. Tristan A, Ferry T, Durand G, Dauwalder O, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Etienne J. Virulence determinants in community and hospital methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*, 2007, 65: 105-109.
  124. Pan A, Lorenzotti S, Zoncada A. Registered and investigational drugs for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc*, 2008, 3: 10-33.
  125. Freeman-Cook L, Freeman-Cook KD, Alcamo IE, Heymann DL. *Staphylococcus aureus infections*. 1<sup>th</sup> ed. United States, Infobase Publishing , 2006: 26-29.
  126. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin--United States, 1997. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 1997, 46: 765.
  127. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji. İçinde: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (editörler). *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*, 1. Baskı. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 9-22.
  128. Anstead GM, Quinones-Nazario G, Lewis JS. Treatment of infections caused by resistant *Staphylococcus aureus*. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Methods Mol Biol*, 2007: 227-258.
  129. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin*

- Invest*, 2003, 111: 1265.
130. Loffler CA, MacDougall C. Update on prevalence and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*, 2007, 5: 961-981.
  131. Vera-Cabrera L, Gonzalez E, Rendon A, Ocampo-Candiani J, Welsh O, Velazquez-Moreno VM, Choi SH, Molina-Torres C. In vitro activities of DA-7157 and DA-7218 against *Mycobacterium tuberculosis* and *Nocardia brasiliensis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50: 3170-3172.
  132. Brown-Elliott BA, Ward SC, Crist CJ, Mann LB, Wilson RW, Wallace RJ. In vitro activities of linezolid against multiple *Nocardia* species. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45: 1295-1297.
  133. Dryden MS. Linezolid pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical treatment. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66: iv7-iv15.
  134. Torres-Viera C, Dembry L-M. Approaches to vancomycin-resistant enterococci. *Curr Opin Infect Dis*, 2004, 17: 541-547.
  135. Cha R, Grucz RG, Rybak MJ. Daptomycin dose-effect relationship against resistant gram-positive organisms. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47: 1598-1603.
  136. Ünlü M, Vardar-Ünlü G, Yağmuroğlu A, Yıldırım D. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarına tigesiklin etkinliği. *Ankem Derg*, 2009, 23: 13-16.
  137. Schmidt-Ioanas M, de Roux A, Lode H. New antibiotics for the treatment of severe staphylococcal infection in the critically ill patient. *Curr Opin Crit Care*, 2005, 11: 481-486.
  138. Zhanel GG, Lam A, Schweizer F, Thomson K, Walkty A, Rubinstein E, Gin AS, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. Ceftobiprole. *Am. J. Clin. Dermatol*,

- 2008, 9: 245-254.
139. Van Bambeke F, Michot J-m, Van Eldere J, Tulkens P. Quinolones in 2005. *Clin Microbiol Infect*, 2005, 11: 513.
140. Yılmaz FF, Ermetcan Ş. İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* kökenlerinde florokinolon direncinin araştırılması. *İnfeksiyon Derg*, 2005, 19: 429-433.
141. Tuncay I, Ozbek H, Köşem M, Unal O. A comparison of effects of fluoroquinolones on fracture healing (an experimental study in rats). *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2005, 11(1): 17-22.
142. Moreau NJ, Robaux H, Baron L, Tabary X. Inhibitory effects of quinolones on pro- and eucaryotic DNA topoisomerases I and II. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990, 34: 1955-1960.
143. King DE, Malone R, Lilley SH. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am Fam Physician*, 2000, 61: 2741-2748.
144. Naber KG, Bergman B, Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Lobel B, Cruz FJ, Selvaggi FP. EAU Guidelines for the Management of Urinary and Male Genital Tract Infections1. *Eur Urol*, 2001, 40: 576-588.
145. Leblebicioglu H. Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik Ve Klinik Etkinlik. *Ankem Derg*, 2002, 16: 226-231.
146. Şenol E. Siprofloksasin. *Ankem Derg*, 2002, 16: 382-384.
147. Öztürk R, Tabak F, Mert A, Aygün G, Şahin N, Acicbe Ö, Aktuğlu Y. Antibiyotikler ve Antimikrobiyal Profilaksi. İçinde: İliçin G, Biberçli K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları*. 2. Baskı. Ankara, Günes Kitapevi, 2003: 2891-2893.
148. Nazik H, Öngen B. Türkiye’de plazmit aracılı kinolon direnci. *Ankem Derg*, 2010,

