

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI



**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM POZİTİF
BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kemal JENEDİ

Danışman

Prof. Dr. Nizami DURAN

HATAY-2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM POZİTİF
BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kemal JENEDİ

Danışman
Prof. Dr. Nizami DURAN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
11224 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM POZİTİF
BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kemal JENEDİ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 14/07/ 2015 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof Dr Nizami DURAN
Üye : Doç Dr Meryem ÇETİN
Üye : Yrd Doç Dr Meral MİRALOĞLU

Bu tez, Enstitümüz Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Yaşar ERGÜN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, tez konumun seçilmesinde, tez çalışmalarımın yönlendirilmesinde, sonuçların değerlendirilmesinde ve tez yazımı aşamasında büyük katkısı olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Nizami DURAN'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, eğitimimde emeği geçen değerli hocalarım Doç. Dr. Burçin ÖZER, Doç. Dr. Melek İNCİ ve Doç. Dr. Erkan YULA'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince bir arada bulunduğum desteklerini her daim hissettiğim sevgili arkadaşlarım Sibel ELMACIOĞLU, Hayat ASLAN, İpek BOYACIGİL, Dilşad BULANIK, Burcu GÜLKAN, ve yüksek lisans eğitimi alan diğer tüm arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca bugünlere gelmemde önemli pay sahibi olan, her zaman yanımda yer alarak maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem Nesrin JENEDİ, babam Mahmut İhsan JENEDİ, kardeşlerim Sami JENEDİ ve Emre JENEDİ' ye,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Kan kültürlerinin alınması	6
2.2. Santral Kateterden Kan Kültürü Örneklerinin Alınması	7
2.2.1. Bakteriyemi mi Kontaminasyon mu	7
2.3. Gram Boyama Tabanlı Yaklaşım	11
2.4. Gram-pozitif Koklar	12
2.4.1. Staphylococcus aureus	12
2.4.2. Koagülaz-Negatif Stafilkoklar	14
2.4.3. Enterokoklar	15
2.4.4. Viridans Grubu Streptokoklar	17
2.5. Diğer Streptokoklar	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Araç ve Gereçler	21
3.1.1. Araçlar	21
3.1.2. Kimyasal Maddeler	21
3.2. Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon	23
3.3. Kullanılan Besiyerleri, Solüsyonlar ve Biyokimyasal Testler	23
3.3.1. Kanlı agar	23
3.3.2. EMB agar	24
3.3.3. Müller Hinton Agar	24
3.3.4. Katalaz testi	24
3.3.5. Koagülaz testi	24
3.3.6. Triptik Soy Buyyon (Saklama Besiyeri)	25
3.3.7. Fosfat Buffer Tamponu	25
3.4. Genomik DNA Ekstraksiyonu	
3.4.1. Stafilkok Kökenlerinde DNA İzolasyonu	25
3.5. PCR Amplifikasyonu	27
3.5.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi Tekniği ile Görüntülenmesi	34

4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	62

Şekiller Dizini

	Sayfa No
Şekil 3.1. Kanlı Agarda <i>S.aureus</i> İzolatlarının Görünümü.....	23
Şekil 3.2. PCR amplifikasyonunda kullanılan ısı döngü (Thermal cycler, Techne Flexigene, İngiltere) cihazı.	34
Şekil 3.3. Elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD).....	36
Şekil 3.4. Görüntüleme cihazı (Wealtec, Dolphin-View, ABD, UV Transillumunator).....	36
Şekil 4.1. Hastaların yaşlara göre dağılımı	37
Şekil 4.2. İzole edilen etken mikroorganizmaların dağılımı.....	38
Şekil 4.3. Stafilokok suşlarının antibiyotik direnç profilleri	40
Şekil 4.4. <i>S.aureus</i> suşlarının antibiyotik direnç oranları.	41
Şekil 4.5. KNS suşlarının antibiyotik direnç oranları	41
Şekil 4.6. <i>S.aureus</i> izolatlarında <i>mecA</i> , <i>femA</i> , 16SrRNA, <i>ermA</i> , <i>ermC</i> , <i>tetK</i> , <i>tetM</i> , <i>aac(6')/aph(2'')</i> , <i>aph(3')-IIIa</i> , <i>ant(4')-Ia</i> genlerinin varlığı	42
Şekil 4.7. KNS izolatlarında <i>mecA</i> , <i>femA</i> , 16SrRNA, <i>ermA</i> , <i>ermC</i> , <i>tetK</i> , <i>tetM</i> , <i>aac(6')/aph(2'')</i> , <i>aph(3')-IIIa</i> , <i>ant(4')-Ia</i> genlerinin varlığı.....	43
Şekil 4.8. <i>aac(6')/aph(2'')</i> , <i>aph(3')-III</i> , <i>ant(4')-Ia</i> genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü.....	44
Şekil 4.9. <i>ermC</i> , <i>ermA</i> genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü	44
Şekil 4.10. <i>tetK</i> geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü	45
Şekil 4.11. <i>mecA</i> geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü	45

Çizelgeler Dizini

Sayfa No

Çizelge 2.1. Nozokomiyal katatarn ilişkili kan yolu enfeksiyonlarıyla mikrororganizma ilişkisi.....	8
Çizelge 2.2. Bakteriyemide risk faktörleri.....	9
Çizelge 2.3. Gram negatif basil bakteriyemisi risk faktörleri.....	9
Çizelge 2.4. Gerçek bir kan yolu enfeksiyonu mu, kontaminasyon mu?	10
Çizelge 2.5. En sık nozokomiyal kan yolu enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizmalar.	11
Çizelge 2.6. İnfektif endokardit için risk faktörleri.....	17
Çizelge 2.7. Bakteriyemi için primer ve alternatif ampirik antibiyotik seçenekleri.....	18
Çizelge 3.1. <i>S.aureus</i> için, multiplex PCR’da kullanılan primer dizileri ve tahmini boyutları.....	27
Çizelge 3.2. KNS için, multiplex PCR’da kullanılan primer dizileri ve tahmini boyutları.....	28
Çizelge 3.3. <i>aac(6’)/aph(2’)</i> , <i>aph(3’)-IIIa</i> , <i>ant(4’)-Ia</i> gen bölgeleri için PCR karışımları.....	30
Çizelge 3.4. <i>ermA</i> , <i>ermC</i> gen bölgeleri için PCR karışımları.....	30
Çizelge 3.5. <i>tetK</i> , <i>tetM</i> gen bölgeleri için PCR karışımları.....	31
Çizelge 3.6. <i>16Srna</i> , <i>femA</i> gen bölgeleri için PCR karışımları.....	31
Çizelge 3.7. <i>aac(6’)/aph(2’)</i> , <i>aph(3’)-IIIa</i> , <i>ant(4’)-Ia</i> gen bölgeleri için ısı döngüleri.....	32
Çizelge 3.8. <i>ermA</i> , <i>ermC</i> gen bölgeleri için ısı döngüleri.....	32
Çizelge 3.9. <i>tetK</i> , <i>tetM</i> gen bölgeleri için ısı döngüleri.....	33
Çizelge 3.10. <i>16Srna</i> , <i>femA</i> gen bölgeleri için ısı döngüleri.....	33
Çizelge 4.1. <i>S.aureus</i> antibiyotik kökenlerinde MİK değerleri ve direnç oranları.....	39
Çizelge 4.2. Koagülaz negatif stafilokok kökenlerinde MİK değerleri ve antibiyotik direnç oranları.....	39

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

bp	: Baz çifti
BSI	: Kan dolaşımı infeksiyonları
CLSI	: Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü
CR-BSI	: Kateter ilişkili kan dolaşımı infeksiyonları
F	: Forward
HLAR	: Yüksek seviye aminoglikozit direnci
IDSA	: Amerikan infeksiyon hastalıkları derneği
IV	: İntra venöz
İYE	: İdrar yolu infeksiyonu
KNS	: Koagülaz negatif Stafilokok
MRSA	: Metisilin-dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	: Vankomisin-dirençli enterokok
VGS	: Viridans-grubu streptokoklar
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
R	: Reverse
<i>S. aureus</i>	: Staphylococcus aureus
TTE	: Transtrosik ekokardiyogramın
TEE	: Transözofageal ekokardiyogram

ÖZET

Kan Kültürlerinden İzole Edilen Gram Pozitif Bakterilerde Antibiyotik Direnç Profillerinin Araştırılması

Kan dolaşımı enfeksiyonları önemli mortalite ve morbidite nedenlerindedir ve en sık karşılaşılan hastane ilişkili enfeksiyonlar arasındadır. Kan dolaşımı enfeksiyonları ile ilişkili hastalıklar kendi kendini sınırlayan enfeksiyonlardan hızlı ve agresif antimikrobiyal tedavi gerektiren, hayatı tehdit eden sepsise kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Bu çalışmada kan yolu enfeksiyonlarından izole edilen Gram pozitif bakterilerde ilaç direnç profillerinin araştırılması ve stafilokok kökenlerinde ilaç direnç genlerinin frekansının multipleks PCR yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmaya Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi çeşitli servis ve yoğun bakım ünitelerinde 169 pozitif kan kültürü dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 169 hastadan alınan örneklerden % 12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* tespit edilirken, %87.5(148/169)'inde koagülaz negatif stafilokok üremesi tespit edildi. Bu patojenler dışındaki diğer etken Gram pozitif mikroorganizmaların izolasyon oranları; %23.6 (40/169) *S.haemolyticus*, %16.5 (28/169) *S.hominis*, %2.36 (4/169) *S.capitis*, %0.5 (1/169) oranında ise *S.salivarius*, *S.warneri*, *S.lentus*, idi. Çalışmada *S.aureus* kökenlerinde klindamisin %19.0 (4/21), eritromisin %33.3 (7/21), gentamisin %14.3 (3/21), penisilin %83,71 (18/21), tetrasiklin %33.3 (7/21), oksasilin %14.3 (3/21) olarak bulunurken, suşların tamamının vankomisine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Koagülaz negatif stafilokok kökenlerinde ise direnç oranları; oksasilin için; %16.9 (25/148), eritromisin için; %22 (32/148), gentamisin için; %14.9 (22/148), klindamisin için; %14.2 (21/148), tetrasiklin için %38.5 (54/148), penisilin için ise %83,1 (123/148) olarak bulunurken, vankomisin direncine rastlanmadı. Kan kültürlerinden izole edilen 21 *S.aureus*'dan; 21 (%100)'ünün femA, 21 (%100)'ünün 16srRNA, 13 (%62)'ünün *mecA*, 3(%14,3)'ünün ermA, 7(%33,33)'sinin ermC, 4(%19)'ünün tetK, 2(%9,5)'sinin tetM, 4(%19)'ünün *aac(6')/aph(2'')*, 3(%14.3) 'ünün *aph(3')-IIIa* , 2(%9.5) 'sinin *ant(4')-Ia* genleri açısından pozitif olduğu tespit edilirken (Şekil 4.5); 148 KNS'den 28 (%18,9)'ünün *mecA*, 0 (%0)'nın femA, 148 (%100)'ünün 16SrDNA, 49(%33,1)'unun ermC, 21(%14.20) 'inin ermA, 25(%16.9)'ünün tetK, 18(%12.2) 'inin tetM, 22(%14.9) 'sinin *aac(6')/aph(2'')*, 17(%11.5)'sinin *aph(3')-IIIa* , 9(%6,1) 'unun *ant(4')-Ia* genleri açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda Gram pozitif bakteriler arasında kökenlerin çoğunda yüksek oranda ilaç direncine rastlanmış olup, antimikrobiyal direnç tespitinde hızlı ve daha güvenilir yöntemler olan PCR tabanlı yöntemler tercih edilmelidir. Nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi için ilaç dirençli kökenlerin insidansını azaltmada akılcı antibiyotik kullanımına dikkat edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Kan yolu enfeksiyonu. Gram pozitif, bakteri, direnç, PCR.

ABSTRACT

Investigation of Antibiotic Resistance in the profile Gram-positive bacteria isolated from blood cultures

Bloodstream infections are among important cause of mortality and morbidity and the most common health care-associated infections. Diseases associated with bloodstream infections which require antimicrobial treatment of fast and aggressive self-limiting infection can vary from life-threatening sepsis. In this study, we aimed to search drug resistance profile in Gram-positive bacteria which isolated from blood tract infections and investigation of the frequency of drug resistance genes in staphylococci origin by multiplex PCR method. In this study, at Mustafa Kemal University Faculty of Medicine Research and Training Hospital, 169 positive blood culture were included in various services and intensive care units. The samples which were taken from 169 patients were added in the study , in 12.4% (21/169) of the cases Staphylococcus aureus was detected, and at 87.5% (148/169) the growth of coagulase staphylococcus were identified as negative. The isolation rate of Gram-positive microorganisms except of these pathogens; 23.6% (40/169) S.haemolyticus, 16.5% (28/169) S.hominis, 2.36% (4/169) S.capitis, 0.5% (1/169) in the rate S.salivarius, S.warner of S.lentus, respectively. In this study, Clindamycin in S.aureus strains were found 19.0% (4/21), erythromycin, 33.3% (7/21), gentamicin 14.3% (3/21), penicillin 83.71% (18/21), tetracycline 19.0% (4/21), oxacillin 14.3% (3/21) while all of the strains were identified susceptible to vancomycin. In coagulase-negative staphylococci origin the resistance rates were found; for oxacillin; 16.9% (25/148), for erythromycin ; 22% (32/148), for gentamicin ; 14.9% (2/148) for clindamycin; 14.2% (21/148) for tetracycline 14.9% (22/148) and 83.1% for penicillin (123/148) but no evidence were found to vancomycin resistance . In the 21 S. aureus isolated from blood cultures origin by multiplex PCR method, 13(62%) in the mecA, 3 (14.3%) had ermA, 7 (33.3%) patients ermC, 4 (19.0%) of had tetk, 2 (9.5%) had tetm, (19%) patients aac (6 ') / aph (2'), 3 (14.3%) of the aph (3 ') - III, 2 (9.5%) in the ant (4 ') from the gene were found to be positive. In coagulase-negative staphylococci in the study 148 of CNS origin 28 (18.9%) of the mecA, 49 (33.1%) of the ermC, 21 (% 14.2) in the ermA, 25 (16.9%) of the tetk, 18 (% 12.2) patients tetm, 22 (14.9%) were the aac (6 ') / aph (2'), 17 (11.5%) of the aph (3 ') - IIIa, 9 (6.1%) ant (4') it was found to be positive for the genes. In our study, most of the origins of Gram-positive bacteria has been found to have a high rate of drug resistance, for antimicrobial resistance detection in which faster and more reliable PCR-based methods should be preferred. For the prevention of nosocomial infections should pay care to the rational use of antibiotics to reduce the incidence of drug-resistant strains.

Keywords: Blood tract infection. Gram positive bacteria, resistance, PCR

1-GİRİŞ

Kan yolu infeksiyonları dünya çapında önemli ölçüde morbidite ve mortaliteye yol açan en ciddi ve sık görülen hastane ilişkili infeksiyonlardandır (Karlowski ve ark, 2004). Dünyada infeksiyon hastalıklarının tanı, tedavi ve kontrolünde önemli gelişmeler olsa da, gerek gelişmiş ve gerekse de gelişmekte olan ülkelerde infeksiyon hastalıkları hala ciddi bir tehlike olarak karşımıza çıkmaktadır. Kan yolu infeksiyonları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde en önemli mortalite sebebidir (Bhutta ve Yusuf 1997, Orrett ve Shurland 2001).

Bakteriyemi vakaları özellikle dünyanın bazı bölgelerinde dikkate değer ölçüde artış gösterme eğilimindedir (Madsen ve ark. 1999). Kan yolu infeksiyonlarından çok farklı türde mikroorganizma izolasyonu yapılabilmektedir (Reacher ve ark. 2000, Cohen 1997). İzole edilen bu etkenlerin yol açtığı hastalıklara acilen müdahale edilmeli ve antimikrobiyal ilaç tedavisine başlanılmalıdır. Bu tür infeksiyonlara karşı antimikrobiyal ajanların doğru ve akılcı kullanımları bölgedeki yaygın patojenlerin ilaç direnç paternlerinin bilinmesiyle mümkün olabilmektedir (Huang ve ark. 2002).

İlaç direnç profillerini belirlemede günümüzde en çok kullanılan yöntemlerin başında fenotipik yöntemler gelmektedir. Ancak fenotipik yöntemlerin bazı olumsuz veya eksik yönlerinden dolayı direnç profillerinin belirlenmesinde fenotipik yöntemlerden ziyade genotipik yöntemlerin kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Mikroorganizmanın herhangi bir ilaca direnç geni taşıması, genin eksprese olmadığı yani fenotipe yansımadağı sürece bu mikroorganizma o ilaca karşı duyarlıymış gibi tespit edilebilmekte, halbu ki bu direnç genini taşıyan mikroorganizma, taşıdığı direnç genini duyarlı birçok türe çeşitli yollarla kolayca aktararak dirençli kökenlerin yayılmasına yol açabilmektedir. Bu sebeple hastane infeksiyonu etkenlerinin direnç profillerinin belirlenmesinde moleküler tabanlı yöntemlerin kullanılması oldukça önemlidir (Ünal, 1998).

Kan yolu infeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmanın türünün ve hastanın klinik durumu ve hastalığın prognozu ile direkt bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Sözelimi enterokokların ve mantarların kan yolu infeksiyonlarında yüksek mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Karunakaran ve ark. 2007).

Kan kültürlerinde klinik olarak ilişkili mikroorganizmaların hızlıca identifiye edilmesi ve antimikrobiyal tedaviye başlanması son derece önemlidir. Kan yolu infeksiyonlarında antimikrobiyal tedaviye hemen başlanması bu infeksiyonlara bağlı ölüm oranlarını anlamlı derecede azaltmaktadır (Mehta ve ark. 2005).

Kan kültürü pozitif hastalarda bir an önce antimikrobiyal tedaviye başlayabilmek için birçok hastane veya merkezde ampirik antibiyotik tedavi protokolleri belirlenmiştir. Bakteri Gram boyama ile ancak kısmen tanımlanabilmekte, üreme ve duyarlılık sonuçları, kültür pozitif olarak rapor edildikten 24-48 saat sonra alınabilmektedir. Pozitif kan kültürü olan hastalarda gerçek bir bakteri infeksiyonu olabileceği gibi, kontaminasyona bağlı gerçek olmayan durum da söz konusu olabilmektedir. Bakteriyemi, yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğundan, hızlı değerlendirme ve uygun ampirik antibiyotik tedavi büyük önem taşımaktadır (Bearman ve Wenzel 2005).

PCR tabanlı yöntemler infeksiyon hastalıkları ajanlarının tanısını ve direnç panellerinin belirlenmesini saatlerle ifade edilebilecek düzeyde hızlandırabilen yöntemlerdir. Bu yöntemler özellikle Gram pozitif kokların neden olduğu kan yolu infeksiyonlarının tanısında oldukça önemli yöntemlerdendir (Ruimy ve ark. 2008, Tissari ve ark. 2010, Willinghausen ve ark. 2009). Kan kültürlerindeki bakterilerin tespiti için, moleküler yöntemler kolay uygulanabilen hızlı yöntemlerdir (Ruimy ve ark. 2008, Wiesinger ve ark. 2007). Kan yolu infeksiyonlarının tanısında ve ilaç direnç genlerinin varlığının tespitinde PCR tabanlı moleküler yöntemlerin kullanılmaması durumunda klinisyenler, ampirik tedavi kararı vermek için ön bilgi kaynağı olarak Gram boyamaya güvenmeye devam etmek zorunda kalacaklardır. Gram boyamada en ciddi sorun antimikrobiyal testlerin sonucunun alınabilmesi için en az 24-48 saat gibi bir süreye ihtiyaç olmasıdır ki, bu süre hastanın kaybedilemesine yol açabilecek sonuçlar doğurabilmesi açısından uzun bir süredir. Oysa, PCR tabanlı moleküler yöntemlerle hem tür tayini hem de mikroorganizmanın direnç profilleri aynı gün içinde hatta birkaç saat içinde belirlenebilmektedir.

