



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİSİLİN DİRENCİNİN HIZLI TESPİTİ İÇİN
STARESMET® TİCARİ KİT PERFORMANSININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bio. Mehtap SOYSAL

Samsun

Haziran-2016



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİSİLİN DİRENCİNİN HIZLI TESPİTİ İÇİN
STARESMET® TİCARİ KİT PERFORMANSININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bio. Mehtap SOYSAL

Danışman

Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

Samsun

Haziran-2016

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mehtap SOYSAL tarafından Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN Danışmanlığında hazırlanan METİSİLİN DİRENCİNİN HIZLI TESPİTİ İÇİN STARESMET® TİCARİ KİT PERFORMANSININ DEĞERLENDİRİLMESİ başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 08 /06 /2016 tarihinde yapılan sınav ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.


Başkan : Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Tuba YILDIRIM
Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

08 /06 /2016

Doç. Dr. Aydın HİM
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgisini ve deneyimlerini her zaman cömertçe paylaşan, bilimsel titizliği ve çalışma disiplini örnek aldığım, pratik fikirleri ile önerilerde bulunarak beni deneylerin karmaşasından kurtaran, sorularımın çokluğuna rağmen sabırla cevaplayan, tez çalışmalarım süresince değerli vaktini ve bilimsel desteğini esirgemeyen, eğitimim ve tezimin gerçekleşmesinde büyük katkıları olan, değerli hocam tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim. Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, en zor anlarda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Belma DURUPINAR, Doç. Dr. Adil KARADAĞ, Yrd. Doç. Dr. Keramet YANIK ve Yrd. Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ'ye teşekkür ederim.

Zor anlarımda her zaman gülen yüzü ve destek veren sözleri ile yanımda olan dost ve arkadaşlarıma, hayatım boyunca her zaman bana destek olan ve bugüne gelmem için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan babam, annem ve ablama, sonsuz teşekkürlerimle...

ÖZET

METİSİLİN DİRENCİNİN HIZLI TESPİTİ İÇİN StaResMet® TİCARİ KİT PERFORMANSININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Çalışmada, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Laboratuvarları Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilmiş klinik örneklerden izole edilen 277 *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) klinik izolatu dahil edildi. *S.aureus* izolatlarının metisilin duyarlılığı StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve VİTEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemleriyle karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Materyal ve Metot: Metisilin direncini belirlemede CLSI önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi uygulandı. StaResMet® kitinin ve Vitek2 Compact otomatize sistem çalışması üretici firma önerileri doğrultusunda yapıldı. Testlerin karşılaştırılmaları için mikrodilüsyon testi referans olarak kabul edildi. Kalite kontrol suşları olarak *S.aureus* ATCC29213 (metisilin duyarlı) ve ATCC43300 (metisilin dirençli) kullanıldı. CLSI kriterlerine göre sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) MİK değeri $\leq 4\mu\text{g/ml}$ olanlar duyarlı, $>4\mu\text{g/ml}$ olanlar ise dirençli kabul edildi (CLSI, 2013).

Bulgular: 277 izolattan 118 *S.aureus* suşu metisilin dirençli, 159 suş metisiline duyarlı bulunmuştur. 118 *S.aureus* VITEK2 Compact otomatize sistem, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit ile yapılan duyarlılık çalışması ile metisiline dirençli olarak saptanmıştır. 159 izolat ise her üç yöntemle de metisiline duyarlı bulunmuştur. Buna göre StaResMet® testinin özgüllük, duyarlılık, pozitif ve negatif prediktif değerleri %100 olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Altın standart olarak kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi ile StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit testinin birebir uyumlu olması birçok laboratuvar için güvenilir, tekrarlanabilir ve ucuz bir yöntem olarak değerlendirilirken testin kolay uygulanabilir oluşu, iş yükünü en aza indirmesi laboratuvarlar için ek avantaj sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Metisilin direnci; *Staphylococcus aureus*; StaResMet® kit

Mehtap SOYSAL, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran-2016

ABSTRACT
**EVULATION OF THE PERFORMANCE OF StaResMet[®] COMMERSIAL KIT
FOR THE RAPID DETECTION OF METHICILLIN RESISTANCE**

Aim: In the research, the clinical isolate 277 *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), which was isolated from the clinical samples of the Medical Microbiology Laboratory in On Dokuz Mayıs University Faculty of Medicine Laboratories, was added. The methicillin sensitivity of *S.aureus* isolates was comparatively examined with the StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit, liquid microdilution technique and VITEK2 Compact (bioMerieux, Fransa) atomized system.

Material and Method: To decide the resistance of Methicillin, microdilution technique was applied with CLSI proposes. The usage of StaResMet[®] kit and VITEK2 Compact atomized system tool were processed in accordance with the proposals of the producer company. The microdilution test was considered as reference for the comparison of tests. *S.aureus* ATCC29213 (methicillin sensitive) and ATCC43300 (methicillin resisted) were used as quality control strains. According to the CLSI criteria, it is accepted as that the MIC value of sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) $\leq 4\mu\text{g/ml}$ is sensitive and $>4\mu\text{g/ml}$ is resisted (CLSI, 2013).

Results: It was found that out of 277 isolates, 118 *S.aureus* strains are methicillin resisted and 159 are sensitive to methicillin. It was determined that 118 *S.aureus* VITEK2 Compact (bioMerieux, Fransa) atomized system was resisted to methicillin with the help of sensitivity research examined by liquid microdilution technique and StaResMet[®] kit. And 159 isolates were found that they were determined as sensitive to methicillin with these three ways. According to this, the specificity, sensitivity, positive and negative predictive values of StaResMet[®] test was decided as 100 %

Conclusion: Being very cooperative and harmonious of Liquid microdilution test considered as the golden standard and the StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit test is reliable, repeatable for most laboratories and a cheap technique and also the easy application of the test by reducing the work load will provide additional advantage for the laboratories.

Keywords: Methicillin resistance; *Staphylococcus aureus*; StaResMet[®] kit

Mehtap SOYSAL, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, June-2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

BHI	: Brain Heart Infusion Broth
BORSA	: Borderline Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
BSSA	: Borderline Methicilline Susceptible
CAMP	: Christie, Atkins, Munch, Peterson
CFU	: Colony Forming Unit
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
Cm	: Santimetre
CRF	: Coagulase Reacting Factor
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
F	: Fast-Eluting Protein
Gr	: Gram
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
I	: Orta Düzeyde (intermediate)
IL-1	: İnterlökin-1
IL-2	: İnterlökin-2
KNS	: Koagulaz Negatif Stafilokok
LPS	: Lipopolisakkarit
MHB	: Mueller-Hinton Broth
MİK	: Mikrodilasyon
µl	: Mikolitre
ml	: Mililitre
MODSA	: Modified Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisilin Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCL	: Sodyum Klorür
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standarts
NRT	: Nitrat Redüktaz Testi
ORF	: Open Reading Frame

PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PFGE	: Pulsed Field Jel Elektroforez
R	: Dirençli
RNA	: Ribonükleik Asit
S	: Duyarlı
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
SCC	: Staphylococcal Cassette Choromosome Genleri
SHDS	: Stafilokokkal Haşlanmış Deri Sendromu
Tet	: Tetrasiklin
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TSS	: Toksik Şok Sendromu
TSST	: Toksik Şok Sendrom Toksin

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Stafilokokların Tarihçesi	1
2.2. Sınıflandırma.....	1
2.3. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	5
2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri	6
2.5. Biyokimyasal Özellikleri	6
2.6. Virülans Faktörleri	6
2.6.1. Kapsül.....	7
2.6.2. Genom	7
2.6.3. Hücre Duvar Yapısı.....	7
2.6.4. Toksinler.....	8
2.6.5. Enzimler	13
2.7. Epidemiyoloji.....	15
2.8. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak <i>S.aureus</i>	16
2.8.1. Stafilokokların Neden Olduğu Enfeksiyonlar	17
2.8.2. KNS Enfeksiyonları	23
2.9. Tanı	24
2.9.1. Koloni Morfolojisi.....	24
2.9.2. Gram Boyama.....	24
2.9.3. Katalaz Testi.....	25
2.9.4. Koagülaz Testi.....	25
2.9.5. <i>Micrococcus</i> Türlerinin <i>Staphylococcus</i> Türlerinden Ayrılması	28
2.10. Tedavi.....	28
2.10.1. Stafilokok Enfeksiyonlarında Kullanılan Başlıca Antibiyotikler.....	29
2.10.2. Stafilokoklarda Antibiyotik Direnci	32
2.10.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	36
2.10.4. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçlarının Yorumlanması.....	38

2.10.5. CLSI ve EUCAST Önerileri.....	39
2.10.6. Gram Pozitif Bakterilerin Duyarlılık Testleri İçin Antibiyotik Seçimi.....	39
2.10.7. <i>S.aureus</i> ve KNS’larda Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Yorumu.....	40
3. MATERYAL VE METOT.....	42
3.1. MATERYAL	42
3.1.1. Kullanılan Besiyerleri.....	42
3.1.2. Bakteri İzolatları.....	42
3.2. METOT	43
3.2.1. <i>S.aureus</i> İzolatlarının Tanımlanması.....	43
3.2.2. VITEK2 Compact Otomatize Sistem Testinin Uygulanması.....	44
3.2.3. Sıvı Mikrodilüsyon Testi İçin Sefoksitin İçeren Plakların Hazırlanması....	45
3.2.4. Bakteriyel İnokulum Hazırlanması	45
3.2.5. Sıvı Mikrodilüsyon Testinin Uygulanması	46
3.2.6. StaResMet® Kit Testinin Uygulanması	47
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	69

1.GİRİŞ

Stafilokoklar, *Staphylococcaceae* ailesinde yer alan, gram pozitif, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz mikroorganizmalardır. Deri ve mukozalarda kolonize olabilen, değişik türleri ile farklı hastalıklar yapabilen önemli bir bakteri cinsidir. Neden olduğu enfeksiyonlar nedeniyle *S.aureus* en önemli türdür. *S.aureus* burun delikleri, aksilla, vajen, farenks veya zedelenmiş cilt yüzeylerinde kolonize olabilen bir bakteridir. Enfeksiyonlar, cilt veya mukozal bariyerde meydana gelen bir bozulmada, mikroorganizmanın bitişik dokulara veya kan akımına karışması ile meydana gelir. *S.aureus* dışındaki diğer türler koagülaz negatif stafilokok (KNS) olarak adlandırılır. Geçmişte KNS'lerin insan vücudunun dış ortamla temasta olan yüzeylerinde, özellikle deride, normal flora elemanı olarak bulunduğu düşünülürken son zamanlarda *S.aureus* kadar önemli bir patojen olduğu anlaşılmıştır. Başta *S.epidermidis* olmak üzere KNS'ler son yıllarda hastane enfeksiyonlarının önemli etkenlerindedir. Bu durumun nedeni normal flora bakterileri olmaları ve invaziv girişimler sonucu kolayca alınabilmeleridir. KNS'lerin etken olduğu enfeksiyonların çoğu kateter veya protez ile ilişkilidir. KNS'ler, immun yetmezlik, malignite, nötropeni, prematüre doğum, hastanede uzun süre yatma, bir cerrahi girişim veya prostetik amaçlı ameliyatlardan sonra gelişen enfeksiyonların birçoğunda etken olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Allen ve ark., 2006).