- 24: 46-54.
149. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. *Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler*, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003.
150. Cohen JS, Insel PA. The Physicians' Desk Reference. Problems and possible improvements. *Arch Intern Med*, 1996, 156(13): 1375-1380.
151. Torniainen K, Tammilehto S, Ulvi V. The effect of pH, buffer type and drug concentration on the photodegradation of ciprofloxacin. *Int. J. Pharm*, 1996, 132: 53-61.
152. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. Ciprofloksacin biochemical structure (2D). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ciprofloxacin#section=Top>. 19 Ağustos 2017.
153. Gür D. Gram-Negatif Bakterilerde Antibakteriyel Direnç Mekanizmaları. İçinde: Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D (editörler). *Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları*, 1. Baskı. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2012: 69-78.
154. Öktem İ, Biçmen M, Gülay Z. Kan kültürlerinden soyutlanan *Enterobacteriaceae* izolatlarında plazmid ile ilişkili kinolon direnci genlerinin saptanması, 8. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 2016: 2-4.
155. Oktem IMA, Gulay Z, Biçmen M, Gur D, Group HPS. qnrA prevalence in extended-spectrum beta-lactamase-positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis*, 2008, 61: 13.
156. Nazik H, Ongen B, Kuvat N. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among isolates obtained in a Turkish intensive care unit. *Jpn J Infect Dis*, 2008, 61: 310-312.
157. The European Union (EU) and European Economic Area (EEA), *Escherichia Coli* florokinolon direnç verileri. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Report%20>



Assets/AER-AMR-2014/E%20coli/percentage-e-coli-resistant-fluoroquinolones-2014.png. 19 Ağustos 2017.

158. Schaeffer AJ. The expanding role of fluoroquinolones. *Am J Med*, 2002, 113: 45-54.
159. Mah FS. New antibiotics for bacterial infections. *Ophthalmol Clin North Am*, 2003, 16: 11-27.
160. Ke T-L, Cagle G, Schlech B, Lorenzetti O, Mattern J. Ocular bioavailability of ciprofloxacin in sustained release formulations. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2001, 17: 555-563.
161. Günal E, Erdem H. Kinolonlar. *İç Hast Derg*. 2014, 21: 69-85.
162. Oliphant CM, Green GM. Quinolones: a comprehensive review. *Am Fam Physician*, 2002, 65: 455-464.
163. Takanishi GC. Quinolone Antibiotics for UTI's. *Women's health in primary care*, 2000, 3: 409-410.
164. Anguita-Alonso P, Rouse MS, Piper KE, Jacofsky DJ, Osmon DR, Patel R. Comparative study of antimicrobial release kinetics from polymethylmethacrylate. *Clin orthop and relat res*, 2006, 445: 239-244.
165. Burkhardt JE, Hill MA, Carlton WW. Morphologic and biochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin. *Toxicol Pathol*, 1992, 20: 246-252.
166. Mont M, Mathur S, Frondoza CG, Hungerford D. The effects of ciprofloxacin on human chondrocytes in cell culture. *Infection*, 1996, 24: 151-155.
167. Kayaalp SO. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2009: 233-238.
168. Sarda L, Saleh-Mghir A, Peker C, Meulemans A, Crémieux A-C, Le Guludec D.