Konvansiyonel yöntemlerin yavaşlığı neticesinde ciddi sonuçlar doğurması yanında, direnç paternlerinin fenotipik yollarla belirlenmesinde sıkça yanlışlıklar meydana gelebilmektedir. Çünkü, klasik yöntemlerde besiyeri tuz konsantrasyonu, pH, hazırlanan inokulum yoğunluğu gibi birçok faktöre bağlı olarak direçli bir köken duyarlıymış gibi saptanabileceği gibi, duyarlı bir kökende dirençli olarak saptanabilmektedir. Antimikrobiyal direnç gelişimde en önemli sorun yanlış ilaç kullanımı veya hastanın dirençli antimikrobiallerle tedavi edilmeye çalışılmasından kaynaklanmaktadır.

Kan yolu infeksiyonları nozokomiyal infeksiyonların %10-20'sinden sorumlu olduğu, ABD'de ise kan yolu infeksiyonlarının %17'sinin mortal seyrettiği bu oranla Amerikada kan yolu infeksiyonlarının en yüksek sekizinci ölüm sebebi olduğu bildirilmiştir (Diekma ve ark. 2003).

Kan yolu infeksiyonlarına sebep olan en önemli mikroorganizmalar Gram pozitif bakteriler olup, özellikle de bu bakteriler arasında koagülaz negatif (*Staphylococcus epidermidis*) ve pozitif stafiloklar (*Staphylococcus aureus*), Streptokoklar (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*) ve Enterekokların önemli yer tuttuğu bildirilmiştir (Daniel ve ark. 2006, Asrat 2002, Rina ve ark. 2005, James ve ark. 2002, Manjula ve ark. 2005). Bu infeksiyonların tanısı hastanelerde rutin olarak kullanılabilen kan kültürleri ile kolayca yapılabilse de bu yöntemler uzun zaman alıcı yöntemlerdir (Becker ve ark. 2009).

Kan yolu infeksiyonlarını (bakteriyemi) tedavi etmenin günümüzde en önemli ve etkin yolu zamanında ve doğru antibiyotik veya antimikrobiyal kullanımıyla mümkün olabilmektedir. Ancak, birçok bakteriyel patojen antimikrobiyal tedaviye karşı direnç geliştirdiğinden dünya çapında ekonomik ve sosyal anlamda ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Antibiyotik direnci tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de oldukça ciddi ve her geçen gün de büyüyen bir sorundur. Birçok çalışmada bakteriyemi vakalarında yersiz ve yetersiz ampirik tedavi ile artan mortalite ve artan ilaç direnci gibi istenmeyen birçok olumsuz sonucun ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Harbarth ve ark. 2002, Ibrahim ve ark. 2000, Behrent ve ark. 1999).

Son 20 yılda Gram pozitif bakterilerin neden olduğu infeksiyonların sayı ve şiddetinde basit ve kolayca alınabilecek tedbirlerin göz ardı edilmesinden dolayı dikkate değer şekilde artışların olduğu bildirilmiştir (Bouza ve Finch 2012).

Staphylococcus aureus ve koagülaz-negatif stafilocokların neden olduğu kan yolu infeksiyonlarının önemli derecede artmasının en önemli sebepleri arasında katater ve diğer intravasküler cihazların yanlış kullanımının önemli yeri vardır (Bouza ve Finch 2012).

Kan yolu infeksiyonlarının %50'den fazlasına Gram pozitif bakterilerin neden olduğu bildirilmektedir (Bouza ve Finch 2012). Artan sıklığa ek olarak, tüm beta-laktam ilaçlara dirençli metisilin dirençli *S.epidermidis* ve *S.aureus* suşlarının insidansındaki artış da bu tür infeksiyonlarda en önemli problemlerdendir. Ayrıca glikopeptidlere orta dirençli *S.aureus* suşlarının ileriki zamanlarda mevcut glikopeptid antibiyotiklere karşı dirençli hale gelebileceği unutulmamalıdır. Orta dirençli glikopeptid antibiyotiklerin kullanımı bu grup ilaçlarda görülen direncin en önemli sebepleri arasında yer almaktadır. Gram pozitif bakteri infeksiyonlarındaki artışa sebep olan en önemli grubu stafilocoklar ile enterokoklar oluşturmaktadır. Vücutta protez malzemeleri kullanımı ve invaziv tekniklerin artması Gram pozitif bakteri infeksiyonu insidansındaki en önemli artış sebebidir (Bouza ve Finch 2012).

Bu çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında 01/06/2014-01/01/2015 tarihleri arasında MKÜ Araştırma Hastanesi çeşitli bölümlerde ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan alınan kan kültürü örneklerinden; (I) İzole edilen Gram pozitif bakterilerin tanımlanmasını, (II) Gram pozitif bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesini, (III). Stafilocok kökenlerinde (*S.aureus* ve *S.epidermidis*) kökenlerinde *mecA*, *femA*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *erm(A)*, *erm(C)*, *tet(K)*, *tet(M)*, direnç genlerinin varlığının mütipleks PCR yöntemiyle belirlenmesini amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

Tanım

2.1.Kan Kültürlerinin Alınması

Kan kültürlerinin alınmasında uygun teknik, iyod bazlı preparasyon ya da %0,5'lik klorheksidin 1-2 dakika muamele edildikten sonra %70' lik alkol ile cilt yüzeyinin tamamen temizlenmesi gerekmektedir (Mandel ve ark. 2005, Reller ve ark. 2007). Damara girmeye hazırlandıktan sonra ve kan almadan önce kontamine etmemeye dikkat edilmelidir. Kan kültürü şişesi %70'lik alkolle temizlenmeli ve iğne değiştirilmeden kan enjekte edilmeli. Pediyatrik kan kültürleri dışında, örneklerin çalışılabilmesi için en az 2 şişe ve her şişede 8-10 cc kan örneği bulunması gerekir. Buna rağmen, kan kültürlerinin duyarlılığı çekilen kan miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır, mevcut otomatize sistemler, kan seviyesinin 8-10 cc olmasının yeterliliğini doğrulamaktadır.(Bouza ve ark. 2007)Birinci ve ikinci kan örneklerinin toplanması arasında en az 10-15 dakika zaman geçmelidir. Ampirik antibiyotik kullanımının artması göz önüne alındığında, 2 kan kültürü örneğinin hassaslığı her zaman ideal değildir. Bazıları, daha doğru tespit oranları elde etmek için en az 4 kan kültürü şişesi alınması gerektiğini ileri sürmektedir (Lee ve ark. 2007).

Kataterin neden olduğu infeksiyonlar, nozokomiyal bakteriyemilerin tahmini olarak %11-37'sini oluşturmaktadır. Nozokomiyal kan yolu infeksiyonları ile ilgili en son incelemeler, National Healthcare Safety Network (Ulusal Sağlık Güvenlik Ağı) tarafından 2007 yılında yayımlanmıştır (Edwards ve ark. 2007). Central line' nin infeksiyon oranları 1000' de 1.5 ile 6.8 oranında değişiklik göstermektedir. 2004 yılında nozokomiyal infeksiyon gözetim sistemi tarafından yayımlanan bilgi, kataterle ilgili kan yolu infeksiyonları, bütün kan yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %24' nü oluşturduğunu göstermektedir (Wisplinghoff ve ark. 2004). Oksasilin dirençli stafilokok türleri, nozokomiyal infeksiyonlarda giderek artan küresel bir sorun haline gelmektedir (Diekema ve ark. 2001, Kumar ve ark. 2004).

2.2.Santral Kateterden Kan Kültürü Örneklerinin Alınması

Birçok mikrobiyolog, kateterde deri florasının muhtemel kolonizasyonundan dolayı santral kateterlerden kan kültürü almamayı tavsiye etmektedir. Bu doğru olmakla birlikte, Kateterden alınmış kan kültürlerinin kullanımı pratik nedenlerden (hastaya daha az rahatsızlık verilmesi, kan örneği alınması için alternatif bir yolun bulunmaması, vs.) dolayı artmaya devam etmektedir. Bakteriyeminin kateter ilişkili kaynağını belirleyebilmek için, araştırmacılar nicel kültürlerin (enfekte kateterde tipik olarak periferik kana göre daha yüksek kültür sayısı bulunmaktadır) ve “pozitiflik için geçen diferansiyel sürenin” (enfekte kateterden alınan örnekler kan kültür örneklerinden daha kısa sürede pozitif olma eğilimindedir) rolü olduğunu onayladılar. Hem nicel kültürlerin hem de pozitiflik geçen diferansiyel sürenin uygun bir şekilde yorumlanması için örneklerden en az birinin periferik bir damardan venipunktür ile alınması gerekmektedir. Laboratuvar testleri her iki örneğin de aynı anda ve aynı hacimlerde alındığını ve inkübe edildiğini onaylamalıdır. Bunlar araştırmalarda kullanışlı olsa da, klinik uygulamada rutin olarak kullanılmamaktadır, oysa kateter ilişkili bakteriyemi tanısı klinik tanıya ve kateter ucu kültürüne (kateter ucu koloni sayısı 15’den büyük olan kültürler genelde anlamlı olarak kabul edilir) dayanmaktadır. Tablo 1 kateter ilişkili kan dolaşımı infeksiyonları (CR-BSI) ile ilişkili en yaygın bakterilerin bir listesini içermektedir (Fatkenheuer ve ark. 2002, Gaynes ve ark. 2005, Luzzaro ve ark. 2002, Rodriguez 2002, Wisplinghoff ve ark. 2004).

2.2.1.Bakteriyemi mi Kontaminasyon mu?

Mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen kan kültür örneklerinin kontaminasyonu pek ender görülen bir durum değildir ve uygunsuz aseptik tekniklerinden veya kanın alındığı IV kateterden kaynaklanıyor olabilir. Kontaminasyonu gerçek bakteriyemiden ayırt etmek bazen zordur. Gerçek bakteriyemiye işaret eden faktörler şunlardır: Hastanın klinik hikayesi ve fiziksel bulgular, bakteriyemi risk faktörlerinin varlığı (Tablo 1), vücut sıcaklığı ve lökosit sayısı. Kandan izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Candida* spp. asla kontaminant olarak Kabul edilmemelidir. Bakteriyemi ve kontaminasyon arasındaki farklılık çoğunlukla klinik senaryoya dayanan klinik bir yargı olsa da, pozitif kültürlerin sayısı ve bakterinin nihai olarak tanımlanması bu iki durum arasında ayırım yapmaya yardımcı olmak üzere kullanılmaktadır. Aşağıdaki mikrobiyolojik faktörler gerçek bakteriyemiden ziyade kontaminasyon hakkında fikir verici olabilmektedir.

Çizelge 2.1. Nozokomiyal katatarn ilişkili kan yolu enfeksiyonlarıyla mikrororganizma ilişkisi.

Mikroorganizma	Sıklık
Koagülaz Negatif Stafilokok	KNS, nozokomiyal katater-ilişkili en yaygın kan yolu enfeksiyonlarına yola açan patojendir
<i>Staphylococcus aureus</i>	Metisilin dirençli <i>S.aureus</i> suşlarının prevalansı artmaktadır
Gram Negatif Basiller	Dirençli gram negatif basiller arasında <i>A.baumani</i> Avrupa’da en yaygın olandır. Amerika’da ise <i>P.aeruginosa</i> daha sık görülmektedir.
Enterococcus spp.	<i>E. faecalis</i> , <i>E.faecium</i> ’ dan daha yaygın görülür.
<i>Candida</i> spp.	<i>C. albicans</i> en yaygın mayadır.
Diğer bakteriler (difteroidler, viridans streptokoklar, Mikrokoklar ve daha nadir de <i>Candida albicans</i> dışındaki diğer <i>Candida</i> türleri)	

1. Deride bulunan tipik kommensal organizmalar izole edildiğinde: koagülaz-negatif Stafilokok türleri, bazı Streptokoklar ve Gram-pozitif basiller. Eğer hastanın intravenöz kateteri varsa, yaygın deri kontaminantları ile de olsa gerçek enfeksiyon olma ihtimali artar. Tablo 2’de sırasıyla bakteriyemide risk faktörleri verilmiştir. Tablo 3’de ise bakteriyemide sıklıkla kontaminasyon nedeniyle yanlış pozitiflik oranları görülmektedir.

Çizelge 2.2. Bakteriyemide risk faktörleri.

- İleri yaş
- Kortikosteroid kullanımı
- İmmun sistemi baskılayıcı ilaçların kullanılması (transplant hastaları, romatolojik hastalıklarda olduğu gibi)
- Kronik karaciğer hastalıkları
- Kronik böbrek yetmezliği (özellikle hemodiyalize girme)
- Hematolojik kanserler
- HIV enfeksiyonu
- İntravenöz katater kullanımı
- Damar içi ilaç kullanımı
- Cilt bütünlüğünün bozulması
- Yetersiz beslenme ve hipoalbuminemi
- Nötropeni
- Parenteral beslenme

Çizelge 2.3. Gram negatif basil bakteriyemisi risk faktörleri.

- Hematopetik kök hücre transplantasyonu
- Karaciğer yetmezliği
- Serum albumin düzeyi <3 mg/dL olması
- Solid organ transplantasyonu
- Diyabet
- Pulmoner hastalıklar
- Hipotansiyon
- Hemodializ
- HIV
- Hematolojik malignansiler
- Steroid kullanımı
- Yaşlılık

Çizelge 2.4. Gerçek bir kan yolu infeksiyonu mu, kontaminasyon mu?

Mikroorganizma	Yanlış pozitiflik oranı
<i>Bacillus spp.</i>	>%90'dan fazla
Coag-negative <i>Staphylococcus spp.</i>	>%90'dan fazla
<i>Propionibacterium spp.</i>	>%90'dan fazla
<i>Corynebacterium spp.</i>	>%80'dan fazla
Viridans streptococci	%50
<i>Clostridium spp.</i>	%40
<i>Staphylococcus aureus</i>	%25
<i>Enterococcus spp.</i>	%15

(Murray, 1999)

2. İki veya daha fazla kan örneği setinden yalnızca biri pozitif olduğunda. Bu ifadenin geçerliliği negatif kan kültürlerinin sayısı ile doğru orantılıdır ve tanımlanan organizmalara bağlıdır. Bu kriterler özellikle koagülaz-negatif Stafilokok türlerinin neden olduğu bakteriyemi için kullanılır, ancak bu kriterlerin doğruluğu ve tahmin etme gücü ile ilgili çelişen raporlar bulunmaktadır (Mirrett, ve ark 2001, Tokars ve ark 2004).

3. Kan kültürlerinden izole edilen bir organizmanın antibiyotik duyarlılık paterni aynı veya ardışık kültür setlerinde bulunan organizmaların paternlerinden farklıysa (organizmalar aynı türden olduğu sürece). Örneğin, eğer 2 kan kültürü setinin her ikisi de *Staphylococcus epidermidis* için pozitifse, ancak yalnızca setlerden biri oksasilin ve siprofloksasine duyarlılık gösterirken diğer set bu 2 antibiyotiğe direnç gösteriyorsa, her iki kan kültürü setinin de kontamine olması muhtemeldir.

2.3.Gram Boyama Tabanlı Yaklaşım

Bakteriyeminin tanınması hasta değerlendirmesinin yalnızca bir bileşenini oluşturmaktadır. Bakteriyeminin kaynağının belirlenmesi gerekli tanısal testlere yardımcı olabilmek ve aynı zamanda tedavinin süresine karar verebilmek için önemlidir. Arada bir, potansiyel kaynak Gram boyama sonuçları ile tanınabilir (Gram-pozitif diplokoklar pnömoniye veya ciddi sinüzite sekonder *Streptococcus pneumoniae* ile tutarlıdır; piyüri ile birlikte görülen Gram-negatif bakteriyemi genitoüriner bir kaynak olabileceğini gösterir, vs.). Ancak, çoğu durumda, potansiyel kaynak, bakteri türü tanımlanmadan net olmayabilir.

Gram boyama özelliklerine göre, bu monograf organizmaları beş kategoriye ayırmaktadır: 1) Gram-pozitif koklar, 2) Gram-pozitif basiller, 3) Gram-negatif basiller, 4) anaeroblar ve 5) Candida türleri. Çok nadir bakteriyemi nedeni olduklarından Gram-negatif koklardan çok fazla bahsetmeyeceğiz (çok yıkıcı bir enfeksiyon olabilen *Neisseria meningitidis* hariç). Tablo 4'te monomikrobiyal nozokomiyal hastane kan dolaşımı enfeksiyonlarından (BSI) izole edilen en yaygın patojenlerin azalan sıklığa göre bir listesi bulunmaktadır (Wisplinghoff ve ark. 2004).

Çizelge 2.5. En sık nozokomiyal kan yolu enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizmalar.

Mikroorganizma	Kan yolu enfeksiyonu oluşturma oranları
Coagulase-negative Staphylococcal spp.	%31.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	%20.2
Enterococcus spp.	%9.4
Candida spp.	%9.0
<i>Escherichia coli</i>	%5.6
Klebsiella spp.	%4.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	%4.3
Enterobacter spp.	%3.9
Serratia spp.	%1.7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	%1.3

(Wisplinghoff 2004)

2.4.Gram-pozitif Koklar

Gram-pozitif kokların sınıflandırılması Gram boya ile görülen bakteriyel boyamaya dayanmaktadır. Kümeler (stafilokoklar) veya zincirler (streptokoklar) oluştururlar. Küme halindeki Gram-pozitif koklar, kanlı agara inkübe edilmelerinden yaklaşık 24 saat sonra uygulanabilen koagülaz ve katalaz reaksiyonlarına dayanarak daha fazla ayrıştırılabilirler (bkz. aşağıdaki Şekil 1). Makalemizi en sık bakteriyemiye yol açan Gram-pozitif koklarla sınırlandırma amacıyla, klinik olarak önem arz eden türler üzerine yoğunlaşacağız: bu türler stafilokoklar arasında *S. aureus* ve koagülaz-negatif stafilokoklar, streptokoklar arasında viridans grubu Streptokoklar ve *Streptococcus pneumoniae* ve Enterokoklar bulunmaktadır.

2.4.1.Staphylococcus aureus

Enfeksiyon Kaynağı: *Staphylococcus aureus* bakteriyemisi primer (enfeksiyon kaynağıyla ilgili hiçbir kanıt yok) veya sekonder (enfeksiyonun orijini uzak bir organ veya sistem) olabilir. *Staphylococcus aureus* için pozitif olan bir kan kültürü her zaman için gerçek bir bakteriyemi olarak kabul edilir ve tedavi edilmediği sürece çok ciddi advers sonuçlar doğuracağından asla kontaminant olarak düşünülmemelidir. Primer ya da sekonder bakteriyemi birbirinden ayırmak, özellikle de sekonder bakteriyeminin kaynağı kas-iskelet sistemi olduğunda, zor olabilir. Bu ayrımı karmaşıklaştıran şey, biyofilm'in geliştirilmesi ile birlikte *S. aureus*'un herhangi bir prostetik malzemeye (kateterler, ortopedik donanım, endovasküler graflar, ventriküloperitoneal şantlar, vs.) tutunma ve onu enfekte etme eğilimidir; bu yüzden primer bakteriyemi prostetik materyalde uzak enfeksiyona ve ardından sekonder enfeksiyona yol açabilir.