1960 yılında kullanıma giren metisilin, penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilindir. Kullanılmaya başlanan metisiline bir yıl içinde dirençli stafilokok suşları saptanmaya başlanmıştır (Bilgehan, 2000). Stafilokoklarda metisilin direnci *mecA* geni tarafından kodlanan yeni bir penisilin bağlayıcı protein (PBP) olan PBP2a yapımı sonucu ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda *mecALGA251*'in *mecA* gen homoloğu olup metisilin direncinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Stegger ve ark., 2011). Metisilin dirençli suşlar tüm beta laktam antibiyotiklere ve beta laktam/beta laktamaz inhibitor kombinasyonlarına direnç gösterirler. Metisiline dirençli stafilokokların genellikle eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim sulfametoksazol, kinolonlar ve aminoglikozidlere de direnç gösterdiği bildirilmektedir (Arıdoğan ve ark., 2004). Metisiline olan direncin doğru bir şekilde belirlenmesi, uygun antibiyotik seçimi açısından önemli görülmektedir (Telli ve ark., 2006). Direncin saptanmasında en uygun yöntem *mecA* geninin ya da PBP2a proteininin varlığının

tespitidir. Ancak bu yöntemler her laboratuvarında uygulanamamaktadır. Bu nedenle disk difüzyon, agar tarama ve agar dilüsyon yöntemleri gibi testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Önceki yıllarda, oksasilin, metisilin direncinin belirlenmesinde diğer penisilinaza dirençli penisilinlere göre daha stabil bir molekül olması ve özgüllüğü yüksek sonuç vermesi nedeniyle Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından fenotipik testlerde önerilmekteydi. Oksasilin kullanılarak yapılan duyarlılık testlerinde, direncin heterojen olması nedeniyle, dirençli ve duyarlı sonuçların ayırımında zorluklarla karşılaşmaktadır (Felten ve ark., 2002). Bir sefamisin türevi olan sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) *mecA* genini diğer penisilinlere göre daha iyi eksprese ettirdiği gösterilmiştir. CLSI'nin 2008 ve sonraki yıllarda yayınlanan kılavuzlarında sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) disk difüzyon testi tarama testi olarak önerilmektedir. Nedeni birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda, sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) disk difüzyon testinin oksasilin disk difüzyon testine göre daha faydalı olduğunu, *mecA* gen varlığı ile uyumun daha iyi olduğunu bildirmesi olmuştur (Telli ve ark., 2006).

Bu tez çalışmasında, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* izolatlarında metisilin direncinin hızlı, güvenilir, düşük maliyet gerektiren kolorimetrik bir yöntem olan StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile tespit edilip referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon testi karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilokokların Tarihçesi

Stafilokoklar Robert Koch tarafından 1878'de tanımlanmıştır. Pasteur 1880'de stafilokokları sıvı besiyerinde üretmiştir. Alexander Ogston ise 1881'de stafilokokların fare ve kobaylar için patojen olduğunu göstermiş, insan apse materyalinden elde ettiği bakterileri üzüm salkımına benzer bir yapı oluşturduğu için *Staphylococcus* (Staphyle = üzüm salkımı) olarak adlandırmıştır. Stafilokokları 1884'te Rosenbach insandan izole etmeyi başarmıştır. Sarı portakal renkli koloni oluşturan *S.aureus* antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarıyla önem kazanmıştır. 1928'de Alexander Fleming'in penisilini bulması ve 1940'ta Florey ve Chain tarafından penisilinin üretiminin başarılmasıyla stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Klinik olarak penisilinin yaygın kullanımının beraberinde getirdiği penisilini parçalayan stafilokok suşları ortaya çıkmıştır. 1944'te Kirby *S.aureus* suşlarında penisilin direncini tanımlamıştır. 1959'da ilk semisentetik penisilaza dirençli antimikrobiyal olan metisilin klinik kullanıma girmiştir. *S.aureus* 1961'de kullanımına başlanan metisiline karşı kısa sürede direnç geliştirmiştir. Metisiline karşı direnç gösteren *S.aureus* (MRSA) suşları 1970'li yıllardan beri yaygın olarak tespit edilmektedir (Shopsin ve Kreiswirth, 2001).

2.2. Sınıflandırma

Staphylococcus türü bakteriler *Micrococcacea* familyasına aittir. *Micrococcacea* familyası 4 genus içerir; *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Staphylococcus*. Klinik açıdan *Micrococcacea* familyasının en önemli grubunu *Staphylococcus* teşkil eder. Bu genus içinde insanda enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen *S.aureus*, *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus*'tur. *S.aureus* günümüzde kullanılan birçok antibiyotiğe hızla direnç kazanması, eskiye oranla sebep olduğu enfeksiyonların daha sık görülmesi sebebi ile insan enfeksiyonlarında öncelikli patojen olarak yer almaktadır. Stafilokoklar gerek hastane kaynaklı gerek toplum kökenli enfeksiyonlarda önemli etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Deri enfeksiyonları başta olmak üzere solunum yolu enfeksiyonlarında, endokardit, osteomyelit gibi farklı enfeksiyonlarda da etken olarak görülmektedir. *S.aureus* burun mukozasında insanların %10-40'ında, *S.epidermidis* ise %90-100'ünde bulunmaktadır. Bunun yanısıra; ingunal, aksiller, perineal bölgelerde, ayak parmaklarında ve düşük oranda derinin diğer

kısımlarında da kolonize olurlar. Günümüze kadar Staphylococcus genusunda 35 tür ve 17 alt tür saptanmıştır (Tablo 1). Bu türler içinde patojenitesi en yüksek olan *S.aureus*'tur. KNS'ler içerisinde klinik örneklerden en sık izole edilen tür *S.epidermidis*'tir (Allen ve ark., 2006). Stafilokokların diğer türlerinden *S.hominis* ve *S.heamolyticus* ingunal, aksiller, perineal bölgelerde, *S.saprophyticus* ise daha çok ürogenital mukoza epiteline yapışma özelliği gösterdiğinden bu bölgelerde görülürler.

Tablo 1. Bugüne kadar tanımlanmış stafilokok tür ve alt türleri (Peacock, 2005; Allen ve ark., 2006).

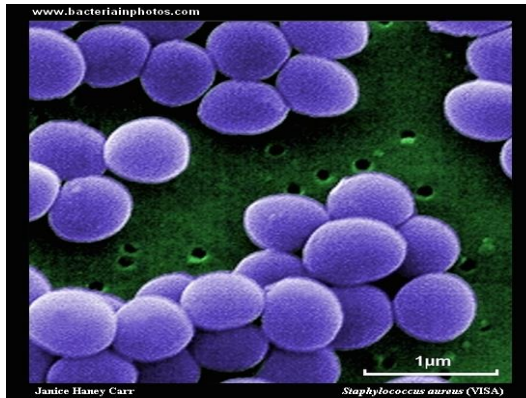
Tür	Alt tür	Referans
<i>S.arlettae</i>		Schleifer ve ark., 1984
<i>S.aureus</i>	<i>Anaerobius</i>	De la Fuente ve ark., 1985
<i>S.aureus</i>	<i>Aureus</i>	Rosenbach, 1884
<i>S.auricularis</i>		Kloos ve Schleifer, 1983
<i>S.capitis</i>	<i>Capitis</i>	Kloos ve Schleifer, 1975
<i>S.capitis</i>	<i>ureolyticus</i>	Bannerman ve Kloos, 1991
<i>S.caprae</i>		Devriese ve ark., 1983
<i>S.carnosus</i>	<i>carnosus</i>	Schleifer ve Fischer, 1982
<i>S.carnosus</i>	<i>utilis</i>	Probst ve ark., 1998
<i>S.chromogenes</i>		(Devriese ve ark., 1978), Hajek ve ark., 1986
<i>S.cohnii</i>	<i>cohnii</i>	Schleifer ve Kloos, 1975
<i>S.cohnii</i>	<i>urealyticum</i>	Kloos ve Wolfshohl, 1991
<i>S.condimenti</i>		Probst ve ark., 1998
<i>S.delphini</i>		Varaldo ve ark., 1988
<i>S.epidermidis</i>		Winslow ve Winslow, 1908; Evans, 1916
<i>S.equorum</i>	<i>equorum</i>	Schleifer ve ark., 1984
<i>S.equorum</i>	<i>linens</i>	Place ve ark., 2003
<i>S.felis</i>		Igimi ve ark., 1989
<i>S.fleurettii</i>		Vernozy-Rozand ve ark., 2000
<i>S.gallinarum</i>		Devriese ve ark., 1978
<i>S.haemolyticus</i>		Schleifer ve Kloos, 1975
<i>S.hominis</i>	<i>hominis</i>	Kloos ve Schleifer, 1975
<i>S.hominis</i>	<i>novobiosepticus</i>	Kloos ve ark., 1998
<i>S.hyicus</i>		(Sompolinski 1953), Devriese ve ark., 1978
<i>S.hyicus</i>	<i>chromogenes</i>	Devriese ve ark., 1978
<i>S.intermedius</i>		Hajek, 1976
<i>S.kloosii</i>		Schleifer ve ark., 1984
<i>S.lentus</i>		Kloos ve ark., 1976, Schleifer ve ark., 1983