- Evaluation of <sup>99m</sup>Tc-ciprofloxacin scintigraphy in a rabbit model of *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection. *J Nucl Med*, 2002, 43: 239-245.
169. Holtom PD, Pavkovic SA, Bravos PD, Patzakis MJ, Shepherd LE, Frenkel B. Inhibitory effects of the quinolone antibiotics trovafloxacin, ciprofloxacin, and levofloxacin on osteoblastic cells in vitro. *J Orthop Res*, 2000, 18: 721-727.
170. Lorian V. *Antimicrobial combinations*. In: Pillai SK, Moellering Jr RC, Eliopoulos GM (eds). *Antibiotics in laboratory medicine*, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
171. Gülay Z. *Antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkinliğini ölçen testler*. İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu Toplantısı, 1997: 85-100.
172. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41: 223.
173. Bilgehan H. *Klinik mikrobiyolojik tanı*. 3. Baskı. İzmir, Barış yayınları, 2002: 495-520.
174. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with Etest, time-kill, and checkerboard methods. *Diagn microbiol infect dis*, 2000, 38: 43-50.
175. White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40: 1914-1918.
176. Pankey GA, Ashcraft DS. In vitro synergy of ciprofloxacin and gatifloxacin against ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49: 2959-2964.
177. Tsuji BT, Rybak MJ. Etest synergy testing of clinical isolates of *Staphylococcus*

- aureus* demonstrating heterogeneous resistance to vancomycin. *Diagn microbiol infect dis*, 2006, 54: 73-77.
178. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: an update. *J Am Coll Nutr*, 2002, 21: 1-13.
179. Bliss RM. Brewing up the latest tea research. *Agricultural Research*. <http://www.ars.usda.gov/is/AR/archive/sep03/tea0903.pdf>. 21 Mayıs 2018.
180. Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr*, 2003, 133: 3275-3284.
181. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chin med*, 2010, 5: 13.
182. Chen H, Qu Z, Fu L, Dong P, Zhang X. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea. *J Food Sci*, 2009, 74: 469-474.
183. Kacar B. *Çayın biyokimyası ve işleme teknolojisi*. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, 1987.
184. (-)-Catechin, PubChem Compound Database; CID=73160. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/-Catechin#section=Top>. 22 Ekim 2017.
185. Shimizu M, Weinstein IB. Modulation of signal transduction by tea catechins and related phytochemicals. *Mutat Res*, 2005, 591: 147-160.
186. Gerhauser C. Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *Eur J Cancer*, 2005, 41: 1941-1954.
187. Bronner WE, Beecher GR. Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1998, 805: 137-142.

188. Wang HF, Helliwell K, You XQ. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem*, 2000, 68: 115-121.
189. Luczaj W, Skrzydlewska E. Antioxidative properties of black tea. *Prev Med*, 2005, 40: 910-918.
190. Wu CD, Wei GX. Tea as a functional food for oral health. *Nutrition*, 2002, 18: 443-444.
191. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chin Med*, 2010, 5: 13.
192. Schneider C, Segre T. Green tea: potential health benefits. *Am Fam Physician*, 2009, 79: 591-594.
193. Taylor PW, Hamilton-Miller JM, Stapleton PD. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food sci technol bull*, 2005, 2: 71.
194. Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2003, 89-143.
195. Yam T, Shah S, Hamilton-Miller J. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS microbiol lett*, 1997, 152: 169-174.
196. Archana S, Abraham J. Comparative analysis of antimicrobial activity of leaf extracts from fresh green tea, commercial green tea and black tea on pathogens. *J Appl Pharm Sci*, 2011, 1: 149-152.
197. Stoicov C, Saffari R, Houghton J. Green tea inhibits Helicobacter growth in vivo and in vitro. *Int J Antimicro Ag*, 2009, 33: 473-478.
198. Wang Y, Shao S, Xu P, Yang X, Qian L. Catechin-enriched green tea extract as a safe and effective agent for antimicrobial and anti-inflammatory treatment. *Afr J*

*Pharm Pharmacol*, 2011, 5: 1452-1461.