Değerlendirme:

S. aureus bakteriyemisi olan her hastanın minimal değerlendirmesi deriyi, eklemleri ve bütün periferik ve santral vasküler kateterleri kapsayan detaylı bir fizik muayeneyi içermelidir. Göğüs röntgeni ve kas-iskelet sistemine ait herhangi bir şikayetin bulunduğu bütün bölgelerin görüntülenmesi düşünülmelidir. Bazı ekoller bütün hastalar için transözofageal ekokardiyogram (TEE) önermektedir.

Endokardit için risk faktörleri (Tablo 5), kaynağı belirlenemeyen persistan ya da primer bakteriyemisi bulunan hastalarda TEE düşünülmesini öneriyoruz. *S. aureus*

bakteriyemisinde endokardit gelişme riski toplamda %10-15'tir, ancak Tablo 4'teki risk faktörleri bulunan hastalar için bu riskin %44-51'e çıktığı bildirilmiştir. Bunu söz önünde bulundurursak, birçok klinisyen transtrosik ekokardiyogramın (TTE) sensitivitesini %50'nin altında olduğunu farkında olarak en azından bir TTE isteyecektir. *S. aureus* bakteriyemisi ile tanı konmuş hastalardan bakteriyeminin düzeldiğinden emin olmak için genellikle uygun antibiyotik tedavisi başladıktan 3-5 gün sonra izlem için kan kültürü alınmalıdır.

Tedavi: β -laktamlar tarihsel olarak *S. aureus* infeksiyonlarına karşı etkili bulunsa da, metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus*'un (MRSA) varlığı, duyarlılık sonuçları beklemedeyken, beta-laktamları uygulamada anlamsız kılmaktadır. IDSA son zamanlarda bakteriyemi de dahil olmak üzere MRSA infeksiyonlarının tedavisi ile ilgili bir kılavuz yayınladı. Birçok çalışma uygun ampirik tedavinin *Staphylococcus aureus* bakteriyemisinin advers sonuçları üzerine önemli etkileri olduğunu göstermiştir. Bu yüzden başlangıç tedavisi olarak vankomisin veya daptomisin kullanılmasını; duyarlılık sonuçları geldikten sonra da nafsilin, oksasilin veya sefazolin gibi herhangi bir anti-stafilokokal β -laktama geçmeyi tavsiye etmekteyiz. Daptomisin pulmoner infeksiyonlar için endike değildir, bu yüzden respiratuvar kaynaklı bakteriyemi bu antibiyotik tedavisine başlanmadan önce ekarte edilmelidir. Methisilin-duyarlı *S. aureus* tedavisinde vankomisin beta-laktamlardan ya da daptomisinden daha etkisizdir (Chang ve ark. 2003). Linezolid veya Tigesikline, bakteriyostatik özelliklerinden ve bakteriyemiye karşı etkinliklerini gösteren klinik verilerin yetersizliğinden dolayı *S. aureus* bakteriyemisi için ilk sıra antibiyotikler olarak kabul edilmezler.

S. aureus bakteriyemisi için antibiyotik tedavisin süresi bir intravenöz ajan ile en az 2 hafta olmalıdır. Eğer bakteriyemi uzak bir infeksiyon kaynağına sekonder olarak veya septik bir embolizasyon kapsamında geliştirse, tavsiye edilen tedavi en az 4-6 hafta olmalıdır. *S. aureus* bakteriyemisi ile seçilen hastalar şu kriterleri sağlıyorsa 2 hafta süreyle tedavi edilebilirler: (1) bakteriyemi sırasında bulunan intravasküler kateterlerin çıkarılması, (2) endokarditin TTE ile ekarte edilmesi, (3) implante protezlerin bulunmaması (prostatik kapaklar, kardiyak cihazlar veya artroplastiler)

(4) tedavinin başlangıcın 2-4 gün sonra izlem için alınan kültürlerin negatif olması ve (5) ateşin ve lokalize edilebilen semptomların ya da metastatik stafilokok enfeksiyonlarını düşündüren bulguların düzelmesi (Cosgrove ve Fowler 2008, Mermel ve ark. 2009). Klinik bulgular faydalı olduğunu göstermede yetersiz kalsa da, eğer hasta ciddi bir enfeksiyon ya da sepsis ile geliyorsa, 2 antistafilokokal ajanı içeren bir kombinasyon tedavisi (kombinasyon içinde vankomisin, daptomisin veya linezolid) veya ilk 3-5 gün içinde bunlara ilaveten sinerjistik etki yaratması için gentamisin eklenmesi düşünülebilir.

2.4.2. Koagülaz-Negatif Stafilokoklar

Enfeksiyon Kaynağı: koagülaz-negatif Stafilokokal bakteriyemi'nin en sık kaynağı enfekte orta hattır. Koagülaz-negatif Stafilokok türleri herhangi bir etiolojiden (primer veya sekonder) kaynaklanan bakteriyemide en sık bulunan organizmalardır ve özellikle kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları için yaygın görülen etiolojik ajanlardır. Ne yazık ki, koagülaz-negatif Stafilokok türleri, özellikle *S. epidermidis*, aynı zamanda kan da bulunan en sık deri kontaminantlarıdır. Bakteriyemi - kontaminasyon karşılatırılması bölümünde bahsedilen kurallar gerçek bakteriyemi ve kan kültür kontaminasyonu arasında ayırım yapmaya yardımcı olabilir.

Değerlendirme: Primer koagülaz-negatif Stafilokok türü bakteriyemi nadirdir. Bakteriyemiye yol açan en yaygın tür *S. epidermidis*' tir. Sıklıkla bakteriyemi enfekte IV katetere sekonderdir; bu yüzden, enfekte periferik veya santral kateterlere titizlikle dikkat edilmelidir. Kateterin çıkarılması tavsiye edilir, ancak klinik enfeksiyon belirtileri bulunan pacemaker veya tünel kateter olmadığı sürece zorunlu değildir. Bazı koagülaz-negatif Stafilokok türleri, sekonder olarak bakteriyemiye yol açabilecek bir takım hastalıklarla ilişkili olduklarından özel bir önemi hak etmektedir. *S. saprophyticus* kadınlarda sık görülen bir İYE nedenidir, *S. lugdunensis* endokardit en ciddi olmak üzere doğal kapak endokarditi, menenjit ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile ilişkilidir. Ayrıca *S. haemolyticus* da doğal kapak endokarditi ve menenjit ile ilişkilidir. Bu klinik tabloları göz önüne aldığımızda, idrar testi, tekrarlı kan kültürleri ve ekokardiyogram gerekli olabilir.

Tedavi: Eğer bir koagülaz-negatif *Stafilokok* türünün izolatının β -laktamaz negatif olduğu bulunursa, o halde ilaç seçimi penisilin olmalıdır. Yarı sentetik antistafilokokal

penisilinler (oksasilin ve nafsilin) penisilin stafilokokla β -laktamaz ile yalnızca zayıf hidrolize edilmiş türevleridir ve penisilin grubunda tercih edilecek ilaçlardır.

Ancak, hastanede yatış süresince izole edilen koagülaz-negatif Stafilokok türlerinden çoğu metisilin-dirençli olacaktır; bu yüzden vankomisin veya daptomisin uygun seçimler olabilir. Tedavi süresi altta yatan klinik senaryoya göre değişkenlik gösterir. 2009 IDSA önerilerine (Mermel ve ark. 2009) dayanarak, en az 5-7 günlük, hatta klinik senaryoya göre (kateterin çıkarılmaması, prostetik malzeme varlığı) muhtemelen daha uzun süreli antibiyotik tedavisi önermekteyiz. Eğer endokardit veya endokardit eşdeğeri endişesi yoksa (veya ekarte edildiyse) 3-4 gün IV tedaviden sonra oral antibiyotik tedavisine başlanabilir.

2.4.3. Enterokoklar

Enfeksiyon kaynağı: Normal yaşam alanı gastrointestinal kanaldır, ancak orofarinks, genitoüriner kanal ve deriden izole edilebilir. *Enterococcus faecalis* en yaygın görülen insan patojenidir, ancak *Enterococcus faecium* hastane enfeksiyonları içinde artan bir şekilde baskın hale gelmektedir. Özellikle uzun süren hastane yatışlarında deride kolonize olabileceği için, uygun klinik ortamlarda alınmış kan kültürlerinin kontaminasyonunun da bir nedeni olabilir. Enterokok bakteriyemisinin klinik açıdan önemli kaynakları arasında idrar yolu enfeksiyonları, intra-abdominal enfeksiyonlar, enfekte vasküler kateterler ve endokardit sayılabilir. Enterokok türleri kateter ilişkili bakteriyemiler arasında en yaygın görülen dördüncü nedendir.

Değerlendirme: Kan kültürlerine ek olarak, idrar tahlili ve detaylı bir karın muayenesi enterokok bakteriyemisi bulunan bütün hastalara uygulanmalıdır. Klinik senaryoya göre görüntüleme çalışmaları (BT taraması, HIDA, biliyer ve renal ultrason) düşünülmelidir. Eğer endokardit şüphesi varsa (Tablo 4) ekokardiyografi (TTE ve muhtemelen TEE) uygulanmalıdır. Özellikle endokardit endişesi olduğunda bakteriyeminin temizlendiğini onaylamak için hastalardan tekrar kan kültürleri alınmalıdır.

Tedavi: Enterokoklar doğaları gereği normalde diğer Gram-pozitif koklara karşı aktif olan sefalosporinler, makrolidler ve klindamisin gibi birçok antibiyotik sınıfına karşı dirençlidirler. Enterokoklara karşı değişen düzeylerde *in vitro* aktivite gösteren

antibiyotikler arasında penisilinler (özellikle penisilin ve ampisilin ama nafsilin değil), glikopeptidler (vankomisin ve teikoplanin), karbapenemler (imipenem ve meropenem ama ertapenem değil), daptomisin, quinupristin/dalfopristin ve linezolid sayılabilir.

Diğer antibiyotikler de bir takım aktiviteler gösterir ancak bakteriyemi gibi ciddi enterokok infeksiyonları'nın tedavisinde rutin olarak kullanılmamalıdır. Bu antibiyotikler, tetrasiklinleri(tetrasiklin, minosiklin ve doksisisiklin), kinolonları(siprofloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasin) ve rifampin' i kapsamaktadır. Penisilinler ve glikopeptidler en iyi aktiviteye sahiptir ve tipik olarak ampisilin vankomisinden daha fazla in vitro öldürme yeteneğine sahiptir. Eğer izolat duyarlıysa ilaç tercihi ampisilin olmalıdır. Penisilin alerjisi olan hastalar için veya ampisilin dirençli suşlarla enfekte hastalar için, ilk sıra tedavi seçeneği vankomisin olmalıdır. Vankomisin-dirençli enterokoklar (VRE)'in neden olduğu bakteriyemi için seçenekler daptomisin ve quinupristin/dalfopristin'i içermektedir. Penisilin-duyarlı enterokok bakteriyemisi için linezolid kullanımından rutinde kaçınılması gerekmekte birlikte, VRE bakteriyemisi bu antibiyotiğin terapötik bir seçenek olduğu tek istisnadır.

Endokardit yokluğunda enterokok bakteriyemisinin tedavisi ile ilgili iki soru hala tartışma yaratmaktadır: tedavinin süresi ve sinerjistik antibiyotik gereksinimi. Eğer hastanın endokarditi yoksa, o halde 7-10 günlük antibiyotik tedavisi yeterli olabilir, ancak endokardit bulunması halinde daha uzun bir tedavi seyri tavsiye edilmektedir. Eş zamanlı sinerjistik aminoglikozit tedavisine yalnızca endokardit tedavisinde gereksinim duyulması ve komplikasyonsuz enterokok bakteriyemisinde tercih edilmemesi tavsiye edilmektedir. Aminoglikozitlerin hücre duvarını penetre etme yeteneklerinin azalmış olmasından dolayı, Enterokokların bu ajanlara karşı düşük seviyeli intrensik bir dirençleri vardır, ancak bu durum hücre duvarı-aktif ajanların (penisilin ve glikopeptid gibi) tedaviye eklenmesiyle giderilebilir. Ancak, yüksek seviye aminoglikozit direncinin (HLAR) bazı enterokok suşlarında gösterildiğini akılda tutmak önemlidir. HLAR olan enterokokların yol açtığı endokardit vakalarında ampisilin ve seftriakson kombinasyonu başarıyla kullanılmaktadır (Gavalda ve ark. 2008).

Çizelge 2.6.İnfektif endokardit için risk faktöleri.

Kardiyak olmayan	Kardiyak olan
<ul style="list-style-type: none">· İntravenöz ilaç bağımlılığı· Erkek cinsiyette olma· İleri yaş· Son zamanlarda yapılan diş ameliyatı ya da diğer invaziv işlemler· Nozokomiyal bakteriyemi· Kalıcı venöz katater· Cerrahi pulmoner şant	<ul style="list-style-type: none">· Dejeneratif kalp kapağı lezyonları· Doğuştan kalp hastalığı· Protez kalp kapağı· Mitral kapak prolapsusu· Romatizmal kalp hastalığı· Önceden geçirilen enfektif endokardit· Hipertrofik kardiyomiyopati

2.4.4. Viridans Grubu Streptokoklar (VGS)

Enfeksiyon kaynağı: Viridans-grubu streptokoklar genellikle düşük virulanslı patojenlerdir, ancak diğer bütün kommensal organizmalarda olduğu gibi, VGS bakteriyemisini klinik olarak önemsiz olarak kabul etmeden önce derinin ve oral yapıların özenli bir değerlendirmek gerekmektedir. VGS bakteriyemisi için önemli türler arasında *S. milleri*, *S. sanguis*, *S. mitis* ve *S. bovis* sayılabilir. Diş girişimlerini takiben geçici bakteriyemiler meydana gelebilir ve bunlar predispozan bir durumu olmayan hastalarda herhangi bir sonuç doğurmaz. VGS için kan kültürlerinin yalnızca %21-50'sinin klinik olarak anlamlı olduğu tahmin edilmektedir. Viridans-grubu Streptokoklar eskiden doğal kapak endokarditinin ve geç başlangıçlı prostetik kapak endokarditinin en sık nedeniydiler, ancak bugünlerde *S. aureus* en yaygın organizma haline geldi (Fowler ve ark, 2005). VGS aynı zamanda ciddi piyojenik infeksiyonlar, nötropenik hastalarda bakteriyemi, neonatal sepsis ve septisemi/şok sendromu ("α strep şok sendromu" olarak da bilinir) ile de ilişkilendirilmiştir. VGS bakteriyemisi için risk faktörleri arasında: nötropeni, oral mukozit, oral kaviteye radyasyon verilmesi, trimetoprim-sulfametoksazol ve florokinolonlar ile antibiyotik profilaksisi, intravenöz hiperalimentasyon, yüksek doz kemoterapi ve kadın cinsiyet bulunmaktadır (Tunkel ve Sepkowitz 2002).

Değerlendirme: Her viridans grubu streptokok bakteriyemisi endokarditi ekarte etmek üzere tekrarlı kan kültürlerinin alınmasını (yalnızca birden fazla kan kültürü setinin pozitif olduğu durumlarda) ve detaylı bir diş ve deri muayenesini gerektirmektedir. Endokardit ihtimali varsa ekokardiyogram endike olabilir. Abdominal görüntüleme çalışmalarına (BT veya ultrason) intraabdominal apselerin (karaciğer, dalak, peritoneal) ekarte edilmesi için başvurulabilir.

Tedavi: Klinik açıdan önemli Kabul edilen her viridians grubu Streptokok bakteriyemisi, endokardit ekarte edilene kadar, bu klinik durumu kapsayan ampirik tedavi gerektirmektedir. Beta-laktamlar viridans grubu Streptokoklara karşı aktiftirler ve ilk ilaç tercihimizdirler. PCN alerjisi olan hastalarda, vankomisin ve klindamisin kullanılabilir. Eğer penisiline karşı alerjik reaksiyon anafilaktik ya da IgE aracılı değilse, seftriakson kullanımı uygun ve iyi tolere edilen bir alternatif olabilir. En az 4-6 haftalık tedavi gerektiren endokardit tedavisi veya diğer komplikasyonlu enfeksiyonlar (karaciğer apsesi, beyin apsesi, vs.) haricinde iki haftalık antibiyotik tedavisi yeterli olacaktır (komplikasyonsuz endokardit tedavisi için 2 haftalık PCN artı gentamisin tedavisi uygun olabilir). İntravenöz başlangıç tedavisini takiben oral antibiyotiklerle tedavi (tercihen beta-laktamlar) non-intravasküler enfeksiyonların tedavisi için makuldür.

Çizelge 2.7. Bakteriyemi için primer ve alternatif ampirik antibiyotik seçenekleri.

	Primer antibiyotikler	Alternatif antibiyotikler
Gram pozitif kok veya küme yapan koklar ¹	Vankomisin veya daptomisin	Nafsilin veya sefazolin (MRSA dışında)
Zincir yapan Gram pozitif koklar	Ampislin veya vankomisin	Seftriakson ² veya Daptomisin
Gram negatif basilin sebep olduğu unstable hasta, immunsuprese, malignite öyküsü olan veya hastane ilişkili	Sefepim+siproflaksisin (veya tobramisin) Ya da, piperasilin/tazobaktam+siproflaksasin (veya tobramisin)	Aztreonam+tobramisin (veya siprofloksasin) Ya da; İmipenem+ siprofloksasi (tobramisin)

infeksiyonu olan hasta		
Etkeni Gram negatif basil olan yatan hasta	Seftriakson veya piperasilin/tazobaktam	Aztreonam veya siprofloksasin
Anaeroblar	Piperasilin/tazobaktam yada metranidazol	Klindamisin veya imipenem
Candida spp.	Ekinokandin veya vorikonazol	Flukonazol ³ veya Amfoterisin B

Not: Eğer hastada pnömoni varsa daptomisin önerilmez.

¹Eđer (unstable) ayakta hasta ise ya da endokardit olasılığı varsa gentamisin gibi ikinci bir antibiyotik eklenebilir.

²İnfeksiyon etkeni enterokok ise kullanmayınız

³Hemodinamik olarak stabil bir hasta ise daha önceden azol grubu verilmemişse birincil antibiyotik olarak kullanılabilir.

Yaygın olarak kullanılan ve mikroorganizmaların erken tanısını sağlayan yeni PCR teknikleri geliştirilinceye kadar, klinisyenler uygun antibiyotik tedavisi seçiminde gram boyama'ya güvenmeye devam edeceklerdir. Yaşamı tehdit eden enfeksiyonlarda,erken tanı,hastalığın seyrini ve mortaliteyi etkilemektedir.Tablo 6' da Gram boyoma sonucuna dayalı alternative ve birincil seçilecek antibiyotiklerin seçimi için basitleştirilmiştir. Yeni PCR ve moleküler teknolojilerin sağladığı avantajları öğrendikçe, hastalarımıza uygun ampirik antibiyotik ve en iyi tedavi seçimi için klinik ve mikrobiyolojik yeteneklerimizi kullanmaya devam edeceğiz.