Tablo 1. Devamı

<i>S.lugdunensis</i>		Frenay ve ark., 1988
<i>S.lutrae</i>		Foster ve ark., 1997
<i>S.muscae</i>		Hajek ve ark., 1992
<i>S.pasteuri</i>		Chesneau ve ark., 1993
<i>S.piscifermentans</i>		Tanasupawat ve ark., 1992
<i>S.saccharolyticus</i>		Kilpper-Balz ve Schleifer, 1981
<i>S.saprophyticus</i>	<i>bovis</i>	Hajek ve ark., 1996
<i>S.saprophyticus</i>	<i>Saprophyticus</i>	Shaw ve ark., 1951
<i>S.schleiferi</i>	<i>coagulans</i>	Igimi ve ark., 1990
<i>S.schleiferi</i>	<i>Schleiferi</i>	Frenay ve ark., 1988
<i>S.sciuri</i>	<i>Carnaticus</i>	Kloos ve ark., 1997
<i>S.sciuri</i>	<i>Lentus</i>	Kloos ve ark., 1976
<i>S.sciuri</i>	<i>Rodentium</i>	Kloos ve ark., 1997
<i>S.sciuri</i>	<i>Sciuri</i>	Kloos ve ark., 1976
<i>S.simulans</i>		Kloos ve Schleifer, 1975
<i>S.succinus</i>	<i>Casei</i>	Place ve ark., 2003
<i>S.succinus</i>	<i>succinus</i>	Lambert ve ark., 1998
<i>S.vitulinus</i>		Webster ve ark., 1994
<i>S.warneri</i>		Kloos ve Schleifer, 1975
<i>S.xylosus</i>		Schleifer ve Kloos, 1975

2.3. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

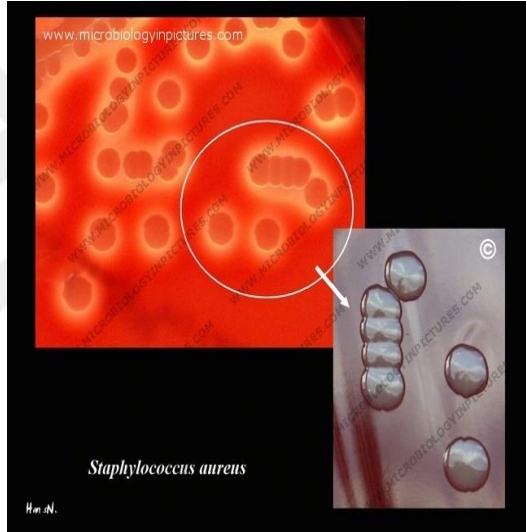
Stafilokoklar; 0,5-1,7 µm çapında, hareketsiz, sporsuz, gram pozitif boyanan koklardır (Şekil1). Stafilokoklar çiftler, tetradlar, tekli hücreler veya kısa zincirler halinde bulunabilir, fakat genel olarak düzensiz kümeler halinde bulunurlar (Bilgehan, 2000).



Şekil 1. Stafilokokların morfolojisi (URL-1)

2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri

Fakültatif anaerob olan stafilkoklar (*S.saccharolyticus* ve *S.aureus* subsp. *anaerobius* hariç) çoğunlukla aerob ürerler. Basit besiyerleri de dahil olmak üzere birçok besiyerinde üreyebilen stafilkok türlerinin büyük çoğunluğu 30-37°C’de 18-24 saat içinde 1-3 mm çapında koloni oluşturur. Optimal 37°C’de ve pH 7,4’te üremelerine karşın, 18-40°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında ve pH 4,2-9,3 arasında da üreyebilirler. %10 ve daha az sodyum klorür (NaCl) içeren ortamlarda iyi, %15 NaCl’li ortamda zayıf üreme gösterirler. *S.aureus* suşlarında beta hemoliz ve sarı pigment görülür (Şekil 2). Kültürde S tipi, yuvarlak, hafif kabarıklık, parlak ve ıslak koloniler oluşturur. KNS’ler ise S tipi, hafif konveks kabarıklık ve genellikle pigmentsiz koloniler oluşturur (Moreillon ve ark., 2005).



Şekil 2. *S.aureus* üreme ve kültür özellikleri (URL-2)

2.5. Biyokimyasal Özellikleri

Koagülaz pozitif olan diğer stafilkoklar; *S.aureus*, *S.intermedius*, *S.lugdunensis*, *S.hyicus*, *S.delphini*, *S.lutrae* ve *S.schleiferi* subsp.’dir. Genellikle katalaz pozitif (*S.saccharolyticus* ve *S.aureus* subsp. *anaerobius* hariç), oksidaz negatif (*S.sciuri*, *S.lentus* ve *S.vitulinus* hariç) mikroorganizmalardır. Stafilkoklar glukoz başta olmak üzere maltoz, laktoz, fruktoz gibi karbonhidratların çoğunu asit oluşturarak parçalar, gaz oluşturmazlar. Mannitolu sadece *S.aureus* fermente eder.

2.6. Virülans Faktörleri

Virülansı en yüksek olan stafilkok türü *S.aureus*’dur. Enfeksiyonun oluşması mikroorganizma virülansı ile konak savunma sistemi arasındaki dengeye bağlıdır.

Stafilokokların virülansında rol oynayan faktörler; kapsül, hücre duvarları, yüzey proteinleri, toksinler ve enzimlerdir.

2.6.1. Kapsül

Stafilokoklar genellikle kapsül içermemekle birlikte, hücre duvarlarının en dış tabakasında polisakkarit bir kapsül bulundurabilmektedirler. Kapsül, prostetik yüzeylere ve konak hücrelere tutunmasını sağlamaktan ve polimorfonükleer hücreler tarafından organizmanın fagositozunu önlemekle sorumludur. Bugüne kadar 11 kapsül serotip tanımlanmıştır. Enfeksiyonların bir çoğu serotip 5 ve 7 kaynaklıdır (Allen ve ark., 2006; Moreillon ve ark., 2005).

2.6.2. Genom

Gen çalışmalarında en çok kullanılan mikroorganizma *S.aureus*'tur. 1975 yılında *S.aureus*'un NCTC 8325 suşunda yapılan çalışmalarda kromozomal haritası ortaya çıkarılmaya başlamıştır. Sonraki çalışmalarda *S.aureus* genomunun fiziksel haritası Pulsed Field Gel Elektroforezi (PFGE) ve dizi analizi tekniklerinin gelişmesiyle ortaya çıkarılmıştır. *S.aureus* genomunun uzunluğu yaklaşık olarak 2,8 mega baz çiftidir. Genomun %84,5'ini oluşturan 2600 Open Reading Frame (ORF) bölgesi bulunmaktadır. G+C oranı %33'tür. Antibakterial direnç ve virülans faktörleri plazmidler, fajlar ve Staphylococcal Cassette Chromosome genleri (SCC) tarafından kodlanmaktadır.

2.6.3. Hücre Duvar Yapısı

S.aureus'un hücre duvarı üç temel komponentten oluşmaktadır; peptidoglikan, teikoik asit ve protein-A. Stafilokok hücre duvarının en dış tabakası polisakkarit kapsül ile kaplıdır. Bu kapsül bakteriyi fagositoza karşı korur.

Peptidoglikan Tabaka

Hücre duvarı ağırlığının yarısını peptidoglikan teşkil eder (Allen ve ark., 2006; Lowy, 1998). Peptidoglikan; zincir tabakalarından oluşup stafilokoklarda yüksek iç basınca dayanabilen çok katmanlı hücre duvar yapısının ayrılmaz bir parçasıdır.

Teikoik Asit

Teikoik asit sadece gram pozitif bakterilerde bulunur, türlere özgüdür. Teikoik asit, hücre ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur. Mukozalarda bulunan özgül reseptörler ile birleşerek stafilokokların konak hücreye yapışmasını sağlar. Teikoik asit iki tiptir; hücre teikoik asiti ve hücre membranı ile ilişkili olan lipoteikoikasitidir.

Lipoteikoikasit bakteri membranına kovalent bağlıdır. Teikoik asitler hücre membranı ile hücre duvarı bütünlüğünün sağlanmasında, hücre duvarı stabilizasyonunda, peptidoglikan sentezinde, hücre fonksiyonları için gerekli küçük iyonların bağlanmasında ve çoğalma sırasında septum oluşumunda görev alır. Teikoik asit zayıf immünojen olmasına rağmen peptidoglikana bağlandığında spesifik bir antikor cevabı uyarılır. Bu spesifik antikor cevabı sistemik stafilokokal hastalığı belirlemede kullanılıyor olmasına rağmen diğer tespit yöntemlerine göre daha az duyarlılığa sahip olduğundan artık tercih edilmemektedir (Allen ve ark., 2006; Moreillon ve ark., 2005; Murray ve ark., 1993).

Yüzey Proteinleri

Kimyasal yapıları ve hücre duvarı yerleşimleri birbirlerine benzerlik gösteren stafilokoksik yüzey proteinleri; protein-A, elastin, kollajen, fibronektin bağlayan proteinler ve clumping faktör olarak bilinir. Stafilokok yüzey proteinlerinin en önemli görevi konak dokulara kolonizasyonunu sağlamaktır.

Protein-A; sadece *S.aureus*'ta bulunan, peptidoglikan yapının en dışındaki hücre duvarı komponentidir. Protein-A yüzey proteinlerinin bir prototipi olup hücre duvarının yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır. En önemli özelliği, mikroorganizmayı fagositoza karşı korumaktır (Moreillon ve ark., 2005). IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'lerin Fc reseptörleri ile birleşebilir (Allen ve ark., 2006; Cengiz, 1999; Levinson ve Jawetz, 2000). Ayrıca hücre dışına salgılanan protein-A aynı reseptörlere bağlanarak komplemanın aktive olmasına neden olur. Protein-A bazı enfeksiyon hastalıklarının tanısında in vitro deneylerde kullanılmaktadır. Bu testler sadece antijen aramak amacıyla kullanılan bir tanı yöntemi olup koagülünasyon adını alır (Murray ve ark., 1993).

2.6.4. Toksinler

Sitolitik Toksinler

Konak hücre morfolojisini veya fonksiyonunu etkileyen çok sayıda ekstrasellüler toksin stafilokoklar tarafından üretebilmektedirler. Bu toksinler vasıtası ile stafilokoklar yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde üremelerini sürdürebilirler. Bu sitolitik toksinlerden en iyi bilinenleri hemolizinler ve lökosidindir (Allen ve ark., 2006; Cengiz ve ark., 1999; Joklik ve ark., 1988).

Hemolizinler

S.aureus antijenik özellik bakımından dört farklı hemolizin üretmektedir. Bu hemolizinler alfa, beta, gama, delta olarak isimlendirilirler.