199. Fassina G, Buffa A, Benelli R, Varnier OE, Noonan DM, Albini A. Polyphenolic antioxidant (–)-epigallocatechin-3-gallate from green tea as a candidate anti-HIV agent. *Aids*, 2002, 16: 939-941.
200. Araghizadeh A, Kohanteb J, Fani MM. Inhibitory activity of green tea (*Camellia sinensis*) extract on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. *Med Princ Pract*, 2013, 22: 368-372.
201. Hara K, Ohara M, Hayashi I, Hino T, Nishimura R, Iwasaki Y, Ogawa T, Ohyama Y, Sugiyama M, Amano H. The green tea polyphenol (–)-epigallocatechin gallate precipitates salivary proteins including alpha-amylase: biochemical implications for oral health. *Eur J Oral Sci*, 2012, 120: 132-139.
202. Toda M, Okubo S, Ohnishi R, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. *Nippon saikingaku zasshi*, 1989, 44: 669-672.
203. Naderi NJ, Niakan M, Fard MK, Zardi S. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on streptococcus mutans: an in vitro study. *J Dent*, 2011, 8: 55.
204. Xu X, Zhou XD, Wu CD. The tea catechin epigallocatechin gallate suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55: 1229-1236.
205. Zhang J, Kashket S. Inhibition of salivary amylase by black and green teas and their effects on the intraoral hydrolysis of starch. *Caries Res*, 1998, 32: 233-238.
206. Ooshima T, Minami T, Matsumoto M, Fujiwara T, Sobue S, Hamada S. Comparison of the cariostatic effects between regimens to administer oolong tea polyphenols in SPF rats. *Caries Res*, 1998, 32: 75-80.
207. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Int J Antimicro Ag*, 2004, 53:

- 225-229.
208. Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, Hara Y, Hamilton-Miller JM, Taylor PW. Modulation of  $\beta$ -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *Int J Antimicro Ag*, 2004, 23: 462-467.
209. Kuroda Y, Hara Y. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutat Res*, 1999, 436: 69-97.
210. Almajano MP, Carbo R, Jiménez JAL, Gordon MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem*, 2008, 108: 55-63.
211. Perumalla A, Hettiarachchy NS. Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Res Int*, 2011, 44:827-839.
212. Coşkun F. Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. <http://teknolojikarastirmalar.com/frmDetayTR.aspx?IDDergi=2&IDIcerik=143>.  
21.05.2018
213. Sakanaka S, Juneja LR, Taniguchi M. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *J Biosci Bioeng*, 2000, 90:81-85.
214. Petti CA, Carroll KC, Reimer LG. Procedures for the Storage of Microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 10<sup>th</sup> ed, Washington, DC, ASM Press, 2011: 124-131.
215. Gulluce M, Agar G, Baris O, Karadayi M, Orhan F, Sahin F. Mutagenic and antimutagenic effects of hexane extract of some *Astragalus* species grown in the eastern Anatolia region of Turkey. *Phytother Res*, 2010, 24: 1014-1018.
216. Moody J. Synergy testing. Broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Isenberg HD (ed). *Clinical microbiology procedures handbook*, 2<sup>th</sup> ed. Washington, DC, ASM Press, 1992:11-14.