2.5.Diğer Streptokoklar

Diğer streptokok türlerinin yanısıra enterokok ve viridians gurubu streptokoklar nadiren kan kültürlerinden izole edilir.Bunlar *Streptococcus pneumoniae*, β -hemolytic *Streptococcus* gibi türleri kapsar. *S. pneumonia* pnömoni menenjit ve peritonit gibi ciddi enfeksiyonlara neden olan diplokoklarıdır. Bu organizmanın izolasyonu, her zaman önemlidir ve tedavi edilmelidir. *S. pneumonia*, birinci basamak tedavide kullanılan beta laktam grubu antibiyotiklere nispeten duyarlıdır. Penisilin direncinin yüksek olduğu bölgelerde alternative olarak kullanılan antibiyotikler makrolidler ya da kinolonlardır. β -hemolitik streptokoklar için kullanılan, beta laktam grubu antibiyotikler, birinci basamak tedavide kullanılır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında 01.06.2014-01.01.2015 tarihleri arasında MKÜ Araştırma Hastanesinin çeşitli bölümlerinde (dahiliye, acil servis, anestezi ve reanimasyon, yeni doğan üniti, gastroenteroloji, genel cerrahi, infeksiyon hastalıkları, onkoloji, çocuk servisi ve yoğun bakımda) yatan hastalardan alınan kan kültürü örneklerinden izole edilen Gram pozitif bakteriler (*S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.hominis* gibi) dahil edildi. Çalışmada *S.aureus* ve KNS izolatları için klindamisin, eritromisin, gentamisin, penisilin, tetrasiklin, vankomisin ve oksasilin, duyarlılıkları otomatize kültür sistemleri (Vitek-2, bioMeuriux, France) kullanılarak tespit edildi. Ayrıca izolatlardan stafilokok kökenlerinde multipleks PCR yöntemiyle direnç genleri (*mecA*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *erm(A)*, *erm(C)*, *tet(K)*, *tet(M)*, 16SrRNA ve *femA*)'nin varlığı araştırıldı.

Çalışmaya 169 pozitif kan kültürü dahil edildi. Üreme tespit edilen kan örnekler %5 koyun kanlı agara ekilerek 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Bakteriler koloni morfolojisi, Gram boyaması, katalaz aktivitesi ve diğer biyokimyasal özelliklerine göre değerlendirildi. Tiplendirme için gerek duyulduğunda otomatik identifikasyon cihazı ile şüpheye düşülen izolatların identifikasyonları yapılarak tür tayinleri doğrulaması yapıldı. Mikroorganizmaların direnç paternleri klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü (CLSI=Clinical And Laboratory Standards Institute) kriterlerine uygun olarak yapıldı.

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Araçlar

- Etüv (inkübatör) (Heal Force HF90, Çin)
- Mikrosantrifüj (NF 048; Nüve, Türkiye)
- Elektroforez sistemi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD)
- Thermal cycler (Techne Flexigene, İngiltere)
- Transillumunator (Wealtec, Dolphin-View, ABD)
- Otomatik kültür sistenmi (Vitek 2, bioMeuriux, France)
- Mac-Farland ayar cihazı (İtalya)
- Mikropipet (Discovery, Transferpette, Almanya)

3.1.2. Kimyasal Maddeler

- Agaroz (Sigma, ABD)
- Kanlı agar (biEOMrieux, Fransa)
- Transport besiyeri (Macaristan)
- Mueller-Hinton Agar (Merck, Almanya)
- Buffer solüsyonu (Fermentas, EU)
- Mg (Fermentas, EU)
- dNTP (Fermentas, EU)
- dH₂O (Fermentas, EU)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Thermo Scientific Fermentas, EU)
- Eosin Metilen-Blue Agar (EMB) (biEOMrieux, Fransa)
- DNA Ladder (100 bp, Fermentas, EU)
- Etil Alkol (Merck, Almanya)
- Etidium Bromid (Sigma, ABD)
- Potasyum dihidrojen fosfat, KH₂PO₄ (Sigma, ABD)
- Proteinaz K (Sigma, ABD)
- Potasyum klorür, KCl (Sigma, ABD)
- Sodyum hidrojen fosfat, Na₂HPO₄ (Sigma, ABD)
- Sodyum klorür, NaCl (Sigma, ABD)
- Elektroforez Tamponu (Tris Asetat Tamponu) 50X
- GF-1 Bacterial DNA Extraction Kit (Vivantis, ABD)

3.2. Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına çeşitli bölümlerden bakteriyemi ön tanısıyla gönderilen kan kültür örnekleri BacT/Alert otomatik (Biomérieux, Fransa) kültür sisteminde inkübe edildi. Çalışmada BacT/Alert otomatik kültür sisteminde aerob kültür şişeleri seçildi. Üreme sinyali alınan kültür örneklerinin tamamı koyun kanlı agara ve EMB (Eosin Metilen Blue) agara ve çukulota agara ekimleri yapılarak inkübatörde en az 48 saat süreyle inkübe edildi.

Üreme tespit edilen tüm mikroorganizmalar koloni morfolojileri ve Gram boyanma özelliklerine bakılarak değerlendirilmiştir. İzole edilen bakterilerin tanımlanması, Gram boyama, katalaz testi, plazma koagülaz testi ve biyokimyasal reaksiyonlar temeline dayanan otomatize Vitek-2 sistemi ile identifiye edildi. Gram pozitif bakterilerin tiplendirilmesinde Gram boyamayı takiben katalaz ve plazma koagülaz testleri kullanıldı. Tür tayinleri yapılan izolatlar çalışmada hedeflenen örnek sayısına ulaşıncaya kadar içerisinde %20 oranında gliserol (Merck, Almanya) bulunan buyyonda -70 °C'de saklandı.

İzole edilen Gram pozitif bakterilerin in vitro direnç paternlerinin belirlenmesi için penisilin (10 U), oksasilin (1 µg), klindamisin (2 µg), eritromisin (15 µg), vankomisin (30 µg), gentamisin (10 µg), ve tetrasiklin (30 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı.

3.3. Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar

3.3.1. Kanlı Agar

Hazırlanması için ticari olarak temin edilen kanlı agar (bioMérieux, Fransa) toz besiyerinden 40 gr tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra 45 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında, steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilerek karıştırıldıktan sonra petri kutularına pozisyonlanarak donmaya bırakıldı.

3.3.2. Eosin Metilen-Blue Agar

Hazırlanması için ticari olarak temin edilen EMB (bioMeurieux, Fransa) toz besiyerinden 36 gr tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra 45 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında, steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilerek karıştırıldıktan sonra petri kutularına pozisyonlanarak donmaya bırakıldı.

3.3.3. Müeller Hinton Agar

Hazırlanması için ticari olarak temin edilen Müeller Hinton Agar (bioMeurieux, Fransa) toz besiyerinden 34 gr tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra 45 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında, steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilerek karıştırıldıktan sonra 9 cm çapında steril petri plaklarına pozisyonlanarak donmaya bırakıldı.

3.3.4. Katalaz Testi

Kanlı agarda 37 °C deki 1 günlük inkübasyon sonunda saf olarak üretilen bakteri kolonisinden öze yardımıyla alınarak temiz bir lam üzerine yayıldı. Üzerine %30'luk hidrojen peroksitten bir damla damlatılarak hava kabarcıklarının görülüp görülmemesine göre değerlendirildi. Hava kabarcıklarının görülmesi durumunda test pozitif olarak değerlendirildi.

3.3.5. Koagülaz Testi

Koagülaz testinin yapılması için steril bir tüpe 0.5 ml insan plazması konarak öze yardımıyla plakta üretilen stafilocok kolonisinden plazma besiyerine inoküle edildi. İnokülasyondan sonra tüpler inkübasyon için 37 °C'de 6 saat tutuldu. İnkübasyon sonunda koagülasyon varlığı açısından tüpler her 2 saatte bir kontrol edildi. Koagülasyonun varlığı stafilocok izolatlarının koagülaz pozitif (*S.aureus*) olduğunu gösterdi. Plazmada inkübasyon sonunda koagülasyonun olmaması veya plazma kıvamının inkübasyon önceki durumunu muhafaza etmesi ise koagülaz negatif olarak değerlendirildi.

3.3.6. Triptik Soy Buyyon (Saklama Besiyeri)

Saklama besiyeri hazırlanması için ticari olarak temin edilen Triptik Soy Buyyon besiyerinden (Tryptic Soy Broth, Merck Almanya) 3 gr tartılarak bidistile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra oda ısısında 30 dk bekletildi. Daha sonra üzerine 25 ml gliserol ilavesi yapıldı. Hazırlanan karışım 1'er ml'lik eppendorf tüplerine pozisyonlanarak mikroorganizma izolatlarının derin dondurucuda (-70 °C'de) saklanması için kullanıldı.

3.3.7. Fosfat Buffer Tamponu (PBS)

Aşağıdaki kimyasal maddeler belirtilen miktarlarda tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Solüsyonun pH'sı 7.2 olacak şekilde ayarlanarak tüketilinceye kadar +4 °C'de saklandı.

- 8.0 gr NaCl
- 0.2 gr KCl
- 1.15 gr Na₂HPO₄
- 0.2 gr KH₂PO₄

3.4. Genomik DNA ekstraksiyonu

Gram pozitif bakterilerden stafilokok, streptokok ve enterokokların genomik DNA ekstraksiyonları için ticari olarak temin edilen GF-1 bakterial DNA izolasyon Kiti (Vivantis, Amerika) kullanıldı. DNA izolasyonu aşağıdaki adımlar takip edilerek gerçekleştirildi.

3.4.1. Stafilokok Kökenlerinde DNA İzolasyonu

- Derin dondurucuda (-70 °C'de) saklama besiyeri içinde bulunan bakterilerin kanlı agara pasajları yapıldı ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda saf bakteri kolonilerinden alınarak steril kapaklı santrifüj tüplerine 3 ml konulmuş olan Müller Hinton Broth besiyerine ekim yapıldı ve 37°C'de 48 saat inkübe edilerek çoğaltıldı.
- İnkübasyon sonunda tüpler 3500 devirde 15 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında süpernatant atıldı.

- Pelletin üzerine 1000 µl serum fizyolojik konularak vortekslenerek ardından pipetaj yapıldı.
- Ependorf tüplerindeki örnekler 6000 g'de 2 dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant atıldı.
- Bakteri pelleti üzerine 100 µl Buffer R1 eklendi ve hücrelerin tamamı pipetaj yapılarak resüspanse edildi.
- Hücre süspansiyonu içine 20 µl (50mg/ml) lizozim enzimi eklendi, vorteks yapıldı ve 37°C' de 20 dakika inkübe edildi.
- Tüpler 10.000 g'de 3 dakika santrifüj edilerek süpernatanın tamamı ortamdaki uzaklaştırıldı.
- Sonra pellet üzerine 180 µl Buffer R2 resüspanse edildi ve 20 µl proteinaz K eklendi. Vortekslendi. 65 °C, 1000 rpm' de 20 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun bitiminde ependorf tüplere 400 µl Buffer BG eklendi ve homojen bir solüsyon elde edilene kadar tüp birkaç kez alt üst edilerek iyice karıştırıldı. 65°C' de 10 dakika inkübe edildi.
- Daha sonra tüplere 200 µl %100'lük etil alkol eklenerek 30 sn. kadar vortekslendi.
- Ependorf tüplerde bulunan bu karışım toplama tüpünün içine yerleştirilmiş spin kolona aktarıldı.
- Tüpler 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Sıvı içeren alttaki tüp atılarak kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Üzerine 750 µl yıkama tamponu eklendi ve 10.000g'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon tekrar aynı tüpe yerleştirildi.
- Kalan etanolü uzaklaştırmak için 10.000g' de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin kolon 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpe transfer edildi.
- Mikrosantrifüj tüpe transfer edilen spin kolon üzerine 50-100 µl 70°C' ye ısıtılmış Elution Buffer eklendi ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
- Tüpler 10.000g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin kolon atıldı ve mikrosantrifüj tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA elde edildi.

3.5. PCR Amplifikasyonu

İzole edilen *S.aureus* ve KNS genomik DNA örneklerinden *S.aureus* için ticari olarak temin edilen; *mecA*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *erm(A)*, *erm(C)*, *tet(K)*, *tet(M)*, primerleri ve KNS için *mecA*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *erm(A)*, *erm(C)*, *tet(K)*, *tet(M)*, primerleri kullanılarak termal cyclus cihazında PCR amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi (Çizelge 3.1, 3.2).

Çizelge 3.1. *S.aureus* için multiplex PCR'da kullanılan primer dizileri ve boyutları.

Primer	Hedef gen	Primer dizisi (5'-3')	Fragment boyutu (bp)
<i>mecA</i>	<i>mecA</i> -F	CCT AGT AAA GCT CCG GAA	163
	<i>mecA</i> -R	CTA GTC CAT TCG GTC CA	
16S rDNA3	16S rDNA-F	CAG CTC GTG TCG TGA GAT GT	420
	16S rDNA-R	AAT CAT TTG TCC CAC CTT CG	
<i>femA</i>	<i>femA</i> -F	AAA AAA GCA CAT AAC AAG CG	132
	<i>femA</i> -R	GAT AAA GAA GAA AC CAGC AG	
<i>aac(6')/aph(2'')</i>	<i>aac(6')/aph(2'')</i> -F	GAA GTA CGC AGA AGA GA	491
	<i>aac(6')/aph(2'')</i> -R	ACA TGG CAA GCT CTA GGA	
<i>aph(3')-IIIa</i>	<i>aph(3')-IIIa</i> -F	AAA TAC CGC TGC GTA	242
	<i>aph(3')-IIIa</i> -R	CAT ACT CTT CCG AGC AA	
<i>ant(4')-Ia</i>	<i>ant(4')-Ia</i> -F	AAT CGG TAG AAG CCC AA	135
	<i>ant(4')-Ia</i> -R	GCA CCT GCC ATT GCT A	
<i>erm(A)</i>	<i>erm(A)</i> -F	AAG CGG TAA ACC CCT CTG A	190
	<i>erm(A)</i> -R	TTC GCA AAT CCC TTC TCA AC	
<i>erm(C)</i>	<i>erm(C)</i> -F	AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT	299
	<i>erm(C)</i> -R	TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG	
<i>tet(K)</i>	<i>tet(K)</i> -F	GTA GCG ACA ATA GGT AAT AGT	360
	<i>tet(K)</i> -R	GTA GTG ACA ATA AAC CTC CTA	
<i>tet(M)</i>	<i>tet(M)</i> -F	AGT GGA GCG ATT ACA GAA	158
	<i>tet(M)</i> -R	CAT ATG TCC TGG CGT GTC TA	

Çizelge 3.2. KNS için multiplex PCR’da kullanılan primer dizileri ve boyutları.

Primer	Hedef gen	Primer dizisi (5'-3')	Fragment boyutu (bp)
mecA	mecA -F	<i>CCT AGT AAA GCT CCG GAA</i>	163
	mecA -R	<i>CTA GTC CAT TCG GTC CA</i>	
16S rDNA3	16S rDNA-F	<i>CAG CTC GTG TCG TGA GAT GT</i>	420
	16S rDNA-R	<i>AAT CAT TTG TCC CAC CTT CG</i>	
femA	femA -F	<i>AAA AAA GCA CAT AAC AAG CG</i>	132
	femA -R	<i>GAT AAA GAA GAA AC CAGC AG</i>	
aac(6’)/aph(2’’)	aac(6’)/aph2’’-F	<i>GAA GTA CGC AGA AGA GA</i>	491
	aac(6’)/aph(2’’)-R	<i>ACA TGG CAA GCT CTA GGA</i>	
aph(3’)-IIIa	aph(3’)-IIIa -F	<i>AAA TAC CGC TGC GTA</i>	242
	aph(3’)-IIIa -R	<i>CAT ACT CTT CCG AGC AA</i>	
ant(4’)-Ia	ant(4’)-Ia-F	<i>AAT CGG TAG AAG CCC AA</i>	135
	ant(4’)-Ia-R	<i>GCA CCT GCC ATT GCT A</i>	
erm(A)	erm(A)-F	<i>AAG CGG TAA ACC CCT CTG A</i>	190
	erm(A)-R	<i>TTC GCA AAT CCC TTC TCA AC</i>	
erm(C)	erm(C)-F	<i>AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT</i>	299
	erm(C)-R	<i>TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG</i>	
tet(K)	tet(K)-F	<i>GTA GCG ACA ATA GGT AAT AGT</i>	360
	tet(K)-R	<i>GTA GTG ACA ATA AAC CTC CTA</i>	
tet(M)	tet(M)-F	<i>AGT GGA GCG ATT ACA GAA</i>	158
	tet(M)-R	<i>CAT ATG TCC TGG CGT GTC TA</i>	

S.aureus ve KNS için; PCR karışımı 25 µl olarak ayarlanarak (Çizelge 3.3, 3.4) aşağıdaki thermal cyler döngülerinde amplifikasyon gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.5, 3.6).

Çizelge 3.3. *Aac(6²)/aph(2^{''})*, *aph(3['])-IIIa*, *ant(4['])-Ia* gen bölgeleri amplifikasyonu için PCR karışımları.

Bileşen	Her örnek için µl hacim
Distile su	11,5
Buffer	2.5µl
dNTP	0.5µl
Taq DNA Polimeraz	1µl
MgCl ₂	2.5µl
P1 forward (F)	1µl
P1 reverse (R)	1µl
P2 forward (F)	1µl
P2 reverse (R)	1µl
P3 forward (F)	1µl
P3 reverse (R)	1µl
Genomik DNA	1µl
Toplam	25µl

Çizelge 3.4. *ErmA*, *ermC* gen bölgeleri amplifikasyonu için PCR karışımları.

Bileşen	Her örnek için µl hacim
Distile su	13.5µl
Buffer	2.5µl
dNTP	0.5µl
Taq DNA Polimeraz	1 µl
MgCl ₂	2.5µl
P1 forward (F)	1 µl
P1 reverse (R)	1 µl
P2 forward (F)	1 µl
P2 reverse (R)	1 µl
Genomik DNA	1 µl
Toplam	25µl

Çizelge 3.5. *TetK*, *tetM* gen bölgeleri amplifikasyonu için PCR karışımları.

Bileşen	Her örnek için µl hacim
Distile su	13.5
Buffer	2.5µl
dNTP	0.5µl
Taq DNA Polimeraz	1µl
MgCl ₂	2.5µl
P1 forward (F)	1µl
P1 reverse (R)	1µl
P2 forward (F)	1µl
P2 reverse (R)	1µl
Genomik DNA	1µl
Toplam	25µl

Çizelge 3.6. *16SrRNA*, *femA* gen bölgeleri amplifikasyonu için PCR karışımları.

Bileşen	Her örnek için µl hacim
Distile su	13.50
Buffer	2.5µl
dNTP	0.5 µl
Taq DNA Polimeraz	0.5µl
MgCl ₂	2.5µl
P1 F	1 µl
P1 R	1 µl
P2 F	1 µl
P2 R	1 µl
Genomik DNA	2µl
Toplam	25µl

Çizelge 3.7. *Aac(6['])/aph(2^{''})*, *aph(3['])-IIIa*, *ant(4['])-Ia* gen bölgeleri amplifikasyonu için ısı döngüleri.

Aşama	Tanımlama	Sıcaklık	Süre	
1	İlk denatürasyon	95 °C	5 dk.	
2	Denatürasyon	95 °C	2 dk.	} 30 siklus
	Bağlanma (Annealing)	54 °C	1 dk.	
	Uzama	54 °C	1 dk.	
3	Son uzama (final extension)	72 °C	7 dk.	
4	Bekleme	+4 °C	∞	

Çizelge 3.8. *ErnA*, *ermC* gen bölgeleri amplifikasyonu için ısı döngüleri.

Aşama	Tanımlama	Sıcaklık	Süre	
1	İlk denatürasyon	94 °C	4 dk.	
2	Denatürasyon	95 °C	1 dk.	} 30 siklus
	Bağlanma (Annealing)	60 °C	1 dk.	
	Uzama	72 °C	50 sn.	
3	Son uzama (final extension)	72 °C	7 dk.	
4	Bekleme	+4 °C	∞	

Çizelge 3.9. *TetK*, *tetM* gen bölgeleri amplifikasyonu için ısı döngüleri.

Aşama	Tanımlama	Sıcaklık	Süre	
1	İlk denatürasyon	94 °C	4 dk.	
2	Denatürasyon	94 °C	45 sn.	} 30 döngü
	Bağlanma (Annealing)	60 °C	1 dk.	
	Uzama	72 °C	1 dk.	
3	Son uzama (final extension)	72 °C	7 dk.	
4	Bekleme	+4 °C	∞	

Çizelge 3.10. *16sRNA*, *femA* gen bölgeleri amplifikasyonu için ısı döngüleri.