Alfa Hemolizin (Alfa Toksin)

Polimorfonükleer lökositler, fibroblastlar, trombosit ve eritrosit içeren birçok hücre üzerinde sitolitik etkiye sahip olan en önemli hemolizindir (Murray ve ark., 1992). Bakteriyel kromozomlar veya plazmidler tarafından kodlanmaktadır. Hücre membranına bağlanarak membran üzerinde litik etki oluşturur. En güçlü membran hasar proteinidir. İnsan makrofajları ve plateletleri üzerinde litik etki oluştururken, monositler zarar görmezler. Hemolitik, dermonekrotik ve letal etkileri bulunmaktadır (Moreillon ve ark., 2005; Joklik ve ark., 1988). Alfa toksin memeli hücrelerinde por oluşumuna neden olarak inflamatuvar yanıtı indükler. Subkutan verildiğinde nekroza yol açar ve potansiyel nörotoksin etkisi de vardır. Koyun kanlı agarda üreyen bazı *S.aureus* izolatlarının kolonileri etrafında oluşan hemolizin zonundan bu toksin sorumludur (Allen ve ark., 2006; Gouaux ve ark., 1997). Ayrıca alfa hemolizinin deneysel endokardit oluşumunda önemli olduğu saptanmıştır. *S.aureus*'un birçok suşu tarafından alfa hemolizin üretilir (Şekil 3). Alfa toksin, kan damarlarındaki düz kasları parçalar. Eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit ve hücre kültürlerini de içeren birçok hücreye toksik etki gösterir.

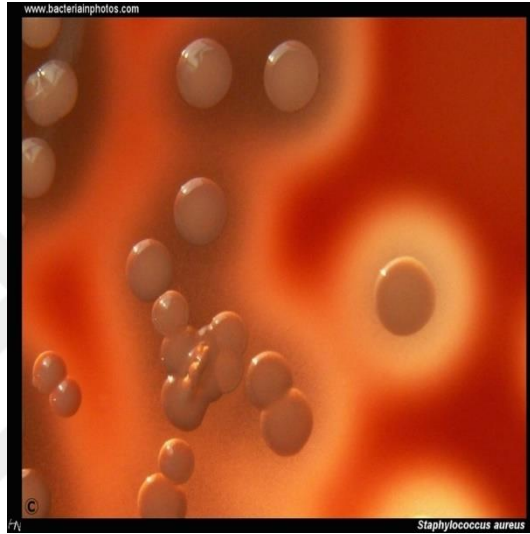


Şekil 3. Stafilokoklarda alfa hemoliz görünümü (URL-3)

Beta Hemolizin (Beta Toksin)

Beta toksin sfingomyelinaz özelliğiyle membranların lipid komponentlerini bozarak hasara uğratar (Şekil 4). Dermonekrotik etkisi bulunmaktadır. En iyi koyun eritrositlerine etki etmekle birlikte insan eritrositleri üzerinde orta dereceli toksisiteye sahiptir. Stafilokokal enfeksiyonlarda doku harabiyeti ve apse oluşumunda alfa ve beta toksin birlikte rol oynar. Sıcak-soğuk lizis yapabilmesi bu toksinin en önemli özelliğidir. Isıya dayanıksız yani düşük ısılarında lizis özelliği daha da artmaktadır (Moreillon ve ark., 2005). Bu toksinin insan enfeksiyonlarındaki rolü henüz tam olarak

açıklanamamıştır. Ancak alfa hemolizinle birlikte stafilokok enfeksiyonlarının tipik apse formasyonu ve doku hasarından sorumlu olabileceğine inanılmaktadır (Murray ve ark., 1993; Tünger, 2004). Ayrıca B grubu streptokoklar ve *Listeria monositogenes* tarafından üretilen ve *S.aureus*'un hemolizini artırıcı etkiye sahip olan CAMP faktörle etkileşen ve sinerjik hemolize neden olan yapıdır (Tünger, 2004). Makrofaj, lökosit ve eritrositleri içeren birçok hücreye toksik etki göstermektedir. Hücre yüzeyindeki sfingomiyelin konsantrasyonu ile orantılı lizise neden olur. Duyarlı hücrelerde membran fosfolipitlerinin hidrolizini katalize eder.



Şekil 4. *S.aureus* beta hemoliz görünümü (URL-4)

Gama Hemolizin (Gama Toksin)

Gama hemolizin her birinin moleküler ağırlığı 32-35 kDa arasında değişen üç proteine sahiptir. Gama hemolizin diğer hücrelere ek olarak lökositleri de eritebilir ve bazen lökositin olarak da adlandırılır. *S.aureus* suşlarının %97'sinden fazlasında, koagülaz negatif stafilokokların %50-70'i kadarında bulunmaktadır (Şekil 5). Gama hemolizin proteinleri hemolizin γ A (HlgA), hemolizin γ B (HlgB), ve hemolizin γ C (HlgC) olmak üzere üç tiptir. Deterjan benzeri bir etkiye sahip küçük moleküllerin agregatıdır. Hücre membranında zamanla genişleyen kanallar açarak sitoplazma içeriğinin dışarı sızmasına neden olur.



Şekil 5. Stafilokoklarda Gama hemoliz görünümü (URL-5)

Delta Hemolizin (Delta Toksin)

Delta toksin deterjan benzeri etki ile eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratan bir proteindir. Moleküler ağırlığı 3 kDa olan bir proteindir. Geniş biyolojik aktiviteye sahip olan bu toksin, hücre membran bütünlüğünü bozarak boyutları zamanla artan kanallar oluşturarak membranla etkileşir ve hücre içeriği dışarıya çıkar (Allen ve ark., 2006). Bu enzimatik aktivite, Stafilokoksik Toksik Şok Sendromu (TSS) ve stafilokokal besin zehirlenmesinde rol oynar. Antijenik özellik göstermez (Allen ve ark., 2006; Cengiz, 1999; Murray ve ark., 1993).

Lökosidinler

Panton – Valentine Lökosidin (PVL)

PVL proteinleri ise LukS-P-V ve LukFP-V olmak üzere iki tiptir. HlgA, HlgC ve LukS-P-V proteinlerine, çözücü içinde yavaş ayrıştıklarından S (slow-eluting protein) proteinleri, HlgB ve LukF-P-V proteinlerine ise çözücü içinde hızlı ayrıştıklarından dolayı F (fast-eluting protein) proteinleri adı verilmiştir. Bu üç S proteininden her biri, iki F proteininden biri ile bağlanarak ikili kompleksler oluşturur. S ve F proteinlerinden hiçbiri tek başına hemolitik veya lökosidal aktivite gösteremez. Nötrofil ve makrofajlar üzerine litik etkisi vardır ancak hemolitik aktivitesi yoktur (Allen ve ark., 2006; Murray ve ark., 1993).

Enteretoksin

Serolojik olarak farklı antijen yapısına sahip 8 çeşit stafilokokal enterotoksin saptanmıştır (A, B, C1, C2, C3, D, E ve F). Enteretoksinler 100°C’de 30 dakika

ısıtmaya ve gastrik-jejunal enzimlerle hidrolize dirençli, polipeptit yapısında maddelerdir. Bu nedenle besin maddesi bir kere enterotoksin üreten stafilocoklarla kontamine olduktan sonra, yiyeceğin tekrar ısıtılması ya da sindirim süreci önleyici olamayacaktır. Bütün *S.aureus* suşlarının %30-50'si bu toksinleri üretmektedir. Besin zehirlenmelerinde karşımıza çıkan en yaygın toksin enterotoksin A'dır. Enterotoksin B ise hastane enfeksiyonlarında çok karşılaşılan bir toksindir. Enterotoksin B nadir görülen stafilokoksik psödomembranöz enterokolit tablosuna neden olmaktadır (Tünger, 2004). Enterotoksin B ve nadiren enterotoksin C menstruasyon dışı TSS olgularının yaklaşık yarısından sorumludur. Bu toksinler süperantijen olup, sitokin salınımı ve T hücrelerinin nonspesifik aktivasyonunu uyarabilirler (Bilgehan, 2000; Murray ve ark., 1993).

Toksik Şok Sendromu Toksini

Stafilokokal süperantijenler olarak bilinen toksin grubunun bir parçasıdır. 22 kDa molekül ağırlığındadır. TSST-1 (toksik şok sendrom toksini) toksik şok sendromuna neden olan ve birçok *S.aureus* tarafından oluşturulan toksindir. Süperantijen yapısında olan bu toksin ısıya ve proteolitik enzimlere dirençlidir. Özellikle adet görme sırasında tampon kullanan kadınlarda veya yara enfeksiyonu bulunan kişilerde toksik şoka neden olur (Levinson, 2008). Toksik şok sendromu ateş, diyare, deride yaygın kırmızı döküntüler, mental konfüzyon, ciddi hipotansiyon, böbrek yetmezliği ile karakterize klinik bir tablodur (Allen ve ark., 2006; Cengiz, 1999). TSST-1 düşük konsantrasyonlarda endotelial hücrelerden sızıntıya neden olurken, yüksek konsantrasyonlarda hücrelere sitotoksik etki göstermektedir (Dinges ve ark., 2000). Son zamanlarda koagülaz negatif stafilocokların da TSST-1 üretebildikleri ve bu organizmalar tarafından oluşturulan TSS vakaları bildirilmiştir (Crass ve Bergdoll, 1986).

Eksfoliyatif Toksin (Eksfoliyatin)

Eksfoliyatif toksin A ve B olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Her biri 24 kDa moleküler ağırlığındadır. Eksfoliyatif toksin A ısıya dirençli olup kromozomal kökenli bir proteindir. Eksfoliyatif toksin B ise ısıya duyarlı plazmid aracılı bir proteindir. Bu iki protein biyokimyasal ve antijenik yapıları bakımından farklı olmasına rağmen benzer biyolojik aktiviteye sahiptirler (Allen ve ark., 2006; Moreillon ve ark., 2005). Bu toksinlerin benzer aktiviteleri, süperantijen özelliğinde olmaları ve proteolitik

aktiviteye sahip olmalarıdır (Tünger, 2004). Bu toksinlerin birinin ya da her ikisini üreten suşlar “stafilokokal soyulmuş deri sendromundan” sorumludur. Stafilokokkal Haşlanmış Deri Sendromu (SHDS)’na neden olan bu toksinler, epidermisdeki stratum granulosum tabakasını oluşturan hücrelerin interselüler bağlarının kopmasına ve stratum granulosumun ayrılmasına neden olurlar (Aygen, 1997).