217. Akın Özgür F, Bayram A, Balcı İ. Çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kolitsin, polimiksin B ve tigesiklin direncinin saptanmasında disk difüzyon, E test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 2010, 44:203-210.
218. Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Gazi H, Teker A, Özbakkaloğlu B. Metisiline-dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. *İnfeksiyon Derg*, 2007, 21: 187-191.
219. System NNIS. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*, 2004, 32: 470-485.
220. Borg MA, De Kraker M, Scicluna E, van de Sande-Bruinsma N, Tiemersma E, Monen J, Grundmann H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60: 1310-1315.
221. Andes D, Craig W. Cephalosporins, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Elsevier, 2010: 323-339.
222. Smith S, Eng R, Tecson-Tumang F. Ciprofloxacin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections or colonizations. *Antimicrob Agents Chemother*, 1989, 33: 181-184.
223. Westblom TU, Abele B, Blount R, Hyslop DL. Successful oral treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis using ciprofloxacin. *Am j med*, 1988, 85: 884.
224. O'Brien FG, Lim TT, Winnett DC, Coombs GW, Pearson JC, Delgado A, Langevin MJ, Cantore SA, Gonzalez L, Gustafson JE. Survey of methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* strains from two hospitals in El Paso, Texas. *J Clin Microbiol*, 2005, 43: 2969-2972.
225. Delgado A, Riordan JT, Lamichhane-Khadka R, Winnett DC, Jimenez J, Robinson K, O'Brien FG, Cantore SA, Gustafson JE. Hetero-vancomycin-intermediate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a medical center in Las Cruces, New Mexico. *J Clin Microbiol*, 2007, 45: 1325-1329.
226. Hassanzadeh S, Mashhadi R, Yousefi M, Askari E, Saniei M, Pourmand MR. Frequency of efflux pump genes mediating ciprofloxacin and antiseptic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Microb Pathog*, 2017, 111: 71-74.
227. Japoni A, Ziyaeyan M, Jmalidoust M, Farshad S, Alborzi A, Razaatpour N, Badiee P. Antibacterial susceptibility patterns and cross-resistance of methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from the hospitalized patients in Shiraz, Iran. *Braz J Microbiol*, 2010, 41: 567-573.
228. Lamichhane-Khadka R, Cantore SA, Riordan JT, Delgado A, Norman AE, Dueñas S, Zaman S, Horan S, Wilkinson BJ, Gustafson JE. *sarA* inactivation reduces vancomycin-intermediate and ciprofloxacin resistance expression by *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicro Ag*, 2009, 34: 136-141.
229. Küçükateş E, Gültekin N. Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastaların Kan Kültürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları. *Med Bull Haseki*, 2016, 54:2.
230. Yakupoğulları Y, Gündüz A, Özcan M, Doğukan M, Seyrek A, Yılmaz M. *Staphylococcus aureus* suşlarının siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin duyarlılıkları. *Fırat Tıp Derg*, 2006, 11: 045-047.
231. Altoparlak Ü, Uslu H, Kireççi E, Aktaş F. Klinik örneklerden izole edilen



- stafilokoklarda antibiyotik direnci. *Ankem Derg*, 2002, 16: 69-72.
232. Cho YS, Schiller NL, Oh KH. Antibacterial Effects of Green Tea Polyphenols on Clinical Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol*, 2008, 57: 542-546.
233. Amin MU, Khurram M, Khattak B, Khan J. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 59.
234. Chan BCL, Ip M, Lau CBS, Lui SL, Jolivalt C, Ganem-Elbaz C, Litaudon M, Reiner NE, Gong HS, See RH, Fung KP, Leung PC. Synergistic effects of baicalein with ciprofloxacin against NorA over-expressed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and inhibition of MRSA pyruvate kinase. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 767-773.
235. Ibrahim A, Noman Albadani R. Evaluation of the potential nephroprotective and antimicrobial effect of *Camellia sinensis* leaves versus Hibiscus sabdariffa (in vivo and in vitro studies). *Adv in Pharmacological Sci*, 2014, 5.
236. Chou C-C, Lin L-L, Chung K-T. Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. *International journal of food microbiology*, 1999, 48: 125-130.
237. Mustaffa F, Indurkar J, Ismail S, Shah M, Mansor SM. An antimicrobial compound isolated from *Cinnamomum iners* leaves with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 2011, 16: 3037-3047.
238. Skariyachan S, Krishnan RS, Siddapa SB, Salian C, Bora P, Sebastian D. Computer aided screening and evaluation of herbal therapeutics against MRSA infections. *Bioinformation*, 2011, 7: 222.
239. Jazani NH, Zartoshti M, Shahabi S, Yekta Z, Nateghi S. Evaluation of the