Aşama	Tanımlama	Sıcaklık	Süre	
1	İlk denatürasyon	94 °C	5 dk.	
2	Denatürasyon	94 °C	2 dk.	} 30 siklus
	Bağlanma (Annealing)	55 °C	2 dk.	
	Uzama	72 °C	1 dk.	
3	Son uzama (final extension)	72 °C	7 dk.	
4	Bekleme	+4 °C	∞	



Şekil 3.1. PCR amplifikasyonunda kullanılan ısı döngü (Thermal cycler, Techne Flexigene, İngiltere) cihazı.

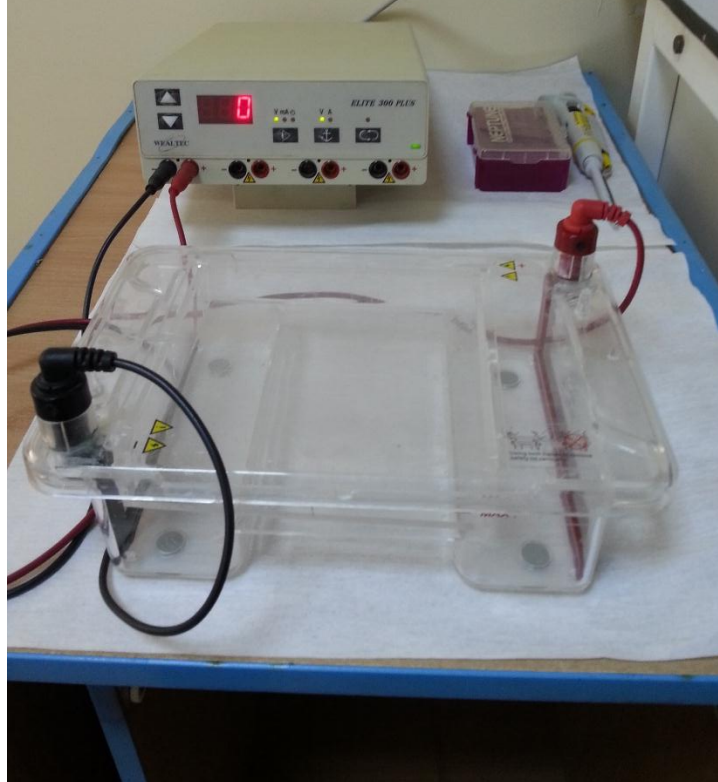
3.5.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez Tekniği ile Görüntülenmesi

PCR işleminden sonra amplifikasyon ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülerek araştırıldı. Agaroz jelin hazırlanmasında TAE (Tris-Asetat-EDTA) tamponu kullanıldı. TAE 50X olacak şekilde stok solüsyon olarak hazırlandı ve 1xTAE olacak şekilde sulandırılarak kullanıldı.

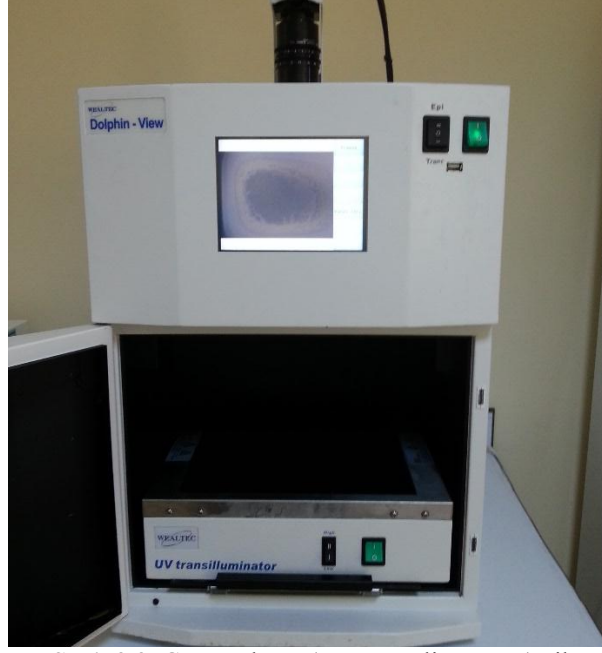
- 50X TAE Elektrofrez Tamponu: 1 litre
- 242 gr Tris Base (Sigma)
- 57.1 ml Glasiyal asetik asit (Sigma)
- 100 ml 0.5 M EDTA (pH 8) (Sigma)

242 Gram Tris base 600 ml distile su içerisinde çözdürüldükten sonra glasiyal asetik asit eklendi. En son olarak EDTA eklendi ve son hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

1. Elektroforez için stok TAE solüsyonundan 1xTAE olacak şekilde distile su ile dilüe edildi.
2. 1 gr agaroz tartılarak 100 ml'lik bir erlenmayere konuldu, 50 ml 01X TAE tamponu eklendi (%2'lük agaroz) ve 10 mg/ml'lik etidyum bromid'den 4 µl ilave edildi.
3. Mikrodalga fırında 1-2 dk kaynatıldı.
4. Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi.
5. Yaklaşık 60° C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk bekletildi.
6. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kabı elektroforez tankına (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD) yerleştirildi (Şekil 3.4).
7. Amplifiye edilen örneklerden 7'şer µl 3µl yükleme tamponu ile karıştırılarak jelde açılan kuyucuklara yerleştirildi.
8. Yükleme sırasında DNA marker (100 bp'lik, Fermentas) kullanıldı.
9. Jele elektrik akımı (15 Volt/cm) verilerek 30 dk elektroforez yapıldı.
10. Yaklaşık 30 dk sonra yürütme işlemi durdurularak jel görüntüleme cihazı (Wealtec, Dolphin-View, ABD) ile bantların varlığı incelendi (Şekil 3.5).



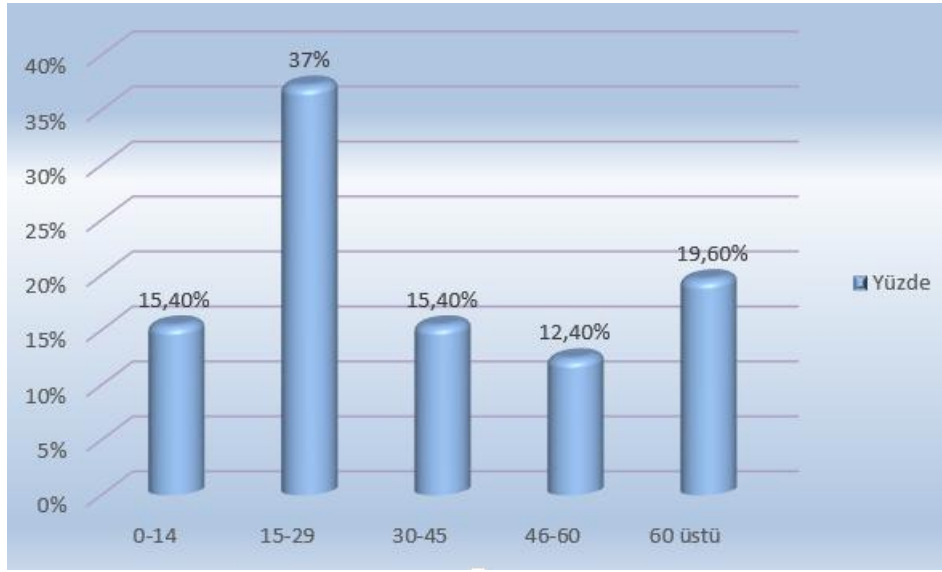
Şekil 3.2. Elektroforez ünitesi.



Şekil 3.3. Görüntüleme (UV Translimunatör) cihazı.

4. BULGULAR

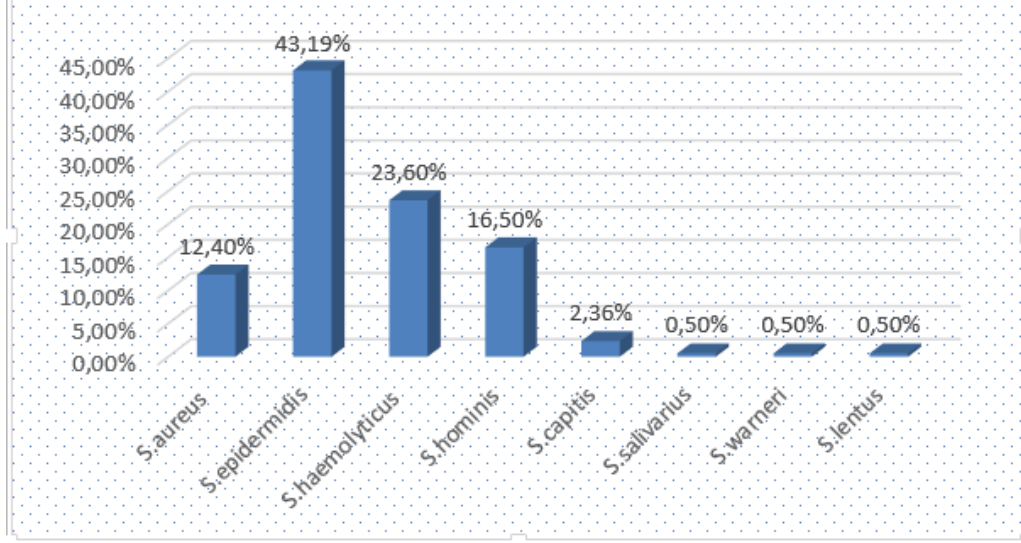
Çalışmada kan kültürü sonucu pozitif çıkan hastaların yaş aralığı 1-82 arasında değişmekteydi. Hastaların 26'sı 0-14, 63'ü 15-29, 26'sı 30-45, 21'i 46- 60 ve 33'ü 60 yaşından büyük idi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hastaların yaşlara göre dağılımı.

Çalışmada kan kültürlerinden izole edilen toplam 169 pozitif kan kültüründen % 12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* tespit edilirken, %87.6 (148/169)'sında koagülaz negatif stafilokok tespit edilmiştir.

Bu patojen mikroorganizmaların dağılımı incelendiğinde %12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* tespit edilirken, %43.2 (73/169)'unda *S.epidermidis*, %23.6 (40/169)'sında *S.haemolyticus*, %16.5 (28/169)'inde *S.hominis*, %2.36 (4/169)'sında *S.capitis*, %0.5 (1/169)'inde *S.salivarius*, %0.5 (1/169)'inde *S.warneri*, %0.5 (1/169)'inde *S.lentus* olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kan kültürlerinden izole edilen etken mikroorganizmaların dağılımı.

4.1. Antibiyogram Sonuçları

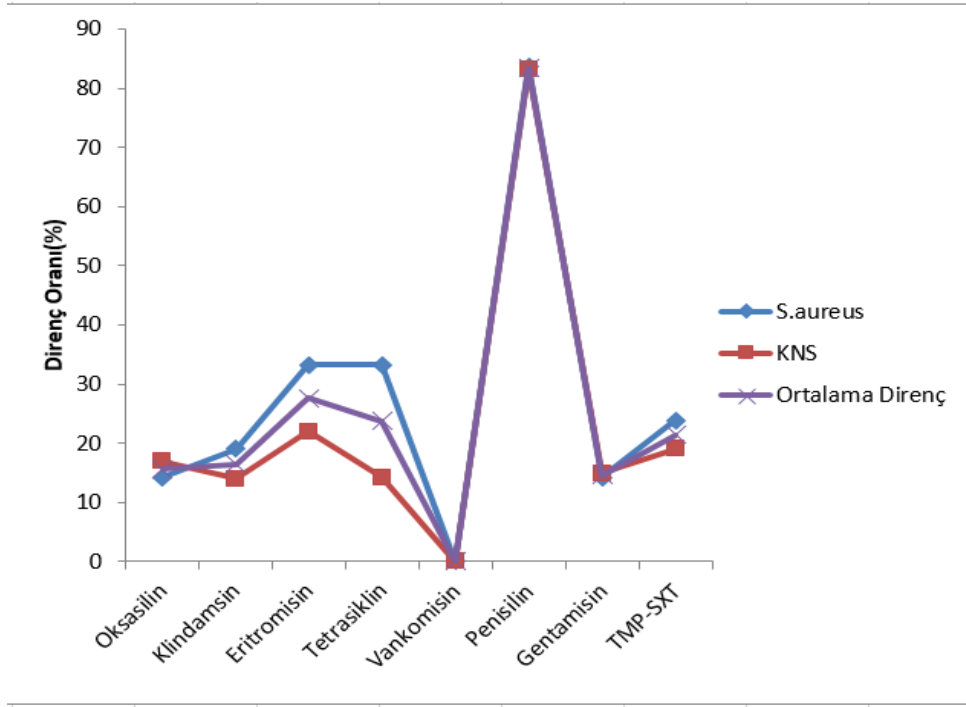
Çalışmada stafilokoklarda klindamisin, eritromisin, gentamisin, penisilin, tetrasiklin, vankomisin ve oksasilin antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 (biomeriux, Fransa) otomatize sistemle araştırıldı. *S.aureus* izolatlarına ait MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri ve antibiyotik direnç profilleri Çizelge 4.1’de, KNS izolatlarına ait MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri ve antibiyotik direnç profilleri ise Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *S.aureus* antibiyotik kökenlerinde MİK değerleri ve direnç oranları.

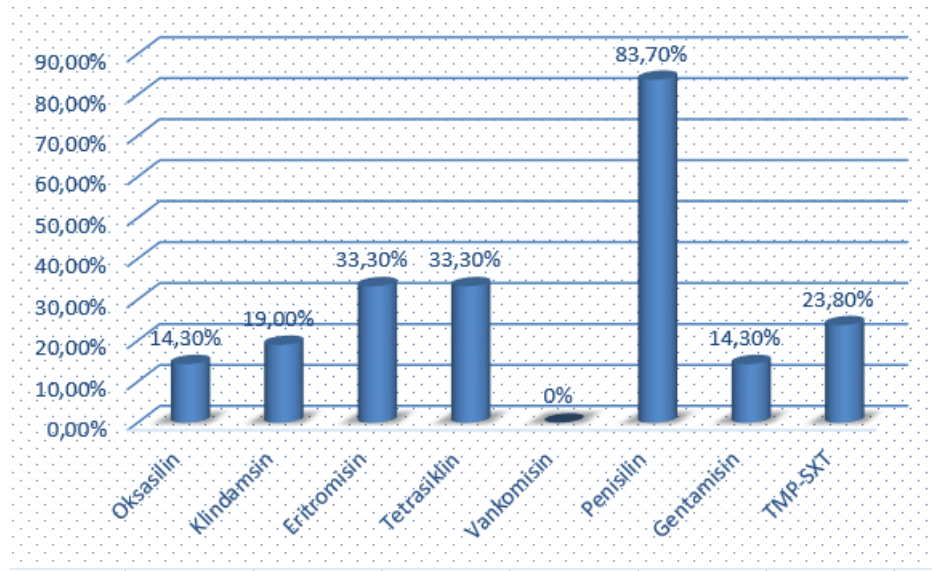
Antibiyotik	MİK Değerleri µg/ml	<i>S.aureus</i> n=21
		Sayı (%)
Oksasilin	0.25-32	3 (14,3)
Klindamsin	0.25-2	4 (19,0)
Eritromisin	0.25-8	7 (33,3)
Tetrasiklin	0.25-4	7 (33,3)
Vankomisin	0.25-1	0 (0)
Penisilin	0.125-0.5	18 (83,7)
Gentamisin	0.25-16	3 (14,3)
TMP-SXT	0.5-4	5 (23,8)

Çizelge 4.2 Koagülaz negatif stafilokok kökenlerinde MİK değerleri ve antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik	MİK Değerleri µg/ml	KNS n=148
		Sayı (%)
Oksasilin	0.25-32	25 (16,9)
Klindamsin	0.25-2	21 (14,2)
Eritromisin	0.25-8	32 (22)
Tetrasiklin	0.25-4	22 (14,9)
Vankomisin	0.25-1	0 (0)
Penisilin	0.125-0.5	123 (83,10)
Gentamisin	0.25-16	22 (14,9)
TMP-SXT	0.5-4	28 (19)

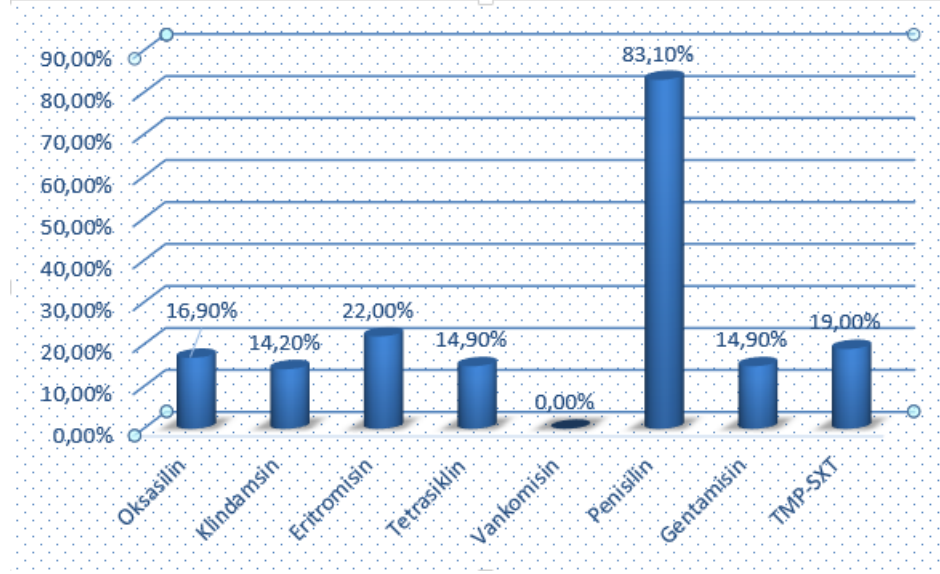


Şekil 4.3. Stafilokok suşlarının antibiyotik direnç profilleri.



Şekil 4.4 Kan kültürlerinden izole edilen *S.aureus* izolatlarda antibiyotik direnç oranları

Çalışmada, *S.aureus* suşlarının tamamı vankomisine duyarlıydı. Suşların en dirençli olduğu antimikrobiyalin %83.7 ile penisilin, penisilin direncinden sonra %33.3 ile eritromisin ve tetrasiklin direncinin olduğu saptanırken, bunu %19.0 ile klindamsin %14.3 ile metisilin ve gentamisin direncinin takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif izolatlarda antibiyotik direnç oranları.