2.6.5. Enzimler

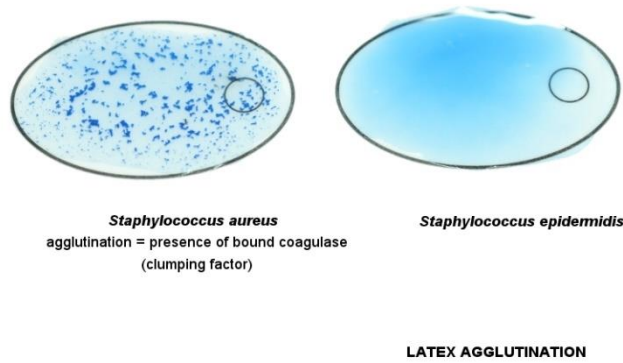
Katalaz

Bütün stafilokoklar miyeloperoksidaz sisteminde düzenlenen toksik hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşümünü katalize eden katalaz enzimi üretirler. Bu enzim sayesinde bakteriler fagositoz sonrasında da yaşamını sürdürebilir (Kloos ve Bannerman, 1995). Hidrojen peroksit bakteriyel metabolizma sırasında veya fagositoz sonrası birikebilir. Katalaz, fagositte edilmiş bakterinin oksijen radikalleri ile öldürülmesini engelleyerek konak savunma mekanizmalarını bozar.

Koagülaz

S.aureus'un tanımlanmasında kullanılan en güvenilir testtir (Allen ve ark., 2006). *S.aureus* suşları bağlı ve serbest olmak üzere iki formda koagüloza sahiptir. Stafilokokkal hüce duvarındaki bağlı koagülaz direkt olarak fibrinojeni çözünmeyen fibrine çevirir ve stafilokokların kümeleşmesine neden olur (Şekil 6). Serbest koagülaz ise plazmada coagulase-reacting factor (CRF) ile birleşerek bir trombin benzeri faktör (staphylothrombin) oluşturur. Bu faktör fibrinojeni fibrine dönüştürerek kümeleşmeye neden olur. Bu şekilde bakterinin etrafı fibrinle çevrilir ve bakteri fagositoza karşı dirençli hale gelir (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004).

www.bacteriaiphotos.com



Şekil 6. Stafilokoklarda koagülaz testi (URL-6)

Hyaluronidaz

Bağ dokuda bulunan Hyaluronik asidi hidrolize eder. Bu enzim antijenik özelliğe sahiptir. *S.aureus*'un dokuda yayılımını kolaylaştırır (Allen ve ark., 2006). *S.aureus*'ların %90'dan fazlası bu enzimi üretir.

Fibrinolizin

Stafilokinaz olarak da isimlendirilir. Hemen hemen bütün *S.aureus* türlerince üretilir, fibrin kılıfını eriterek infeksiyonun yayılımını kolaylaştırır (Murray, 1993). Aynı zamanda stafilokokal fibrinolizin ısıya dirençlidir.

Lipaz

S.aureus'un tüm suşları ve KNS'lerin %30'u tarafından lipaz üretilmektedir. Bu enzim lipitleri hidrolize eder. Lipaz vücutta yağca zengin deri bölgelerinde bulunan stafilokokların canlılığını devam ettirmesini sağlayan bir faktördür. Ayrıca kutanöz ve subkutanöz dokularda yüzeysel cilt enfeksiyonlarının gelişiminde rol oynar (Tünger, 2004, Kloos ve Bannerman, 1995).

Fosfolipaz C (Phosphatidylinositol-specific Phospholipase C, Lesitinaz)

Hücrelerin kompleman ve onun biyoaktif ürünlerine karşı duyarlılığını arttırmaktadır. Bunun sonucu olarak hücreler daha çabuk parçalanır. Özellikle erişkin tip solunum zorluğu sendromu ve dissemine intravasküler koagülasyon tanısı bulunan hastalardan izole edilen suşlarda saptanan bir enzim çeşididir. Bu suşlar antimikrobiyal ajanlara özellikle penisiline dirençlidir.

Beta-Laktamaz (Penisilaz)

S.aureus en az 3 farklı tip beta-laktamaz üretmektedir. Beta-laktamazlar, Beta-laktam halkasındaki amid bağına parçalayarak beta-laktam antibiyotiklerin etkilerini inhibe ederler. Penisilin, ampicilin ve diğer beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen direncin büyük kısmı bu yolla ortaya çıkmaktadır. Bu enzimleri kodlayan direnç genleri plazmidler ve transpozonlar aracılığıyla diğer suşlara aktarılır (Kloos ve Bannerman, 1995; Bouvet ve ark., 1990).

Slime faktör

Bu madde stafilokokların katater ve diğer sentetik maddelere kolayca yapışmasına ve kolonize olmalarını sağlar. Bazı KNS'ler tarafından sentezlenir. %40'ı karbonhidrat, %27'si protein yapısında, kuvvetli antijenik özelliğe sahip bir madde olup

hücrel immün yanıtı baskılar, opsonizasyonu, nötrofil kemotaksisini ve nötrofil fagositozunu inhibe eder (Allen ve ark., 2006; Aygen, 1997).

Deoksiribonükleaz (DNase)

DNA'yı hidrolize eden bir fosfodiesterazdır. *S.aureus* izolatlarının %90-96'sında bulunur, ısıya dirençlidir. Patojenitedeki rolü henüz bilinmemektedir (Allen ve ark., 2006).

2.7. Epidemiyoloji

Yenidoğanlarda *S.aureus* suşları göbek çevresi, perianal bölge, deri ve bazen de gastrointestinal sistemde kolonize olur. İleriki dönemlerde ise *S.aureus*'un en önemli kolonizasyon bölgesi ön nazofarinkstir. Sağlıklı erişkinlerde kolonizasyon %10-20 oranında kalıcı olmakla birlikte, %30-50 arasında değişmektedir. Stafilokoklar sistemik ve lokal birçok enfeksiyona neden olan ve son yıllarda bazı antimikrobiyal ajanlara direnç geliştirmesi nedeniyle önem kazanan mikroorganizmalardır (Kireççi ve Aktaş, 2004). Sıklıkla deri ve deri ile ilişkili bezlerde, bazen de orofarinks, gastrointestinal ve ürogenital mukozada kolonize olurlar (Kloos ve Bannerman, 1995). KNS'ler mukozalar üzerinde, nemli bölgelerde ve özellikle deride, normal flora elemanı olarak bulunurlar. Aksilla, burun delikleri, perine gibi nemli bölgelerde 10^3 - 10^6 bakteri oluşturan ünite (colony forming unit)/ cm^2 (CFU/ cm^2), kuru yüzeylerde ise 10 - 10^3 CFU/ cm^2 gibi miktarlarda bulunurlar (Kocazeybek ve ark., 2011). Tip 1 diyabetli hastalar, intravenöz uyuşturucu kullananlar, hemodiyaliz ve cerrahi operasyon geçirmiş hastalar, atopik dermatitliler, kazanılmış immun yetmezlikli hastalar ve IL-2 (Interlökin) tedavisi gören hastalarda taşıyıcılık oranı genel popülasyona göre daha fazladır (Dündar, 2000). Stafilokoklar yüksek ısı, dezenfektanlar ve antiseptik solüsyonlara duyarlıdır fakat kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilirler. Stafilokoklar direkt temasla veya kontamine araç ve gereçlerle yayılırlar (Murray ve ark., 1993). Nazal taşıyıcılık oranı hem toplumda hem de hastane çalışanlarında %10-40 arasında değişir. *S.aureus* nazal taşıyıcılığı, özellikle MRSA'da hem kalıcılık hem de çoklu ilaç dirençli stafilokokun yayılımı anlamına gelmektedir (Moreillon ve ark., 2005). Etken oldukları hastane enfeksiyonlarında en önemli kaynak, hastalar veya hastane personelinin burun taşıyıcılığıdır (Hızel ve ark., 2005). Toplumda kontrol, kronik veya tekrarlayan taşıyıcılara yöneliktir. Korunmanın temelinde hijyen koşullarına uyulma, deri

temizliğine dikkat edilme ve gıda işlemleriyle ilgilenenlerin temizlik kurallarına uyma prensipleri bulunmaktadır (Souvenir ve ark., 1998).

2.8. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak *S.aureus*

S.aureus toplum ve hastane kaynaklı ciddi enfeksiyonların önemli bir nedeni olarak bilinmektedir (Joklik ve ark., 1988). Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi, endokardit, menenjit, pulmoner enfeksiyonlar, perikardit, osteomyelit, septik artrit, piyomyozitin en önemli etkenlerindedir. Ayrıca *S.aureus* antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdiği direnç mekanizmaları ile oldukça önem taşımaktadır. 1945 yılından itibaren penisilin tedavisiyle birlikte *S.aureus* suşlarında beta laktamaza bağlı penisilin direnci hızla artmıştır. 1960 yılında penisilaza dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin kullanıma girmesiyle birlikte bir yıl içinde MRSA suşları Avrupa'da görülmeye başlamıştır. 1980'de İngiltere'de ilk epidemik MRSA suşu tanımlanmış ve ardından farklı coğrafik bölgelerden de dirençli suşlar bildirilmeye başlamıştır. Günümüzde MRSA tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir sorun olarak bildirilmektedir. 1980'li yıllardan itibaren MRSA hastanelerde majör klinik ve epidemiyolojik bir problem olarak bilinmektedir. MRSA; mukoz membranların ve derinin normal florasında bulunmaktadır. Majör kolonizasyon yeri burun içidir. Genel popülasyonun yaklaşık %40'ı nazal taşıyıcıdır. Hastane personeline bu oran %70'e kadar çıkabilmektedir. Hastalar ve hastane personeline MRSA nazal taşıyıcılığı, hastanede MRSA'nın yayılmasına neden olmaktadır. Nozokomiyal MRSA yayılımının yollarını tanımlamak ve MRSA salgınlarının epidemiyolojisini incelemek için bireysel MRSA kökenlerinin ayırt edilebilmesi gerekir. Hastane içinde *S.aureus*'un klonal yayılma eğilimi klinik izotlarda özgül tipleme yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Ancak MRSA kökenleri arasında yüksek derecedeki genetik yakınlık nedeni ile özellikle rutin bakteriyolojik yöntemleri kullanan pek çok hastane laboratuvarı için bu ayırım güç olabilir. MRSA kolonizasyonu ve enfeksiyonları risk altındaki hastalar; immün yetmezliği olan hastalar, çoğul antibiyotik tedavisi uygulanan hastalar, steroid ve kemoterapi alan hastalar, hemodializ hastaları, cerrahi ve yoğun bakım ünitesi hastaları, yaşlı ve malnütrisyonu olan hastalar ve diyabet hastalarıdır. Hastanelerde MRSA salgınları durumunda enfeksiyon kontrol ekibi birçok problemle karşı karşıya kalabilmektedir. Bu problemler; salgın kaynağını tanımlamada zorluk, izolasyon imkanlarının sınırlı olması sebebiyle

vakaların artan sayısı ile başa çıkamamak, servis kapatmanın karışıklığa yol açması, personel taramasından etkili sonuç alınmaması gibi güçlükler MRSA kontrolüne daha fazla önem verilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. MRSA nazal taşıyıcı olan hastane personeli, bu bakteriyi diğer personele ve hastalara direkt el teması veya hava yoluyla bulaştırabilmektedir. MRSA bir aydan daha uzun süre çevre koşullarında canlı kalabilmektedir. İndirekt temas yolu ile de bulaşabilir. En yaygın bulaşma yolu sağlık personelinin kontamine elleridir.