- synergetic effect of water soluble extracts of green tea (*Camellia sinensis*) on the activity of ciprofloxacin in urinary isolated *E. coli*. *J Biol Sci*, 2007, 7: 1500-1503.
240. Erbil N, Digrak M. Antibacterial and Sinergistic Effects of Green and Black Tea (*Camellia sinensis*) Extracts whit Some Antibiotics. *J Selcuk Univ Nat Appl Sci*, 2013, 2: 18-27.
241. Kono K, Tatara I, Takeda S, Arakawa K, Shirotani T, Okada M, Hara Y. Antibacterial activity of epigallocatechin gallate against *Helicobacter pylori*: Synergistic effect with Plaunotol. *J Infect Chemother*, 1997, 3: 170-172.
242. Ciesek S, von Hahn T, Colpitts CC, Schang LM, Friesland M, Steinmann J, Manns MP, Ott M, Wedemeyer H, Meuleman P, Pietschmann T, Steinmann E. The Green Tea Polyphenol, Epigallocatechin-3-Gallate, Inhibits Hepatitis C Virus Entry. *Hepatology*, 2011, 54: 1947-1955.
243. Calland N, Albecka A, Belouzard S, Wychowski C, Duverlie G, Descamps V, Hober D, Dubuisson J, Rouillé Y, Séron K. (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. *Hepatology*, 2012, 55: 720-729.
244. Chen C, Qiu H, Gong J, Liu Q, Xiao H, Chen X-W, Sun B-L, Yang R-G. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits the replication cycle of hepatitis C virus. *Arch virol*, 2012, 157: 1301-1312.
245. Li S, Hattori T, Kodama EN. Epigallocatechin gallate inhibits the HIV reverse transcription step. *Antiviral Chem Chemother*, 2011, 21: 239-243.
246. Xu J, Wang J, Deng F, Hu Z, Wang H. Green tea extract and its major component epigallocatechin gallate inhibits hepatitis B virus in vitro. *Antiviral res*, 2008, 78: 242-249.
247. Isaacs CE, Xu W, Merz G, Hillier S, Rohan L, Wen GY. Digallate dimers of (-)-epigallocatechin gallate inactivate herpes simplex virus. *Antimicrob Agents*

- Chemother*, 2011, 55: 5646-5653.
248. Chang L-K, Wei T-T, Chiu Y-F, Tung C-P, Chuang J-Y, Hung S-K, Li C, Liu S-T. Inhibition of Epstein–Barr virus lytic cycle by (–)-epigallocatechin gallate. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301: 1062-1068.
249. Weber JM, Ruzindana-Umunyana A, Imbeault L, Sircar S. Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. *Antiviral res*, 2003, 58: 167-173.
250. Song J-M, Lee K-H, Seong B-L. Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral res*, 2005, 68: 66-74.
251. Ho HY, Cheng ML, Weng SF, Leu YL, Chiu DTY. Antiviral effect of epigallocatechin gallate on enterovirus 71. *J Agricult Food Chem*, 2009, 57: 6140-6147.
252. Zhou YJ, Li GH. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America [J]. *Chin J Infect and Chemother*, 2009, 3: 004.
253. Okubo S, Sasaki T, Hara Y, Mori F, Shimamura T. Bactericidal and anti-toxin activities of catechin on enterohemorrhagic Escherichia coli. *Kansenshogaku zasshi*, 1998, 72: 211-217.
254. Park BJ, Taguchi H, Kamei K, Matsuzawa T, Hyon S-H, Park J-C. In vitro antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate against clinical isolates of dermatophytes. *Yonsei medical journal*, 2011, 52: 535-538.
255. Roccaro AS, Blanco AR, Giuliano F, Rusciano D, Enea V. Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 1968-1973.
256. Abaza AF, Mohamed ON, El-Fiky FK, Ahmed KA. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and the effect of tea extracts on isolates. *J Egypt*