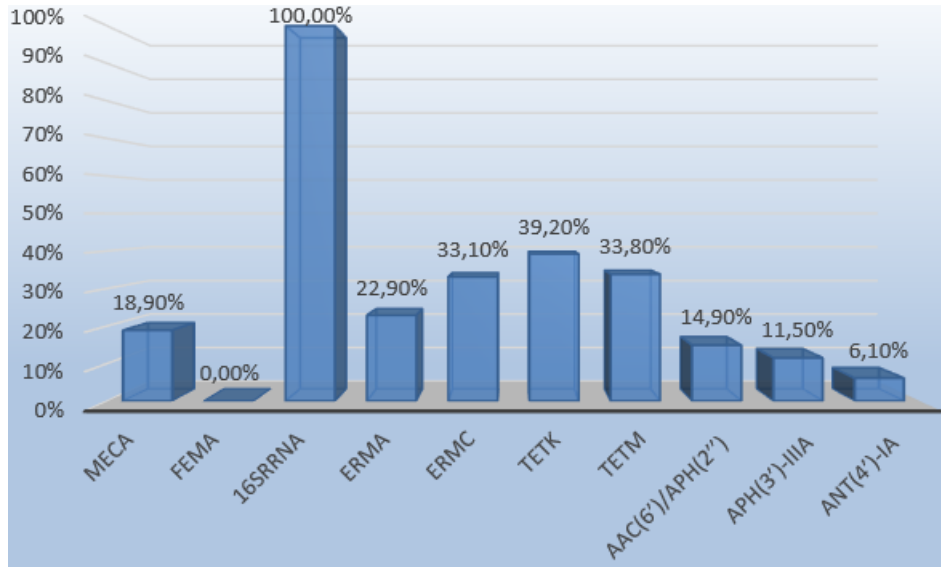
Çalışmada, KNS izolatlarının suşlarının tamamı vankomisine duyarlıydı. Bu kökenler arasında en yüksek direnç %83.1 ile penisiline karşı bulunurken, bunu %22 ile eritromisin, %19 ile TMP-SXT, %16.9 ile oksasilin, %14.9 ile gentamisin ve tetrasiklin ve %14.2 ile klindamisin direncinin takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

PCR Bulguları

Kan kültürlerinden izole edilen, 21 *S.aureus* kökeninin 21 (%100)'ünün *femA*, 21 (%100)'ünün 16srRNA, 13 (%62)'ünün *mecA*, 3(%14,3)'ünün *ermA*, 7 (%33.3)'sinin *ermC*, 8(%38.1)'inin *tetK*, 8 (%38.1)'inin *tetM*, 7(%33.3)'sinin *aac(6')/aph(2'')*, 3(%14.3)'ünün *aph(3')-IIIa*, 2 (%9.5)'sinin *ant(4')-Ia* genleri açısından pozitif olduğu tespit edilirken (Şekil 4.5), 148 KNS kökeninden 28 (%18.9)'ünün *mecA*, 148 (%100)'ünün 16SrDNA, 49 (%33.1)'unun *ermC*, 34 (%22.9)'ünün *ermA*, 58 (%39.2)'inin *tetK*, 50 (%33.8)'sinin *tetM*, 22 (%14.9)'sinin *aac(6')/aph(2'')*, 17 (%11.5)'sinin *aph(3')-IIIa*, 9 (%6.1)'unun *ant(4')-Ia* genleri açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6).

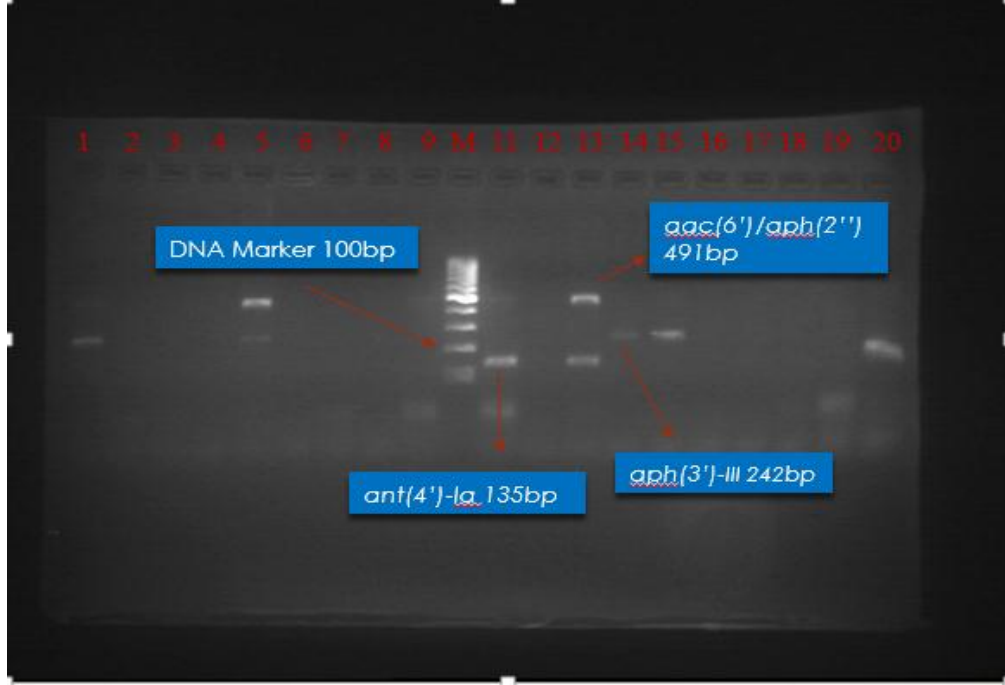


Şekil 4.6. *S.aureus* izolatlarında *mecA*, *femA*, *16SrRNA*, *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia* gen frekansı.

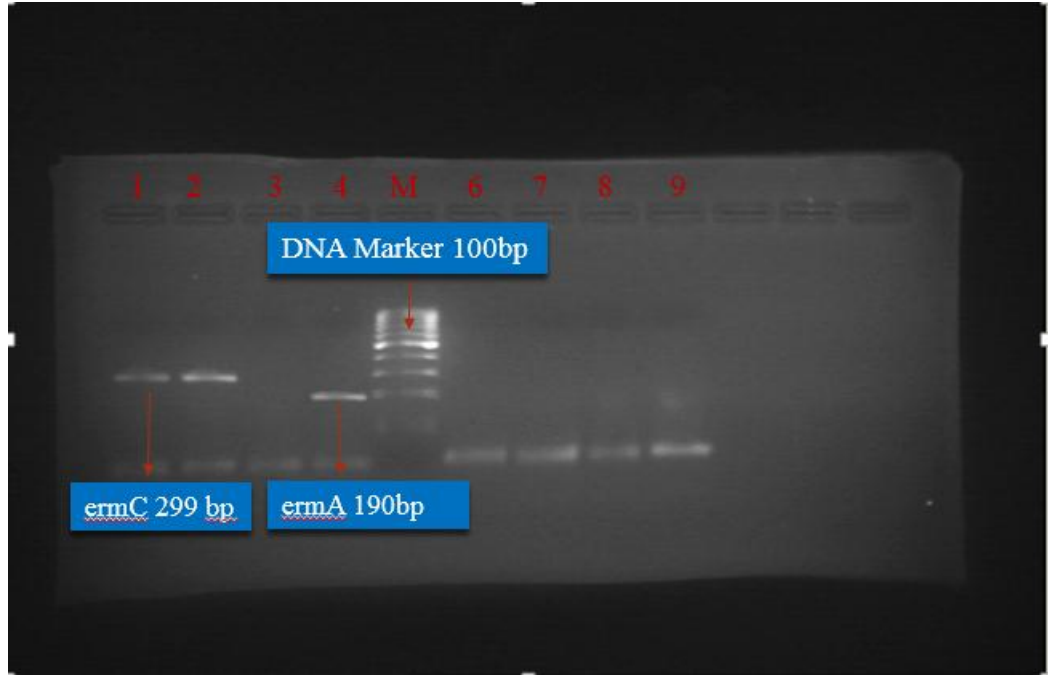


Şekil 4.7. KNS izolatlarında *mecA*, *femA*, *16SrRNA*, *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia* gen frekansı.

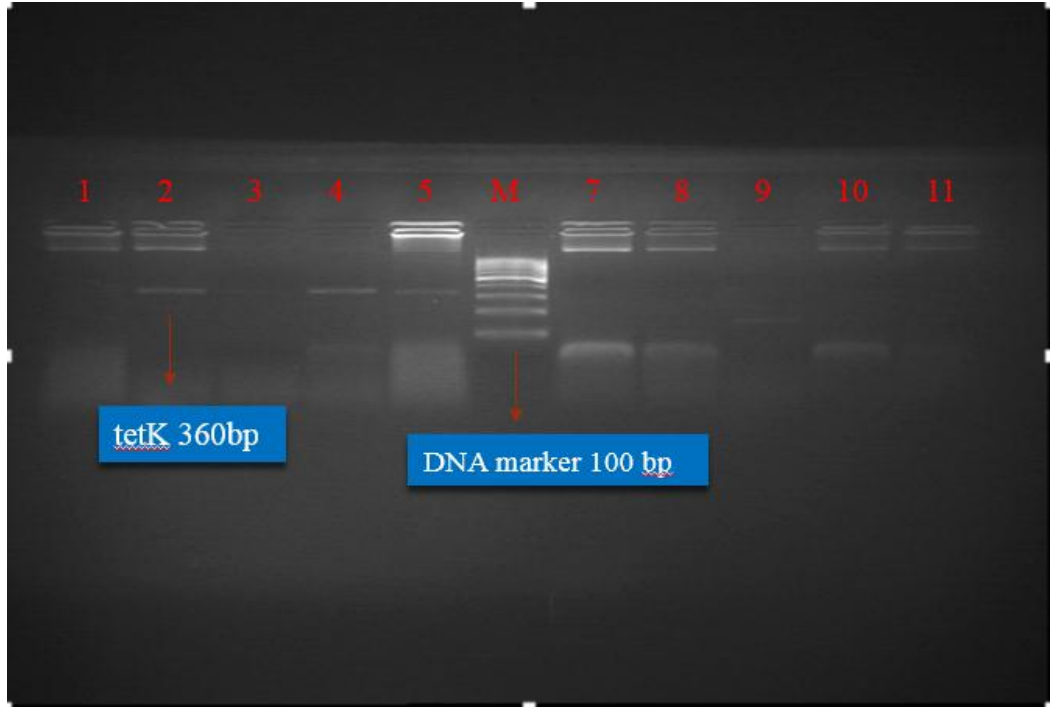
PCR Görüntüleri



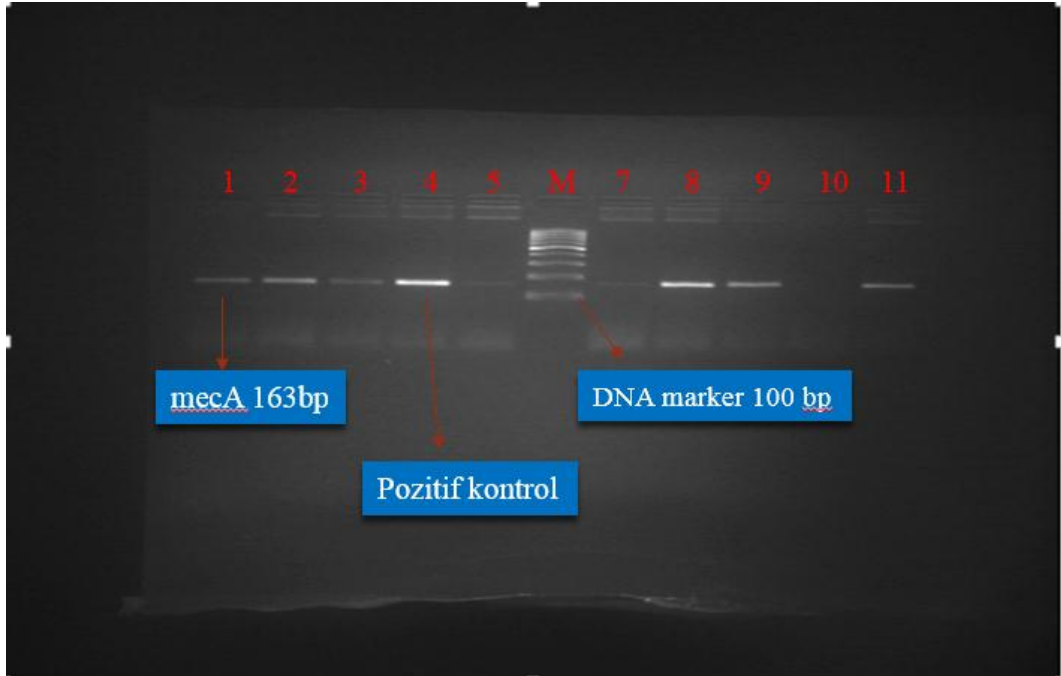
Şekil 4.8. *Aac(6')/aph(2'')*(491bp), *aph(3')-III*(242bp), *ant(4')-Ia* (135bp) genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. *aph(3')-III*(242bp):1-5 ve 14. bantlar pozitif. 15. bant pozitif kontrol.



Şekil 4.9. *ErmC* (299bp), *ermA* (190bp) genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. 1 ve 2 *ErmC* (299bp) pozitif bantlar.



Şekil 4.10. *TetK* (360 bp) geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. 2-5 *tetK* (360 bp) pozitif bantlar.



Şekil 4.11. *MecA* (163 bp) geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. *MecA* (163 bp) pozitif bantlar: 1-5. bantlar, 7-9. Bantlar. 10: Negatif kontrol. 11: Pozitif kontrol.

5.TARTIŞMA

Staphylococcus aureus'un neden olduğu kan yolu infeksiyonları yüksek derecede morbidite ve mortalite ile ilişkili ciddi infeksiyonlardır. *S.aureus* bakteriyemisi, hastalarda endokardit gibi metastazik infeksiyonlarla sonuçlanmaktadır. Geleneksel olarak, *S.aureus* bakteriyemisinin tedavi seçeneği büyük oranda metisilin dirençli patojene bağlıdır. Etkisi kanıtlanmış yeni antibiyotikler ampirik tedavi için hem duyarlı hem de dirençli suşlara karşı önemlidir. Hem metisilin duyarlı *S.aureus* hem de metisilin dirençli *S.aureus*'un tedavisinde son zamanlarda mevcut olan antimikrobiyal ajanlarda oldukça önemli ilaç direncinin olduğu, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde akılcı olmayan antibiyotik tedavisi neticesinde ilaç direnç profilleri ciddi oranlarda yükselmiştir (Bearman ve Wenzel 2005).

S.aureus, insanları doğal rezervuar olarak kullanan çok yönlü oldukça virulan bir patojendir (Lowy, 1998). Son yıllarda gerek toplum kökenli ve gerekse de hastane kaynaklı olmak üzere stafilokokların neden olduğu infeksiyonların oranında ciddi artışlar olduğu bildirilmiştir (Bamberger ve ark. 2005, Weems ve ark. 2005). Aynı zamanda, çoklu ilaca dirençli suşların artmasından dolayı bu mikroorganizma infeksiyonlarının tedavisi oldukça zordur (Grundmann ve ark. 2006). *S.aureus* bakteriyemi (Fluit et al 2000, Wisplinghoff ve ark. 2004) ve endokarditin (Fowler ve ark. 2005, Miro ve ark. 2005) primer sebeplerinden biri olup *S.aureus* bakteriyemisi önemli organ infeksiyonlarına yol açabilmekte ve yüksek derecede mortal seyirli olabilmektedir. *S.aureus* bakteriyemisi olan 724 hastanın dahil edildiği bir çalışmada hastaların %12'sinde endokardit olmak üzere toplam hastaların %34'ünde metastazik infeksiyonların geliştiği ve bu infeksiyonlar sonucun da hastaların %22'sinde de mortalite tespit edildiği bildirilmiştir (Fowler et al 2003). Hatta aynı çalışmada intravenöz kataterin yol açtığı bakteriyemili hastalar arasında metastazik infeksiyonların oranının %14 olduğu bildirilmiştir (Fowler ve ark. 2003). Virulan *S.aureus* kökenlerinin şüpheli ve onaylanmış *S.aureus* bakteriyemisi vakalarının hassasiyetle tedavisi gerekmektedir.

S.aureus bakteriyemisi önemli mortalite ve enfektif endokardit (Hsu 2005), omur osteomyeliti (Jensen ve ark.1997) tekrarlayan infeksiyonlar gibi önemli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Fakat, komplikasyonları kan kültürü sonucu pozitif olduğu anda tanımlamak zor olabilmektedir (Ringberg ve ark. 2000). Fowler ve arkadaşları (Fowler ve ark. 2003) gelişmekte olan olası komplikasyonları tahmin etmek için 4 faktörün varlığına dayalı bir risk skor sistemi geliştirmiştir. Buna göre *S.aureus* bakteriyemisi puanı bireysel risk faktörleri için toplam puanın toplamına eşittir. Her toplum kökenli infeksiyonlar akut sistemik infeksiyonu düşündüren deri lezyonları ve ısrarlı, en az 72 saat süren ateş için 1 puan, 48-96 saati takip eden pozitif kan kültürü için 2 puan olarak değerlendirilmektedir. Tüm faktörler varlığında ise %90 oranında komplikasyon riski olduğu, hiçbir faktör olmadığında ise komplikasyon riskinin %16 olduğu hesaplanmaktadır (Fowler ve ark. 2003).

Çalışmamızda kan yolu infeksiyonlarından izole edilen Gram pozitif bakteriyemi etkeni olarak tespit ettiğimiz Gram pozitif bakterilerin tür tayinleri ile *S.aureus* ve koagülaz negatif stafiloklarda *mecA* ve *femA* gibi önemli virulans genleri ile *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM*, *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia* genlerinin varlığını multiplaks PCR yöntemiyle araştırtırdık.

Çalışmada izole edilen stafilokokların tür dağılımı incelendiğinde 169 pozitif kan kültürü örneğinden kültürlerin %12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* tespit edilirken, %43.2 (73/169)'sinde *S.epidermidis*, %23.6 (40/169)'sında *S.haemolyticus*, %16.5 (28/169)'inde *S.hominis*, %2.4 (4/169)'ünde *S.capitis*, %0.5 (1/169)'inde *S.salivarius*, %0.5 (1/169)'inde *S.warneri*, %0.5 (1/169)'inde *S.lentus* olarak tespit edilmiştir. Literatürde koagülaz negatif stafilokokların en önemli kan yolu infeksiyonları etkeni olduğu bildirilmektedir. Mattos ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada kan yolu infeksiyonlarına neden olan KNS izolatları arasında en yaygınının *S.epidermidis* olduğu bildirilmiştir. (de Mattos ve ark. 2003). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak *S.epidermidis* türünün oldukça sık izole edildiği görülmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda nozokomiyal kan yolu infeksiyonlarına neden olan en yaygın bakterinin koagülaz negatif stafilokoklar bunu takiben de *S.aureus*'un bu infeksiyonlarda önemli ajan oldukları bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak *S.epidermidis* türünün oldukça sık izole edildiği bunu

S.aureus'un tekip ettiği görülmektedir (Ben ve ark 2004, Mitt ve ark 2009, Richards ve ark 2003).

Tüm dünyada ve ülkemizde Gram pozitif bakteriler giderek artan sıklıkta hastane infeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmalarının yanısıra, ileri derecedeki antibiyotik direnci nedeniyle ciddi bir sorun haline gelmekte olup, bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar son yıllarda oldukça önemli hale geldiği, özellikle de kan yolu infeksiyonların ciddi tehlike oluşturduğu bildirilmektedir (Schaberg ve ark. 1991, Edmond ve ark. 1999).

Çelik ve ark.'larının, 2009-2013 yılları arasında kan yolu infeksiyonlardan izole edilen *S. aureus* kökenlerinde ilaç direncini araştırdıkları çalışmalarında metisilin direncini %8.9 olarak tespit ederlerken, eritromisin, gentamisin, tetrasiklin ve klindamisin dirençlerini ise sırasıyla %14.4, %4.3, %7.4 ve %8.9 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada vankomisin, teikoplanin, linezolid direnci ise saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise *S.aureus* izolatları arasında metisilin direnci oranı %14.3, tetrasiklin ve eritromisin direnci %33.3 olarak bulunurken, gentamisin ve klindamisin dirençleri ise sırasıyla %14.3 ve %19 olarak bulunmuştur. Metisilin direnci ve diğer antibiyotiklerde izolatların direnç oranının yüksek bulunmasını son yıllarda hastanemizin adeta bir savaş hastanesi gibi hizmet vermesine direnç profilleri yüksek mikroorganizmalarla infekte olmaya bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Duran ve ark.'larının yine aynı bölge ve hastanede stafilokok kökenlerinde antibiyotik direncini araştırdıkları bir çalışmada, *S.aureus* izolatları arasında metisilin direnci oranı %16.5, gentamisin, klindamisin ve tetrasiklin direncini ise sırasıyla %38, %41 ve %60.4 olarak tespit ederlerken, yine tüm suşların vankomisine duyarlı olduklarını saptamışlardır. Aynı bölgede yapılan bu iki çalışmayı karşılaştırdığımızda antibiyotik direnç paternleri arasında fark olmadığı, direnç oranlarının birbirlerine oldukça yakın oldukları görülmektedir (Duran ve ark. 2012).