2.8.1. Stafilokokların Neden Olduğu Enfeksiyonlar

S.aureus yaygın insan patojenidir. Deri ve yumuşak dokudan, pnömoni, osteomyelit ve endokardit gibi bir çok enfeksiyona neden olur (Joklik ve ark., 1988). Deri enfeksiyonlarında stafilokok, yağ ve ter bezleri ile kıl diplerinden organizmaya girer. İnsanın savunma mekanizması, mikroorganizmanın sayısı, virulansı, deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması enfeksiyon oluşumunu etkileyen faktörlerdir. Damar içi protez ve plastik katater uygulamaları ile bakteriyemi gelişebilir. Burunda stafilokok taşıyanlar önemli enfeksiyon kaynağıdır. Bakteri hava yoluyla ve temasla bulaşır, yayılır. *S.aureus*, enfekte ettiği bölgede hızla kolonize olabilen bir bakteridir. Yerleştiği odaktan lenfatikler ya da kan akımıyla yayılarak vücudun diğer kısımlarına yayılarak vücudun diğer kısımlarında enfeksiyon oluştururlar. *S.aureus*, yüksek virülansı, çevresel koşullara üstün adaptasyon yeteneği ve antibiyotiklere çok çabuk direnç geliştirebilmesi ile stafilokok türleri arasında özel bir yere sahiptir. Yeni geliştirilen antibiyotiklere bile oldukça hızlı ve etkin direnç mekanizmaları geliştirerek hastane enfeksiyonlarının en başta gelen etmenlerinden biri olmaktadır. Toksinler (Alfa-hemolizin, panton-valentin lökositin), süper antijenler (enteretoksinler, toksik şok sendrom toksini-1), fagositoz inhibitörleri (polisakkarit kapsül, protein-A) ve immün sistemden kaçış molekülleri (stafilokinaz, aerolizin) *S.aureus*'un patogenezi için önemli katkıda bulunurlar. İnsanlardaki stafilokok enfeksiyonlarında *S.aureus* öncelikli patojen olarak yer alır. Bundan başka deri ve mukozaların normal flora bakterileri olarak kabul edilen *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus* gibi koagülaz negatif stafilokoklarda enfeksiyon tablosu oluştururlar. *S.aureus* ya toksinleriyle ya da dokulara yayılıp zarar vererek hastalık yapmaktadır. Stafilokok enfeksiyonlarının ana bulgusu süpürasyondur. İrin dolu apse oluştururlar. Bazı stafilokok hastalıkları sadece toksin etkisinin bir sonucu olarak (SHDS, stafilokoklara bağlı besin zehirlenmeleri ve TSS gibi), diğer bazıları ise

bakterinin çoğalmasını takiben apse gelişimi ve doku yıkımına bağlı olarak (deri enfeksiyonları, endokardit, pnömoni, ampiyem, osteomyelit, septik artrit gibi) ortaya çıkmaktadır.

Deri Enfeksiyonları

İnsanlarda en çok görülen enfeksiyon türüdür. İmpetigo, derinin yüzeysel tabakalarında kabuklu püstüllerin oluşumu ile karakterizedir. Çok bulaşıcıdır. Bebeklerde SHDS sebep olurlar. Lokal lezyonu, deri kavlaması izler. Yenidoğanda jeneralize eksfoliyatif dermatit yapar. Bu hastalık tipik olarak *S.aureus*'ta bulunan *eta* ve *etb* genlerinin kodladığı eksfoliyatif toksin A ve B'den (ETA-ETB) biri ile meydana gelmektedir. Bu genler faj veya plazmid üzerinde bulunmaktadır. Kıl folikülü enfeksiyonu (follikülit)'nun deri altı dokuya yayılmasıyla fronkül ve karbonkül meydana gelir (Dündar ve Dündar, 2008). Fronkül kabarcık şeklinde, lokal bir lezyon görünümündedir. Enfeksiyon deri altına penetre olduktan birkaç saat sonra ödem, kırmızılık ve ağrı oluşturur. Ödemli bölgenin üzerindeki deri parlak ve incedir. Kısa bir süre sonra delinir. Karbonkülde ise daha fazla odak ve fibroz dokunun derin tabakalarına yayılım vardır. Yüz, boyun ve sırt bölgelerinde sıklıkla görülür.

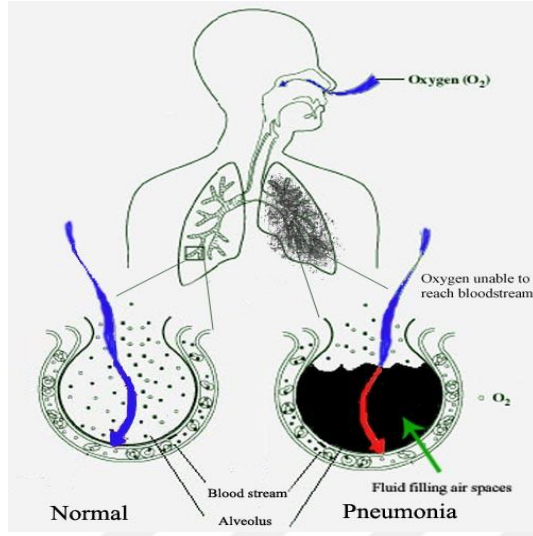
Mastit

Puerperal dönemin genellikle ikinci veya üçüncü haftasında olmak üzere emziren kadınların %1-3'ünde *S.aureus* ile ilişkili mastit gelişebilmektedir.

Pnömoni

Stafilokoklar nazofaranjit ve akut sinüzitin en çok görülen nedenleri arasında yer almaktadır. Lober, intersitisyel pnömoni ve lokal septik emboli yapabilir. Stafilokokal pnömonide, apse oluşumuna eğilim vardır. Akciğer parankim harabiyetiyle bronkopnömoni, fulminan, hemorajik pnömoni tabloları gelişebilir. Hastalarda yüksek ateş, sarı kanlı balgam çıkarma ve öksürük mevcuttur. Bakteri, ampiyem sıvısı, balgam ve akciğer iğne biyopsisi materyalinden ve kan kültüründen izole edilebilmektedir. Hastane kökenli *S.aureus* pnömonileri ise genellikle entübasyon sonrası veya aspirasyona bağlı olarak görülür (Aygen, 1997).*S.aureus* pnömonisi önceleri daha az sıklıkla tanımlanmış ve ilk olarak influenzanın bir komplikasyonu olarak görülmüştür. 1918'lerde genç bireylerdeki influenza pandemilerinden elde edilen kayıtlarda ölenlerin çoğu ile *S.aureus*'un yol açtığı bakteriyel süper enfeksiyonlar arasında ilişki kurulmuştur. Son yıllarda, PVL toksini üreten *S.aureus* izolatları sağlıklı genç

bireylerdeki pnömoni gibi deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 7).



Şekil 7. Pnömoni'de akciğer görünümü (URL-7)

Üriner Sistem Enfeksiyonları

Süpüratif Hidraadenit

Aksilla, perine ve genital bölgelerde görülen, ter bezlerinin piyojenik enfeksiyonudur (Şekil 8). Hematojen yolla veya katater kullananlarda asendan yolla gelişebilir (Aygen, 1997; Ulusoy, 2004). Lezyonlar fronkül benzeri gruplar halinde görülür. Birden fazla drenaj açıklığı olabilir. İyileştiğinde skar bırakır.



Şekil 8. Süpüratif Hidraadenit görünümü (URL-8)

Kas ve İskelet Sistemi Enfeksiyonları

Septik Artrit

S.aureus, erişkinlerdeki non-gonokokal artrit ve çocuklardaki septik artrite neden olan en sık etkenlerdendir (Ulusoy, 2004). Septik artrit, lokal travma gibi durumlardan sonra hematogen veya iyatrojenik olarak meydana gelebilir. Semptomlar akut ağrı ve eklem şişmesi olarak görülmektedir. Birkaç gün içinde bireylerdeki bakteriyel enfeksiyonlardan dolayı eklem yıkımı gerçekleşir. Bu durumlardan dolayı hastalara hemen kültür, kan ve biyokimyasal testler uygulanır.

Septik Bursit

Septik bursit çoğunlukla dirsek ve diz kapağı gibi bölgelerde görülmektedir. Hastalık eklemlerdeki akut bir enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır. Eklem üzerindeki deri genellikle iltihaplanmıştır. Artrit ve osteomyelitin aksine septik bursitte eklem üzerini örten deride hareket veya baskı durumlarında ağrı oluşmamaktadır. Septik bursit olgularının %80'inden çoğuna *S.aureus* enfeksiyonları neden olur (Aygen, 1997; Ulusoy, 2004).

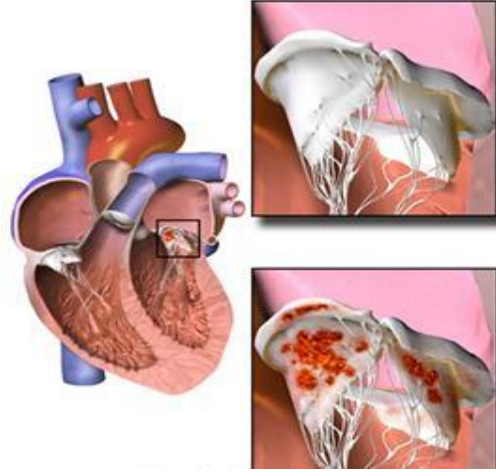
Pyomiyozit

İskelet kasının sık rastlanmayan piyojenik enfeksiyonu olan piyomiyozit, çocuklarda nadir görülen fakat ciddi seyredabilen bir hastalıktır. Piyomiyozit benign hastalıklarla kolaylıkla karıştırılabileceği için, kompartman sendromu, komşu eklemden osteomyelit, bitişik eklem ekstansiyonu ve yıkımı, sepsis ve ölüme yol açabilmektedir (Ulusoy, 2004).

Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Bakteriyemi ve Endokardit

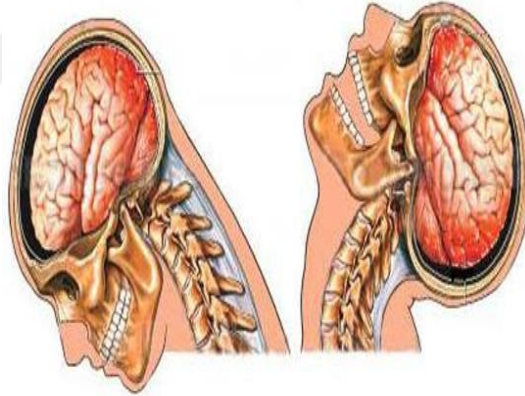
Toplumdan kazanılmış stafilokoklara bağlı bakteriyemi genellikle sellülit, osteomyelit ve pnömoni gibi bir odakta kaynaqlanırken; hastane kökenli stafilokok bakteriyemileri daha çok intravenöz kateterlerden kaynaqlanmaktadır (Aygen, 1997; Ulusoy, 2004). Hastalık genellikle ürperme ve titremelerle başlamaktadır. Fizik muayenede ateş ve subkonjonktival hemoraji yanında ileri olgularda nekrotik deri lezyonları ve ekstremitelerde gangren görülebilmektedir. *S.aureus*, akut bakteriyel endokarditisin en sık etkenidir (Şekil 9). Hastane ya da toplum kaynaklı olabilmektedir. Bunlar arasında birçok vakanın hastane çalışanlarından kazanıldığı bildirilmiştir.



Şekil 9. Endokardit görünümü (URL-9)

Menenjit

S.aureus menenjiti bakteriyemi, travma veya intratekal implant kolonizasyonu sonucu görülür. Klinik özellikleri diğer bakteriyel menenjitlerle aynıdır (Şekil 10).



Şekil 10. Menenjit belirtileri (URL10)

Osteomyelit

Yara ve fronkül gibi primer bir odaktan hematogen yayılım sonucu, *S.aureus* tarafından daha çok çocuklarda meydana gelen osteomyelit, uzun kemiklerin diafizinde görülmektedir. Osteomyelit çok eskiden beri bilinmektedir. Vakaların %50-70'ine *S.aureus* enfeksiyonları neden olmaktadır. Bakterinin kemikte meydana getirdiği enfeksiyonlar sonucu bu hastalık meydana gelmektedir. Antibakteriyel tedavilerin uygulanmasından sonra hem ölüm hem de osteomyelit yaygınlığında önemli bir azalma olmuştur.

Toksine Bağlı Olarak Gelişen Enfeksiyonlar

Besin Zehirlenmesi

Genellikle yiyecek hazırlayıcılarının ellerinde kolonize olmuş *S.aureus* suşlarının yiyeceklere bulaşması ve bu yiyecekler üzerine salgıladıkları ısıya dirençli enterotoksinlerin yiyeceklerle birlikte tüketilmesi ile ortaya çıkmaktadır (Aygen, 1997; Ulusoy, 2004). Toksin aracılı hastalıklar tipik olarak SHDS, TSS, stafilokokal besin zehirlenmesini içerir. Süperantijen özelliği taşıyan çeşitli toksinlerin aracılık ettiği hastalıklardır. Hastalık enterotoksin oluşturan suşlar tarafından açığa çıkarılan toksini bulduran besinlerin yenilmesinden birkaç saat sonra meydana gelmektedir. Hastalığın belirtileri besinin tüketilmesinden 6-8 saat sonra başlayan bulantı, kusma, diyare, karın ağrısı, ağır kramplar, baş ağrısı, terleme ve şoktur. Ateş görülmez ve 6-8 saat içinde, tam iyileşme gözlenir. Genellikle bol karbonhidratlı ve sütlü tatlılar, patates salataları, tavuk eti ve dondurma gibi yiyeceklerle bulaşmaktadır. Besinler genel olarak normal görünüşe ve kokuya sahiptirler.

Toksik Şok Sendromu

1980'lerin başlarında menstrüasyon sürecinde yüksek emici tamponların kullanımının artması ile birlikte genç kadınlarda çok sayıda olgu bildirilmiştir. Menstruel TSS, TSST-1 adı verilen toksin ile oluşmaktadır. Toksik suşlar lokal olarak toksini salgırlar. TSST-1 mukozaları geçer ve tüm vücuda yayılır. TSS, primer olarak TSST-1 üreten *S.aureus*'un lokal enfeksiyonu sonucu oluşan, septik şoka benzer bir klinik tablodur (Aygen, 1997; Ulusoy, 2004). Bu sendrom ateş, bulantı, kusma, diyare, yaygın döküntüler (skarlatino form), el ve ayak tabanlarında ekfoliyasyon ile kızılın yüzeysel formlarına benzemektedir. TSST-1 ekzotoksini, aerobik koşullarda en fazla üretilmektedir. TSS, 20-40 yaşındaki kadınlarda daha sık görülmekte ve menstrüasyon sırasında kullanılan tamponların, vajinada *S.aureus* kolonizasyonuna yol açmasıyla ortaya çıkmaktadır.

TSST-1'in şok ve çok sayıda organ-sistem yetmezliği oluşturmasında, çeşitli mekanizmalar etkin olmaktadır.

1- İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) gibi sitokinlerin salınımını tetikler. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit (LPS)'leri gibi aynı yoldan etki ederek şoka neden olur. T hücre proliferasyonu ve yüksek düzeylerde IL-2 üretimi gözlenir. Sekonder etki IL-1 ve TNF-alfa üretiminin artması gibi gözükmemektedir.

2- TSST-1, LPS ile sinerjik etki gösterir ve organizmanın LPS duyarlılığını artırır.

3- TSST-1 doğrudan endotel hücrelerini etkileyebilir. Bu yolla dolaşım sistemi fonksiyonlarında bozulma, kapillerden sıvı sızması ve hipotansiyon gelişir.

Haşlanmış Deri Sendromu

Haşlanmış deri sendromu yüzeysel bir deri enfeksiyonudur. İlk kez Alman doktor Baron Gotfried Ritter von Rittershain tarafından 1878 yılında tanımlanmıştır. Bazen “Ritter hastalığı” olarak da anılmaktadır. Yenidoğanda nazofarenks, göbek veya üriner sistemde enfeksiyon oluşturan, epidermolitik toksin üreten *S.aureus* suşları, enfeksiyonun 24-48. saatinde deride yaygın büller oluşturmaktadır. Sağlam görünen deri hafif bir sürtünme ile soyulur hale gelir. Daha sonra içleri steril duru sıvı ile dolu büller oluşur. Sonra büller parçalanır, yerlerinde yaygın kırmızı nemli çıplak bölgeler kalır. 3-5 gün içinde soyulan yerler kurur ve 10 günde yeni epidermis ile kaplanarak çoğu kez iyileşir. Fakat ciddi sıvı ve elektrolit kaybı sonucu hipovolemi ve sepsis oluşabilmektedir. Tutulan deri bölgesinde mikroorganizma yoktur. Toksin yüzeysel olarak tüm vücuda yayılır ve haşlanmış bir deri görünümü meydana gelir. Deriye dokunulduğunda hemen dökülme gerçekleşir. Meydana gelen kabarcıklar içindeki sıvı temizdir. Hastalık 4-7 gün içinde kendiliğinden düzelir. Tedavide spesifik antibiyotikler de kullanılabilir.

2.8.2. KNS Enfeksiyonları

Geçmişte KNS’lerin insan vücudunun dış ortamla temasta olan yüzeylelerinde, özellikle deride, normal flora elemanı olarak bulunduğu düşünülürken, günümüzde *S.aureus* kadar önemli bir patojen olduğu anlaşılmıştır. Başta *S.epidermidis* olmak üzere KNS’ler son yıllarda hastane enfeksiyonlarının önemli etkenlerindedir. Bu durumun nedeni normal flora bakterileri olmaları ve invaziv girişimler sonucu kolayca alınabilmeleridir. İnsanlarda en fazla patojen olanlar *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus*’tur (Dündar, 2000; Aygen ve ark., 1996).

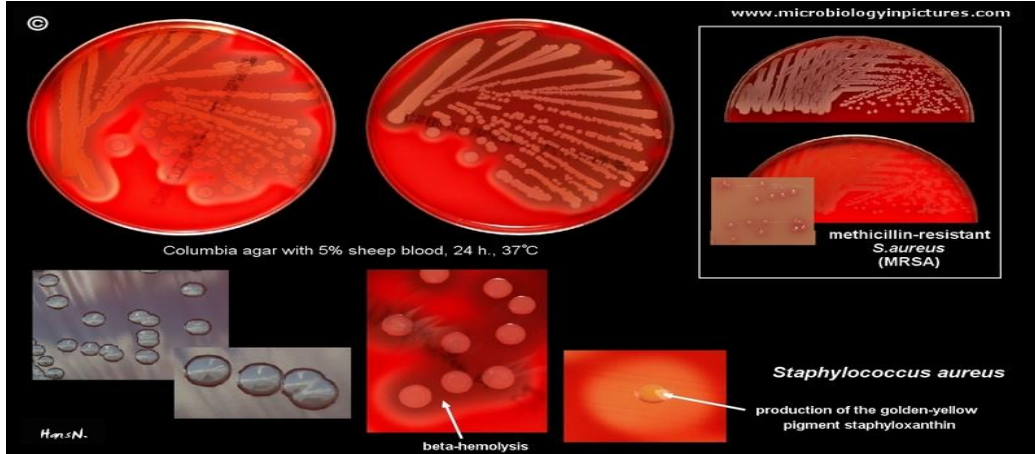
Yatan hastaların çoğuna yattıkları süre boyunca damar içi araç uygulanır. KNS’ler; damar içi kataterlerin sık kullanıldığı birimlerde nozokomiyal bakteriyemiye en sık neden olan bakterilerdir (Marshall ve ark., 1998). İntravenöz katater enfeksiyonlarında, çoğunlukla *S.epidermidis* etken olarak gösterilmektedir (Mermel ve ark., 2001). Koagülaz negatif stafilokokların etken olduğu doğal kapak endokarditi

nadir görülür ve tüm endokardit olgularının %5-8'ini kapsar. Endokardit oluşumu, geçici bakteriyemiler sırasında KNS'lerin hasar görmüş kalp kapaklarına ve endokarda tutunmaları ile gerçekleşmektedir. Prostetik kapak endokarditlerinde ise KNS'ler sıklıkla etken olarak karşımıza çıkmaktadır (Mermel ve ark., 2001). Katater ve şant enfeksiyonlarının %50'den fazlasından KNS'ler sorumludur. En sık gözlenen etken *S.epidermidis*'dir. *S.epidermidis*'in özellikle katater, şant, plastik protez gibi yabancı cisimlerin bulunduğu ortamlara afiniteleri büyüktür (Stout ve ark., 1994). *S.aureus* ile kıyaslandığı zaman KNS'ler nadiren osteomyelit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat iki durumda osteomyelit etkeni olarak öne çıkarlar. İlki eklem protezi takılması sonrası gelişen protez enfeksiyonu ve ikincisi açık kalp cerrahisi olmuş hastalarda gelişen sternal osteomyelitlerdir (Allen ve ark., 2006).