- Public Health Assoc*, 2016, 91: 135-143.
257. Mahmoud M, Alkhaleefah F, Sherif DM. Antimicrobial effects of epigallocatechin gallate and epicatechins of green tea on planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus aureus*, including MRSA. *Nat. Sci*, 2013, 11: 70-79.
258. Abascal K, Yarnell E. Herbs and drug resistance: Part 1—Herbs and microbial resistance to antibiotics. *Alternative and Complementary Therapies*, 2002, 8: 237-241.
259. Yam TS, Hamilton-Miller JMT, Shah S. The effect of a component of tea (*Camellia sinensis*) on methicillin resistance, PBP2 ' synthesis, and beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 42: 211-216.
260. Peng Q, Huang YC, Hou B, Hua DX, Yao F, Qian YS. Green Tea Extract Weakens the Antibacterial Effect of Amoxicillin in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infected Mice. *Phytother Res*, 2010, 24: 141-145.
261. Dama Tahtası Sinerji Testi Sonuçlarının Farklı Yöntemlerle Değerlendirilmesi. [http://www.mikrobiyobul.org/managete/fu\\_folder/2012-03/html/2012-46-3-410-420.htm](http://www.mikrobiyobul.org/managete/fu_folder/2012-03/html/2012-46-3-410-420.htm). 20.05.2018
262. Özseven AG, Sesli Çetin E, Özseven L. Dama tahtası sinerji testi sonuçlarının farklı yöntemlerle yorumlanması sonuçlarımızı etkiliyor mu. *Mikrobiyol Bul*, 2012, 46: 410-420.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
<b>Adı Soyadı:</b>	Yalçın DİCLE
<b>Doğum Tarihi:</b>	28.02.1984
<b>Doğum Yeri:</b>	Van
<b>Medeni Hali:</b>	Evli, 1 Çocuk
<b>Uyruğu:</b>	T.C.
<b>Adres:</b>	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
<b>Tel:</b>	0 543 228 01 02
<b>Faks:</b>	0 449 236 00 00
<b>E-mail:</b>	yalcindicle@hotmail.com
Eğitim	
<b>Lise:</b>	Atatürk Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2002)
<b>Lisans:</b>	Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi (2005-2009)
<b>Yüksek Lisans:</b>	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2009-2011)
<b>Doktora:</b>	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2012-2018)
Yabancı Dil Bilgisi	
<b>İngilizce:</b>	Orta derecede (ÜDS 60.00, Aralık 2010)
<b>Almanca:</b>	
<b>Rusça:</b>	Orta derecede (180 saatlik kurs sertifikası)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Müzik (Halk ve Sanat Müziği, Enstrüman Çalmak), Doğa Yürüyüşü, Fotoğrafçılık	

## EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



### ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



#### KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Dr.Yalçın DİCLE	
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI	<b>Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus Aureus</i> (Mrsa) Suşlarında Siprofloksasin'in Yeşil Çay ile Sinerjik Etkisinin Dama Tahtası Yöntemiyle Araştırılması</b>	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 7 Karar No: 10	Tarih: 08.12.2016
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi.  Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR  
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Mustafa GÜL  
Üye

Doç.Dr.Hamidullah UYANIK  
Üye

Yrd.Doç.Dr.İlker İNCE  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Zahide KOŞAN  
Üye

Uz.Dr. Sevilay AKALP ÖZMEN  
Üye

Op.Dr.Binali FIRINCI  
Üye

Arş.Gör.Dr.Kamil DURMUŞ  
Üye (Hukukçu)

Emrah MELETLİOĞLU  
Üye