Ülkemizde yapılan 2002-2003 yıllarını kapsayan bir başka çalışmada ise çocuk servisinde yatan hastalarda bakteriyemi etkeni olan mikroorganizma türleri ve antibiyotik direnci araştırılmış, *S.aureus* izolatlarında metisilin direnci %58, penisilin direnci %95 olarak

bulurken, eritromisin, klindamisin, gentamisin direnci ise sırasıyla %83, %75 ve %41 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada bizim ve diğer çalışmalarda olduğu gibi vankomisin direncine rastlanılmamıştır. Aynı çalışmada koagülaz negatif stafilocoklar arasında ise metisilin ve diğer antibiyotiklerin direnç oranlarının *S.aureus* kökenlerine kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. KNS izolatlarında metisilin direnci %28 olarak bulunurken, penisilin, eritromisin, klindamisin ve gentamisin direnç oranları sırasıyla %70, %68, %34 ve %32 olarak bulunmuştur (Kaya ve ark. 2007).Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda koagülaz negatif stafilocok kökenlerinde metisilin direnci daha yüksek bulunurken, diğer antibiyotiklerde ise koagülaz negatif stafilocoklarda genel olarak bakıldığında antibiyotik direncinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. *S.aureus* izolatlarında metisilin direnci hem coğrafi bölgeler arasında hem de aynı bölgede yer alan sağlık kuruluşları arasında değişkenlik göstermektedir.

Toplum kökenli stafilocoklarda metisilin direnci, hastane kaynaklı stafilocoklardaki metisilin direncinden daha düşük orandadır. Aynı zamanda servislerden servislere de metisilin direnci farklılık göstermektedir. Yoğun bakımda metisilin dirençli stafilocokların oranı diğer servislere göre daha fazladır. Metisilin direnç oranlarının bu nedenlerden farklılık gösterebileceğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde olduğu gibi dünyanın farklı merkezlerinde yapılan çalışmalarda da gerek metisin direnci ve gerekse de diğer antimikrobiyallara direnç oranlarının ülkeden ülkeye, şehirden şehire hatta aynı şehrin hastaneleri arasında dahi değişebileceği bildirilmektedir. Dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda stafilocok kökenleri arasında metisilin direncini %68-6 arasında değişebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Ben ve ark. 2004, Bousquet ve ark. 2013, Berrazeg ve ark. 2012 , Cao ve ark. 2012).

Ülkemizde farklı illerde yapılan birçok çalışmada Gram pozitif bakterilerde metisilin direnç oranlarının farklı oranlarda olduğu görülmektedir. Dündar ve Tamer'in, 2005-2007 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmalarında, *S.aureus* izolatlarında metisilin direnç oranı %23 olarak bulunurken, metisilin direnç oranlarının çok farklı oranlarda tespit edildiği çalışmalara rastlamak mümkündür. Ülkemizde yapılan çeşitli

çalışmalarda stafilokoklarda metisilin direnç oranlarının oldukça farklı oranlarda olduğu bildirilmiştir (Kurutepe ve ark. 2007, Gürsoy ve ark. 2009, Türk Dağı ve ark. 2011, Tuncer ve ark. 2009).

Tedavide uygun antibiyotik verilmesi kadar tedaviye hızlı başlanılması da önemlidir. Bu sebeple bakteriyemi olgularında ilaç direnç profillerini saatler içinde belirleyebilecek yöntemlerin kullanılması hem mortalite hem de morbidite açısından hayati derecede büyük öneme sahiptir. Bu sebeple konvansiyonel yöntemlerle direnç belirlenmesi yanında hem spesifite hem de sensitivite sorunu olmayan PCR tabanlı moleküler yöntemlerin tercih edilmesi oldukça önemlidir.

S.aureus bakteriyemisi tedavi süresi, akut sistemik infeksiyon düşündüren deri lezyonları, ısrarlı 72 saatlik ateş, toplum kökenli infeksiyonlar, 48-96 saati takip eden pozitif kan kültürü sonucu gibi bağımsız belirleyiciler tarafından tanımlanan enfeksiyonun komplike olup olmadığına bağlı olmalıdır (Fowler ve ark. 2003). Komplike *S.aureus* bakteriyemisinin tavsiye edilen tedavi sresinin 4-6 hafta arasında değiştiği bildirilmektedir (Mitchell ve ark. 2005).

Komplike olmayan bakteriyemiler, kateterle ilgili infeksiyon ve kateterin çıkarılması, negatif kan kültürü sonucu, 72 saat içinde ateş düşmesi, transözofageal ekokardiyogramla ilgili normal bulgular, eklem yerlerinde ve damar içi protez olmaması ve metestazik enfeksiyonları düşündüren belirtilerin olmaması gibi tüm kriterleri gösteren vakalar olarak tanımlanmıştır (Fowler ve ark. 2003). Komplike olmayan bakteriyemiler için 1-2 haftalık tedavinin yeterli olabileceği bildirilmektedir (Mitchell ve ark. 2005).

Katater ilişkili komplike olmayan *S.aureus* bakteriyemisi gelişen hastaların 2 haftadan uzun süre tedavi edilmesi ile 2 haftadan daha az süre tedavi edilmeleri arasında anlamlı bir farkın olmadığı bildirilse de, bu tip hastaların en az 2 hafta süre ile tedavi edilmeleri gerektiği bildirilmektedir (Boucher ve ark. 2006).

İki haftalık tedavinin etkinliğinin yeterli olacağı kanaati çoğu zaman risk faktörlerinin kesin olarak tanımlanması zorluğu ile problemlere yol açabilmektedir. Sözgelimi, santral venöz kataterle ilgili *S.aureus* bakteriyemisi olan hastalarda %71 oranında kan pıhtılaşması olabileceği bildirilmiş (Crowley ve ark. 2008), bu durumun

enfeksiyonların başarıyla tedavi edilemesinde neden en az iki haftalık süreye ihtiyaç duyulduğunu açıklamaya yardımcı olabilmektedir. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), *S.aureus* bakteriyemisinin oldukça önemli bir virulan enfeksiyon olarak tanımlamaktadır (Baddour ve ark. 2005). *S.aureus* bakteriyemisi için antimikrobiyal ajanların seçimi, antibiyotik duyarlılığı, klinik deneyim ve klinik araştırma verileri üzerine dayanarak yapılmalıdır.

S.aureus bakteriyemisinin tedavisi için antimikrobiyal ajanın seçimi ve başarısı, büyük ölçüde patojenin metisilin duyarlılığına bağlıdır. Metisilin duyarlı *S.aureus* tedavisinde penisilinaz dirençli yarı sentetik penisilinle, sefolarin gibi 1. kuşak sefalosporinler başarıyla kullanılabilirler (Joint Formulary Committee 2007). Bir siklik lipopeptid olan daptomisin ise komplike doku ve yumuşak doku enfeksiyonları ya da şüpheli endokardit ile ilgili *S.aureus* bakteriyemisi tedavisi için kullanılabilir (Cubicin 2007). *S.aureus* bakteriyemisi ve enfekte endokardit tedavisi için daptomisinin başarısının araştırıldığı yirmi yılı kapsayan bir çalışmada metisilin duyarlı *S.aureus*, metisilin dirençli *S.aureus* enfekte endokardit vakaları tedavisinde standart tedavilere benzer bir etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (Fowler ve ark. 2006).

Penisilinaz dirençli yarı sentetik penisilinlerin metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisi olan hastalarda tedavi başarısının %82 olduğu bildirilmiştir (Leder ve ark. 1999). Başka benzer bir çalışmada ise metisilin duyarlı Gram pozitif mikroorganizmaların neden olduğu diğer ciddi enfeksiyonların tedavisinde ise %89 oranında başarılı olduğu bildirilmiştir (Mehtar ve ark. 1995). Stafilokokkal enfeksiyonların tedavisi için aminoglikozidler ile penisilinlerin kombinasyonunun klinik yararı henüz kanıtlanmamıştır. *S.aureus* endokarditi tedavisi için nafsiline gentamisin eklenmesinin, hastalık, ölüm ve artan nefrotoksisite ile ilgisi üzerine kayda değer bir etkisi olmadığını göstermiştir (Korzeniowski ve Sande 1982).

Vankomisin metisilin dirençli stafilokokkal ve ampisilin dirençli enterokokal enfeksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan glikopeptid bir antibiyotiktir (Finch 2006). Çalışmamızda stafilokok kökenlerinin hiçbirinde vankomisin direncine rastlanılmamıştır. Vankomisinin metisilin duyarlı *S.aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde çok etkili olmadığı, tedavide önermediği de bildirilmektedir (Chang ve ark. 2003, Fowler

ve ark. 1998). Bundan dolayı da bu mikroorganizmaların tedavisinde tavsiye edilmemektedir. Bir çalışmada (Stryjewski ve ark. 2007) vankomisin ya da sefalozin ile tedavi edilen metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisi olan hastalar değerlendirildiğinde, tedavi başarısızlığının vankomisin (%31.2) alan hastalarda sefalozin (%13) alan hastalardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Hastalarda hastaya özgü koşullar olmadığında (beta laktam grubu antibiyotiklere allerji gibi) vankomisin, metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisi olan hastaların ampirik tedavisinde kullanılmaması önerilmektedir (Chang ve ark. 2003).

Vankomisin tedavisi alan metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisi olan hastaların nafsilin tedavisi alan hastalardan daha yüksek oranda nüksetme ve mikrobiyolojik başarısızlık gösterdiği bildirilmiştir (Chang ve ark. 2003).

Daptomisin, vankomisin, teikoplanin, linezolid, trimetoprim-sulfametoksazol ve kinupristin-dalfopristinin metisilin dirençli *S.aureus* bakteriyemi tedavisi için tümü potansiyel seçenektir. Metisilin dirençli *S.aureus* bakteriyemisi tedavisinde daptomisin etkinliği klinik çalışmalarda gösterilmiştir (Fowler ve ark. 2006). Fowler ve arkadaşları tarafından yayımlanan bir çalışmada enfektif endokardit gelişmeyen *S.aureus* bakteriyemili hastalarda daptomisin ve standart tedavi alan hastaların karşılaştırıldığı bir çalışmada tedavi başarısızlığının daptomisin tedavisi alan hastalarda standart tedavi alan hastalardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tedavi başarısızlığı görülen hastaların çoğunun kalıcı infeksiyonu olan ve gerekli cerrahi müdahale almayan hastalarda görüldüğü tespit edilmiştir (Fowler ve ark. 2006). Ayrıca, tedaviyi sınırlandıran yan etkilerle ilgili tedavi başarısızlığı standart tedavi alan hastalarda, daptomisin tedavisi alan hastalardan daha yüksek olarak bildirilmiştir (Fowler ve ark. 2006).

Metisilin dirençli *S. aureus*'un etkeni olduğu hastalar arasında ise daptomisin tedavisinin başarı oranının standart tedavi alan hastalardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Daha iyi alternatiflerin olmadığı durumlarda, glikopeptidler yıllardır metisilin dirençli *S. aureus* tedavisinde en iyi seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışmamızda da gerek *S.aureus* ve gerekse de koagülaz negatif stafilokoklara karşı

glikopeptit grubu antibiyotiklerde ilaç direncine rastlanılmamıştır. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda ise glikopeptitlerin etkinlikleriyle ilgili endişeler yüksektir (Levine ve ark. 1991, Fowler ve ark. 1999). Örneğin, vankomisin tedavisi alan 309 vakalık bir prospektif çalışmada *S.aureus* bakteriyemisinde nükslerin görüldüğü bildirilmiştir (Fowler ve ark. 1999). Bunun sebepleri arasında, tedavide yetersiz dozda antibiyotiğin kullanılması (Hidayat ve ark. 2006) zayıf doku penetrasyonu (Kollef 2007), yavaş bakteriyel aktivite (Small ve Chambers 1990, Sakoulas ve ark. 2004) ve antibiyotiğe duyarlılığı azaltan suşların vankomisin varlığı sayılabilir. Yani, vankomisin orta dirençli ve vankomisin dirençli *S.aureus* (Charles ve ark. 2004) suşların varlığı tedavinin başarısını azalttığı düşünülmektedir. Daha yeni bir glikopeptid olan teikoplanin MRSA bakteriyemisi tedavisine vankomisine benzer bir etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Sidi ve ark. 2000, Van ve ark. 1991). Çalışmalarda vankomisinde olduğu gibi teikoplaninin de yüksek dozda kullanımına yönelik bir eğilimin olduğu görülmektedir. Teikoplaninin tavsiye edilen dozun üzerinde kullanılmasının septik artrit, *S.aureus* enfektif endokardit ve diğer kronik enfeksiyonların etkili tedavisi için gerekli olduğu bildirilmiştir (Greenberg 1990, Wilson ve ark. 1994).

MRSA bakteriyemisi tedavisinde linezolid etkinliği ise bugüne kadar tespit edilmemiştir. Birçok çalışmada MRSA bakteriyemisi ve enfektif endokarditli hastalar arasında linozolid tedavi başarısızlığı belgelenmiştir (Ruiz ve ark. 2002, Stevens ve ark. 2002). *S.aureus* bakteriyemisi olan hastaların tedavisinde vankomisin, trimetoprim-sulfametoksazole göre daha etkili olsa da, MRSA enfeksiyonları için vankomisin tedavisine alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (Markowitz ve ark. 1992).

S.aureus bakteriyemisi önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisi tedavisi için önemli tedavi seçenekleri yarı sentetik penisilinler, sefalosporinler ve bir siklik lipopeptid olan daptomisindir. Metisilin dirençli *S.aureus* bakteriyemisi için ise tedavi seçenekleri, vankomisin, teikoplanin, linezolid, TMP-SMX, kinupristin-dalfopristin ve daptomisindir. Daptomisin, hem metisilin dirençli *S.aureus* bakteriyemisi hem de metisilin duyarlı *S.aureus* bakteriyemisine karşı etkili olduğundan dolayı şüpheli *S.aureus* enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde etkili bir seçenek gösterilmektedir (Fowler ve ark. 2006).

6.SONUÇ

Bu çalışmaya, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi çeşitli bölümlerinde (dahiliye, acil servisi, anestezi, çocuk yeni doğan, gastroenteroloji, genel cerrahi, infeksiyon, onkoloji, çocuk servisi ve yoğun bakımda) yatan hastalar dahil edildi.

Çalışmada hastalardan alınan kan kültürü örneklerinden izole edilen Gram pozitif bakterilerin tür tayinleri ve antibiyotik direnç profilleri belirlendi.

Hem koagülaz negatif (KNS) hemde koagülaz pozitif stafilocok kökenlerinde metisilin direnç geni olan *mecA* ile *aac(6')/aph(2'')*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *erm(A)*, *femA*, *erm(C)*, *tet(K)* ve *tet(M)* frekansı multipleks PCR yöntemiyle tespit edilmiştir.

Çalışmada kan kültürlerinden izole edilen toplam 169 pozitif kan kültüründen %12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* tespit edilirken, %87.6 (148/169)'sında koagülaz negatif stafilocok etken olarak tespit edilmiştir.

Etken olarak izole edilen Gram pozitif bakterilerin tür dağılımı incelendiğinde kan kültürü örneklerinin %12.4 (21/169)'ünde *S.aureus* üremesi tespit edilirken, %43.2 (73/169)'sında *S.epidermidis*, %23.6 (40/169)'sında *S.haemolyticus*, %16.5 (28/169)'inde *S.hominis*, %2.4 (4/169)'ünde *S.capitis*, %0.5 (1/169)'inde *S.salivarius*, %0.5 (1/169)'inde *S.warneri*, %0.5 (1/169)'inde *S.lentus* üremesi tespit edilmiştir.

Çalışmada *S.aureus* kökenlerinde fenotipik olarak direnç oranları klindamisin için; %19.0 (4/21), eritromisin için; %33.3 (7/21), gentamisin için; %14.3 (3/21), penisilin için; %83.7 (18/21), tetrasiklin için; %33.3 (7/21), oksasilin için; %14.3 (3/21) olarak bulunurken, suşların tamamının vankomisine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Koagülaz negatif stafilocok kökenlerinde ise direnç oranları; oksasilin için; %16.9 (25/148), eritromisin için; %22 (32/148), gentamisin için; %14.9 (22/148), klindamisin için; %14.2 (21/148), tetrasiklin için %38.5 (54/148), penisilin için ise %83.1 (123/148) olarak bulunurken, vankomisin direncine ise rastlanmamıştır.

S.aureus kökenlerinde direnç geni dağılımı incelendiğinde ise 21 *S.aureus* kökeninin tamamında femA geni pozitifliği tespit edilirken, metisilin direnç geni frekansı %62 (13/21), *erm A* pozitivitesi %33.3 (7/21), *erm C* %38.1 (8/21), *tet K* %38.1 (8/21), *tet M* %33.3 (7/21), *aac(6')/aph(2'')* %19 (4/21), *aph(3')-IIIa* %14.3 (3/21), *ant(4')-Ia* %9.5 olarak tespit edilirken, 148 koagülaz negatif stafilokok kökeni arasında direnç geni frekansı *mecA* için; %18.9 (28/148), *ermC* için; %33.1 (49/148), *ermA* için; %22.9 (34/148), *tetK* için; %39.2 (58/148), *tetM* için; %33.8 (50/148), *aac(6')/aph(2'')* için; %14.9 (22/148), *aph(3')-IIIa* için; %11.5 (17/148), *ant(4')-Ia* için; %6.1 (9/148) oranında pozitif olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda mültipleks PCR yöntemiyle bulunan direnç geni oranları, otomatize yöntem kullanılarak fenotip yöntemlerle elde edilen direnç oranlarından daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Direnç geni taşıyan kökenlerin fenotipik yöntemlerde duyarlıymış gibi tespit edilmesinin sebebini ilgili genin eksprese olmamasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Moleküler yöntemlerin spesifite ve sensitivite sorunları yok denecek kadar düşük olup güvenilir yöntemlerdir. İlgili direnç geninin testin yapıldığı an eksprese olmamasının tespiti, sonraki zaman dilimlerinde eksprese olmayacağı anlamına gelmemektedir. Hatta testin yapılışını takiben her an gen ekspresyonu olabileceği düşüncesiyle direnç oranlarının tespitinde mutlak suretle imkanlar elveriyorsa PCR tabanlı moleküler tekniklerin kullanılmasını önermekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. **Asrat D, Amanuel Y:** Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of bacterial isolates from blood culture in Tikur Anbessa hospital, Addis Ababa. *Ethiopia. Ethiop Med J* **2001**, 39(Suppl 2):97–104.
2. **Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, et al.** Infective endocarditis: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation* **2005**; 111:e394–434.
3. **Bamberger DM, Boyd SE.** Management of Staphylococcus aureus infections. *Am Fam Physician* **2005**; 72:2474–81.
4. **Bearman GM, Wenzel RP** (2005) Bacteremias: a leading cause of death. *Arch Med Res* 36:646–659. doi:10.1016/j.arcmed.2005. 02.005
5. **Becker JU, Theodosis C, Jacob ST, Wira CR, Groce NE:** Surviving sepsis in low-income and middle-income countries: new directions for care and research. *Lancet Infect Dis* **2009**, 9(Suppl 9):577–582
6. **Behrendt G, Schneider S, Brodt HR:** Influence of antimicrobial treatment on mortality in septicemia. *J Chemo-therap* **1999**, 11:179–186.
7. **Ben JZ, Mahjoubi F, Ben HY et al.** Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Tunisia (1993 - 1998). *Pathol Biol* **2004**; 52:82-8.
8. **Berrazeg M., Richet H., Raoult D., Rolain J.M.** Prevalence of antibiotic resistance in bacteria responsible for bloodstream infections in Marseille hospitals, France, 2001-2011. 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. **2012**
9. **Bhutta, Z.A. and K. Yusuf, 1997.** Neonatal sepsis in Karachi: Factors determining outcome and mortality. *J. Trop. Pediatr.*, 43: 65-70.
10. **Boucher H, Corey GR, Filler SG, Parsonnet J, Champion M, et al.** Appropriateness of two-week therapy for catheter-related (cath-rel) *S. aureus* bacteremia (SAB) [abstract L-1204]. In: Program and abstracts of the 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (San Francisco). Washington, DC: American Society for Microbiology, **2006**.
11. **Bousquet A, Malfuson JV, Sanmartin N, Konopacki J, MacNab C ve ark,** An 8-year survey of strains identified in blood cultures in a clinical haematology unit. *Clin Microbiol Infect*, 2014 Jan;20(1):O7-12. doi: 10.1111/1469-0691.12294. Epub **2013** Jul 4.
12. **Bouza E, Finch R.** Infections caused by Gram-positive bacteria: situation and challenges of treatment. *Clinical Microbiology and Infection*. DOI: 10.1046/j.1469-0691.2001.00064. **2012**
13. **Bouza E, Sousa D, Rodriguez-Creixems M, et al.** Is the Volume of Blood Cultured Still a Significant Factor in the Diagnosis of Bloodstream Infections. *J Clin microbiol.* **2007**;45:2765-2769.
14. **Cao WB, Su D, Chen YM, Zheng YZ, Zhang FK, ve ark.** Clinical features and antimicrobial resistance of Gram positive bacterial blood stream infection in patients with hematologic diseases. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, **2012** Jul;33(7):566-9
15. **Chang FY, Peacock JE Jr, Musher DM et al.** Staphylococcus aureus bacteremia: recurrence and the impact of antibiotic treatment in a prospective multicenter study. *Medicine* **2003**;82: 333-9
16. **Charles PG, Ward PB, Johnson PD, Howden BP, Grayson ML.** Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus. *Clin Infect Dis* **2004**; 38:448–51.

17. **Cohen, M.L., 1997.** Epidemiological factors influencing the emergence of antimicrobial resistance. Ciba Found. Symp., 207: 223-231.
18. **Cosgrove SE, Fowler VG.** Management of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Bacteremia. Clin Infect Dis. **2008**;46(Suppl 5): S386-93
19. **Crowley AL, Peterson GE, Benjamin DK Jr, et al.** Venous thrombosis in patients with short- and long-term central venous catheter-associated Staphylococcus aureus bacteremia. Crit Care Med **2008**; 36:385–90.
20. **Cubicin (daptomycin) [package insert].** London: Novartis Europharm, **2007**.
21. **Çelik C , Bakıcı M.Z. , Gözel M.G. , Engin A. , Kaya H.** Kan akımı enfeksiyonlarından izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında antimikrobiyal direnç paterni. Genel Tıp Derg **2013**;23:109-13
22. **Çetin E S, Kaya S, Pakbaş İ, Demirci M.** Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, İnönü Üniv Tıp Fak Derg **2007**;14(2):69-73.
23. **Çetinkol Y, Çakır F, Enginyurt Ö.** Kan kültürlerinden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında metisiline direncin yıllara göre değişimi. ANKEM Derg, **2013**; 27(1): 38-42.
24. **Çöplü N, Aktaş D, Şimşek H, Esen B.** Ulusal antimikrobiyal direnç surveyans sistemi (UAMDS) için seçilmiş olan gram pozitif bakterilerde 2011 yılı verilerine göre antimikrobiyal ajanlara karşı direnç yüzdeleri. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım, 3-7, Aydın-Türkiye. **2012**.
25. **Daniel RK, Scott AF, James MB, Sanjay S:** Brief Report: Incidence, Etiology, Risk Factors, and Outcome of Hospital acquired Fever. J Gen Intern Med **2006**, 21:1184–1187
26. **de Mattos, Teixeira E.M, Alves L.A, Rezenda V.M, Coimbra C.A. 2003.** Isolation of methicillin-resistant coagulase negative Staphylococci from patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and comparison of different molecular techniques for discriminating isolates of Staphylococcus epidermidis. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 45, 13e22.
27. **Diekema D. J., Pfaller M. A., Schmitz F. J. et al.,** “Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 32, supplement 2, pp. S114–S132, **2001**.
28. **Diekema DJ, Beekman SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E ve ark.:** Epidemiology and outcome of nosocomial and community onset bloodstream infection. J Clin Microbiol **2003**, 41:3655–3660.
29. **Duran N, Ozer B, Duran GG, Onlen Y, Demir C.** “ Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci”. Indian J Med Res 135, March, **2012** , pp 389-396
30. **Dündar D, Tamer G.S.** Klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları: Üç yıllık değerlendirilme, ANKEM Derg **2009**;23(1):8-12
31. **Edwards J, Peterson K, Andrus M, et al.** National Healthcare Safety Network (NHSN) Report, data summary for 2006, issued June 2007. Am J Infect Control **2007**;35:290-301.
32. **Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, ve ark.** Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a 3-year analysis. Clin Infect Dis **1999**;29:239-44
33. **Esel D, Doganay M, Alp E, Sumerkan B:** Prospective evaluation of blood cultures in a Turkish university hospital: Epidemiology, microbiology and patient outcome, Clin Microbiol Infect **2003**;9(10):1038-44
34. **Fatkenheuer G, Cornely O, Seifert H.** Clinical management of catheter-related infections. Clinical Microbiology and Infection. **2002**;8:545-9.
35. **Finch R.** Gram-positive infections: lessons learnt and novel solutions. Clin Microbiol Infect **2006**; 12(Suppl 8):3–8.
36. **Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J.** Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 and 1998. Clin Infect Dis **2000**; 30:454–60
37. **Fowler VG Jr, Boucher HW, Corey GR, et al.** Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by Staphylococcus aureus. N Engl J Med **2006**; 355:653–65.

38. **Fowler VG Jr, Kong LK, Corey GR, et al.** Recurrent *Staphylococcus aureus* bacteremia: pulsed-field gel electrophoresis findings in 29 patients. *J Infect Dis* **1999**; 179:1157–61
39. **Fowler VG Jr, Miro JM, Hoen B, et al.** *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA* **2005**; 293:3012–21.
40. **Fowler VG Jr, Olsen MK, Corey GR, et al.** Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Arch Intern Med* **2003**; 163: 2066–72.
41. **Fowler VG Jr, Sanders LL, Sexton DJ, et al.** Outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia according to compliance with recommendations of infectious diseases specialists: experience with 244 patients. *Clin Infect Dis* **1998**; 27:478–86
42. **Gaynes R, Edwards JR.** Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis.* **2005**;41: 848-54.
43. **Ghadiri H, Vaez H, Khosravi S, Soleymani E.** The Antibiotic Resistance Profiles of Bacterial Strains Isolated from Patients with Hospital-Acquired Bloodstream and Urinary Tract Infections. *Critical Care Research and Practice Volume 2012* (2012), Article ID 890797, 6 pages
44. **Greenberg RN.** Treatment of bone, joint, and vascular-access-associated gram-positive bacterial infections with teicoplanin. *Antimicrob Agents Chemother* **1990**; 34:2392–7.
45. **Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E.** Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* **2006**; 368:874–85.
46. **Gürsoy NF, Ersoy Y, Günal S, Kuzucu Ç.** Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi, *ANKEM Derg* **2009**;23(1):26-9.
47. **Harbarth S, Ferrière K, Hugonnet S, Ricou B, Suter P, Pittet D:** Epidemiology and prognostic determinants of bloodstream infections in surgical intensive care. *Arch Surg* **2002**, 137:1353–1359.
48. **Hidayat LK, Hsu DI, Quist R, Shriner KA, Wong-Beringer A.** Highdose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: efficacy and toxicity. *Arch Intern Med* **2006**; 166:2138–44.
49. **Hsu RB.** Risk factors for nosocomial infective endocarditis in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**; 26:654–7.
50. **Huang, S.S., B.J. Labus, M.C. Samuel, D.T. Wan and A.L. Reingold, 2002.** Antibiotic resistance patterns of bacterial isolates from blood in San Francisco County, California, 1996-1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 8: 195-201.
51. **Ibrahim EH, Sherman G, Ward S:** The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* **2000**, 118:146–155
52. **James AK, Mark EJ, Deborah CD, Clyde T, Daniel FS, Gregory AV:** Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrobi* **2004**, 3(Suppl 7):1–8
53. **Jensen AG, Espersen F, Skinhoj P, Rosdahl VT, Frimodt-Moller N.** Increasing frequency of vertebral osteomyelitis following *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Denmark 1980–1990. *J Infect* **1997**; 34:113–8.
54. **Joint Formulary Committee.** British national formulary. 53rd ed. London: British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, **2007**.
55. **Karlowsky J.A, Jones M.E, Draghi D.C, Thornsberry C, Sahm D.F. ve ark. 2004.** Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 3: 7-7.)
56. **Karunakaran, R., N.S. Raja, K.P. Ng and P. Navaratnam, 2007.** Etiology of blood culture isolates among patients in a multidisciplinary teaching hospital in Kuala Lumpur. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 40: 432-437.
57. **Kaya S, Arıdoğan CB, Çetin H, Demirci M.** Çocuk hastalardan alınan kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri. *Fırat Tıp Derg.* **2007**; 12 (1): 34-6
58. **Kollef MH.** Limitations of vancomycin in the management of resistant staphylococcal infections. *Clin Infect Dis* **2007**; 45(Suppl 3):S191–5.

59. **Korzeniowski O, Sande MA.** Combination antimicrobial therapy for *Staphylococcus aureus* endocarditis in patients addicted to parenteral drugs and in nonaddicts: a prospective study. *Ann Intern Med* **1982**; 97:496–503
60. **Kumar S, Rizvi M, Vidhani S, Sharma VK;** Changing face of septicaemia and increasing drug resistance in blood isolates. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, **2004**; 47(3): 441-446.
61. **Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Gazi H, Teker A, Özbakkaloğlu B.** Metisiline-dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları, *İnfeksiyon Derg* **2007**;21(4):187-91.
62. **Leder K, Turnidge JD, Korman TM, Grayson ML.** The clinical efficacy of continuous-infusion flucloxacillin in serious staphylococcal sepsis. *J Antimicrob Chemother* **1999**; 43:113–8.
63. **Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP.** Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures are Needed? *J Clin Microbiol.* **2007**;45:3546-3548
64. **Levine DP, Fromm BS, Reddy BR.** Slow response to vancomycin or vancomycin plus rifampin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Ann Intern Med* **1991**; 115:674–80. *S. aureus Bacteremia • CID 2009*;48 (Suppl 4) • S259
65. **Lowy FD.** *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med.* **1998**;339:520–532.
66. **Luzzaro F, Viganò EF, Fossati D, et al.** Prevalence and drug susceptibility of pathogens causing bloodstream infections in northern Italy: a two-year study in 16 hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **2002**;21:849-55.
67. **Madsen, K.M., H.C. Schonheydr, B. Kristensen ,H.T. Sorensen, 1999.** Secular trends in incidence and mortality of bacteraemia in a Danish county 1981-1994. *APMIS. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, 107: 346-352.
68. **Mandel GL, Bennet JE, Dolin R.** Mandell, Bennet & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth Edition. **2005.** Elsevier Publishers
69. **Manjula M, Pyria D, Varsha G:** Antimicrobial susceptibility pattern of blood isolates from a teaching Hospital in north India. *Japan J Infec Dis* **2005**, 58:174–176
70. **Markowitz N, Quinn EL, Saravolatz LD.** Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with vancomycin for the treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Ann Intern Med* **1992**; 117:390–8.
71. **Marshall SA et al.** *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, **1996**, 30:205–14
72. **Mehta M, Dutta P, Gupta V;** Antimicrobial susceptibility pattern of blood isolates from a teaching hospital in north India. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* **2005**; 58(3): 174-176.
73. **Mehtar S, Drabu Y, Wilson AP, Gruneberg RN.** A comparative study between teicoplanin alone and flucloxacillin, plus or minus fusidic acid, in the treatment of serious infections caused by methicillin-susceptible gram-positive bacteria. *Chemotherapy* **1995**; 41:412–9.
74. **Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al.** Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2009**; 49:1–45.
75. **Miro JM, Anguera I, Cabell CH, et al.** *Staphylococcus aureus* native valve infective endocarditis: report of 566 episodes from the International Collaboration on Endocarditis Merged Database. *Clin Infect Dis* **2005**; 41:507–14.
76. **Mirrett, S, Weinstein M, Reimer L, et al.** Relevance of the Number of Positive Bottles in Determining Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci in Blood Cultures. *J of Clin Microbiol* **2001**:3279-3281.
77. **Mitchell DH, Howden BP.** Diagnosis and management of *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Intern Med J* **2005**; 35(Suppl 2):S17–24.
78. **Murray P,** University of Maryland School of Medicine. Microbiology for the Millennium Conference. Feb. 17-19, **1999.** Baltimore, MD
79. **Orrett, F.A. and S.M. Shurland, 2001.** Neonatal sepsis and mortality in a regional hospital in Trinidad: Aetiology and risk factors. *Ann. Trop. Paediatr.*, 21: 20-25.

80. **P. Mitt, V. Adamson, K. Lõivukene et al.**, “Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 71, no. 4, pp. 365–370, **2009**.
81. **P. Mitt, V. Adamson, K. Lõivukene et al.**, “Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 71, no. 4, pp. 365–370, **2009**.
82. **Rahbar M., Gra-Agaji R., Hashemi S.** Nosocomial blood stream infections in Imam Khomeini Hospital, Urmia, Islamic Republic of Iran, 1999–2001. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*, Vol. 11, No 3, **2005**
83. **Reacher, M.H., A. Shah, D.M. Livermore, M.C. Wale and C. Graham, 2000.** Bacteremia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: Trend analysis. *Br. Med. J.*, 320: 213-216.
84. **Reller LB, Sexton DJ.** Technique of obtaining blood cultures for the detection of bacteremia. In: *UpToDate*, Rose BD (Ed), *UpToDate*, Waltham, MA, **2007**
85. **Richards M, Thursky K, Buising K,** “Epidemiology, prevalence, and sites of infections in intensive care units,” *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 24, no.1, pp. 3–22, **2003**.
86. **Rina K, Nadeem SR, Kee PN, Parasakthi N:** Etiology of blood culture isolates among patients in a multidisciplinary teaching hospital in Kuala Lumpur. *J Microbiol Immunol Infect* **2007**, 40:432–437
87. **Ringberg H, Thoren A, Lilja B.** Metastatic complications of Staphylococcus aureus septicemia: to seek is to find. *Infection* **2000**; 28:132–6.
88. **Rodriguez-Baño J.** Selection of Empiric Therapy in Patients with Catheter-related Infections. *Clin Microbiol Infect* **2002**;8:275-81.
89. **Roy I, Jain A, Kumar M, Agarwal S;** Bacteriology of neonatal septicaemia in a tertiary care hospital of northern India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **2002**; 20: 156-159.
90. **Ruimy R, Dos-Santos M, Raskine L, et al.** Accuracy and Potential Usefulness of Triplex Real-Time PCR for Improving Antibiotic Treatments of Patients with Blood Cultures Showing Clustered Gram-Positive Cocci on Direct Smear. *J of Clin Microbiol.* **2008**;46:2045-2051.
91. **Ruiz ME, Guerrero IC, Tuazon CU.** Endocarditis caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus: treatment failure with linezolid. *Clin Infect Dis* **2002**; 35:1018–20.
92. **S. Kumar, M. Rizvi, S. Vidhani, and V. K. Sharma,** “Changing face of septicaemia and increasing drug resistance in blood isolates,” *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, vol. 47, no. 3, pp. 441–446, **2004**.
93. **Sakoulas G, Moise-Broder PA, Schentag J, Forrest A, Moellering RC Jr, et al.** Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia. *J Clin Microbiol* **2004**; 42:2398–402.
94. **Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP.** Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991;91(Suppl 3B):725-8.
95. **Sidi V, Roilides E, Bibashi E, Gompakis N, Tsakiri A, Kolioukas D.** Comparison of efficacy and safety of teicoplanin and vancomycin in children with antineoplastic therapy-associated febrile neutropenia and gram-positive bacteremia. *J Chemother* **2000**; 12:326–31.
96. **Small PM, Chambers HF.** Vancomycin for Staphylococcus aureus endocarditis in intravenous drug users. *Antimicrob Agents Chemother* **1990**; 34:1227–31
97. **Stevens DL, Herr D, Lampiris H, Hunt JL, Batts DH, Hafkin B.** Linezolid versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. *Clin Infect Dis* **2002**; 34:1481–90
98. **Stryjewski ME, Szczech LA, Benjamin DK Jr, et al.** Use of vancomycin or first-generation cephalosporins for the treatment of hemodialysis-dependent patients with methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteremia. *Clin Infect Dis* **2007**; 44:190–6.
99. **Tariq TM.** Bacteriologic profile and antibiogram of blood culture isolates from a children's hospital in Kabul. *J Coll Physicians Surg Pak*, **2014** Jun;24(6):396-399. doi: 06.2014/JCPSP.396399.

100. **Tissari P, Zumla A, Tarkka E, et al.** Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *The Lancet*, **2010**;375:224-30
101. **Tokars J.** Predictive value of Blood Cultures Positive for Coagulase-Negative Staphylococci: Implications for Patient Care and Health Care Quality Assurance. *Clin Infect Dis* **2004**;39:333-41
102. **Tuncer İ, Kalem F, Çoşar M, Arslan U.** Antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from bloodstream infections, *Mikrobiyol Cem Derg* **2009**;39(1-2):22-6.
103. **Tunkel A, Sepkowitz K.** Infections Caused by Viridans Streptococci in Patients with Neutropenia. *Clin Infect Dis* **2002**;34:1524-9.
104. **Türk Dağı H, Arslan U, Tuncer İ.** Kan kültürlerinden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* **2011**;25(2):84-8
105. **Ünal S.** Antibiyotik direnci ve moleküler biyolojik yöntemler. *ANKEM Derg* 12(No:3):242-244 **1998**
106. **Van der Auwera P, Aoun M, Meunier F.** Randomized study of vancomycin versus teicoplanin for the treatment of gram-positive bacterial infections in immunocompromised hosts. *Antimicrob Agents Chemother* **1991**; 35:451-7.
107. **Weems JJ Jr.** The many faces of Staphylococcus aureus infection: recognizing and managing its life-threatening manifestations. *Postgrad Med* **2001**; 110:24-31
108. **Wilson APR, Gruneberg RN, Neu H.** A critical review of the dosage of teicoplanin in Europe and the USA. *Int J Antimicrob Agents* **1994**; 4(Suppl 1):S1-30.
109. **Wisplinghoff H; Bischoff T; Tallent SM; Seifert H; Wenzel RP ve ark.** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004;39:309-317. Epub **2004** Jul 15.
110. **Willinghausen N, Kochem AJ, Disque C, et al.** Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use of a commercial universal 16S rRNA gene-based PCR and sequence analysis. *J Clin Microbiol.* 2009 Sep;47(9):2759-65. Epub **2009** Jul 1

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Hatay'da doğdu. 2006 yılında Mersin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2012 yılında mezun oldu. 2012'de Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya hak kazandı.