2.9. Tanı

2.9.1. Koloni Morfolojisi

S.aureus kolonileri, kanlı agarda 24 saat inkübasyon sonunda genellikle sarı-turuncu, düzgün kenarlı, yuvarlak, kremi ve hafif konveks koloniler oluştururlar. Bazı *S.aureus* kolonileri kanlı agarda beta-hemoliz yapabilir (Şekil 11). KNS kolonileri ise hafif konveks kabarık, S tipi, parlak ve genellikle pigmentsizdir (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004).

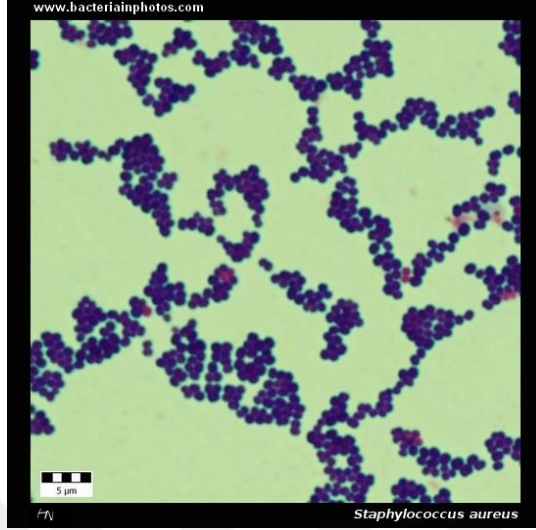


Şekil 11. *S.aureus* koloni morfolojisi (URL-11)

2.9.2. Gram Boyama

Temiz bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılır ve stafilokok kolonileri homojen bir şekilde karıştırılır. Havada kurutulur ve ardından 3 kez alevden geçirilir. Gram boyamaya tabi tutulur; kristal viyole (1 dakika), lügol eriyiği (1 dakika), %96'lık etil alkol ile yıkama (10 saniye) ve son olarak sulu fuksinde (30 saniye)

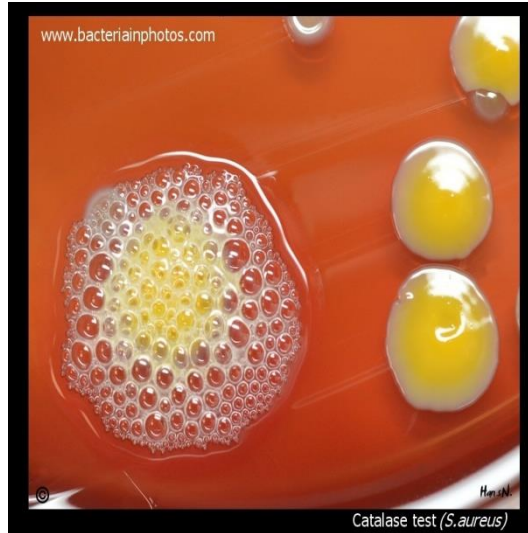
bekletilir. İmmersiyon yağı ile 100X'te yapılan incelemede gram pozitif üzüm salkımına benzeyen kok şeklindeki mikroorganizmalar stafilokok olarak değerlendirilir. Stafilokokların tümü gram pozitifdir (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004) (Şekil 12).



Şekil 12. Gram boyama sonrası görünümü (URL-12)

2.9.3. Katalaz Testi

Hidrojen peroksit (H_2O_2)'i su ve oksijene ayırıştıran katalaz enziminin gösterilmesi için yapılır (Şekil 13). Gram pozitif olan stafilokok ve mikrokokların, streptokok üyelerinden ayırımını sağlar (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004).



Şekil 13. Katalaz testi (URL-13)

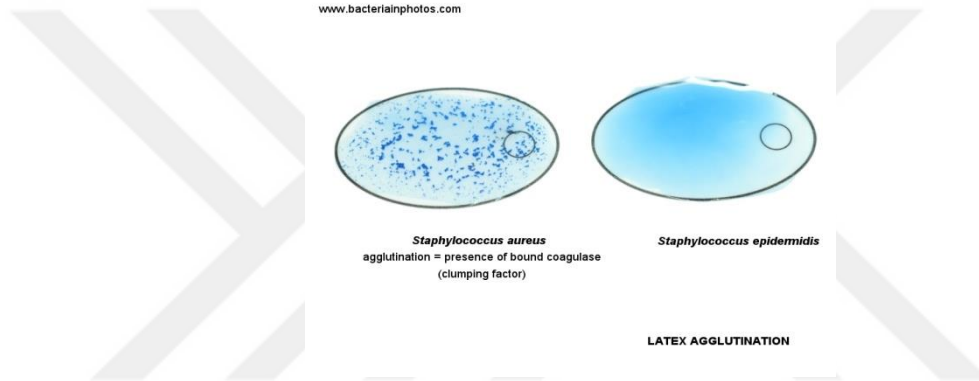
2.9.4. Koagülaz Testi

S.aureus'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yaygın kullanılan ve en güvenilir testtir (Allen ve ark., 2006). Tüp koagülaz ve lam koagülaz testi olmak üzere iki şekilde yapılabilir. Her iki test için etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'lı tavşan

plazması önerilmektedir; ancak insan plazması da kullanılabilir. Koagülaz pozitif olan örnekler *S.aureus* olarak değerlendirilirken, negatif örnekler KNS olarak adlandırılır (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004).

Lam Koagülaz

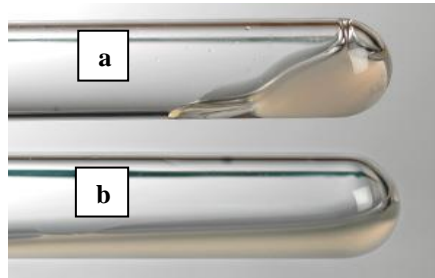
S.aureus'un birçok suşu hücre duvar yüzeyine bağlı koagülaz ya da "clumping faktöre" sahip olup plazmadaki fibrinojenle direkt reaksiyona girerek hızlı hücre aglütinasyonuna neden olur (Şekil 14). Besiyerinden öze ile alınan stafilokok kolonileri lam üzerinde bir damla distile su ile homojenize edilir ve üzerine bir damla plazma damlatılıp bir müddet karıştırılır. Gözle görülen kümeleşmeler pozitif olarak değerlendirilir (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004).



Şekil 14. Stafilokoklarda koagülaz testi (URL-6)

Tüp Koagülaz

Stafilokokların salgıladıkları serbest koagülaz araştırılır. Bu madde plazmada bulunan CRF (coagulase reacting factor) ile ilişki kurar ve fibrinojeni fibrine dönüştürerek pıhtılaşmaya yol açar (Şekil 15). Tavşan veya insan plazması kullanılabilir. Kültür ve plazma karışımı hazırlanır ve tüp 37°C'de inkübasyona bırakılır. Pıhtılaşma olup olmadığı 1., 3., 6. ve 24. saatlerde gözlemlenir. Pıhtının oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilir (Allen ve ark., 2006; Tünger, 2004). Stafilokokların tanımlanmasında kullanılan yöntem ve kriterler Tablo 2.'deki gibidir.



Şekil 15. Tüp koagülaz testi a) koagülaz (+) ve b) koagülaz (-) örneklerin görünümü (URL-15)

Tablo 2. Stafilokokların tanımlanmasında kullanılan testler (Allen ve ark., 2006)

	<i>S. aureus</i>	KNS
Tüp koagülaz	+	-
Lam koagülaz	+	-/+
DNase	+	(-)
Hemolizinler	+	-/+
Katalaz	+	+
Oksidaz	-	-
Alkale fosfataz	+	-/d
Prolidoniz arilamidaz	-	-/d
Ornitin dekarboksilaz	-	-/d
Üreaz	D	-/d
Beta galaktosidaz	-	-/d
Asetoin üretimi	+	+/d
Novobiyosin direnci	-	(-)
Polimiksin B direnci	+	+/-
Mannitolden asit oluşumu	+	-/d

+: pozitif, -: negatif, d: değişken, (-): büyük çoğunluğu negatif

DNase Testi

S.aureus endonükleolitik ve ekzonükleolitik aktivitelere sahip hem DNase hem de termostabil nükleaz üretir (Allen ve ark., 2006).

Glikoz Fermantasyonu

Glikoz fermantasyon testi nonfermentatif gram negatif basiller için olan oksidasyon-fermentasyon testine benzer biçimde uygulanır (Allen ve ark., 2006). *Staphylococcus* cinsi fermentatif etki gösterir (Allen ve ark., 2006).

Eritromisin Varlığında Gliserolden Asit Üretimi:

Stafilokoklar asit üretirken mikrokoklar asit üretmezler (Allen ve ark., 2006).

Lizostafine Duyarlılık

Lizostafin, stafilokok hücre duvarında bulunan peptidoglikanın glisinden zengin pentapeptit çapraz bağlarını ayıran bir endopeptidazdır. Bu etki hücreyi ozmotik lizise duyarlı hale getirir (Allen ve ark., 2006).

Furazolidona Duyarlılık

Mikrokoklar furazolidona dirençlidir ve 6-9 mm arası zon değeri gösterirken stafilokoklar furazolidon tarafından inhibe edilir ve 15mm ya da daha fazla zon gösterir (Allen ve ark., 2006)

2.9.5. *Micrococcus* Türlerinin *Staphylococcus* Türlerinden Ayrılması

Katalaz pozitif, gram pozitif kok grubundan olan mikrokok ve stafilokokları ayırmak için Tablo 3.'deki testler uygulanabilir.

Tablo 3. Mikrokok ve Stafilokokların ayırımında kullanılan testler (Allen ve ark., 2006)

	Mikrokok	Stafilokok
Üreme hızı	Çok yavaş	Yavaş-hızlı
Lizostafin	R	S
Furazolidon (100 µg) disk	R	S
Basitrasin (0.04 U) disk	S	R
Eritromisin (0.4 µg/mL) varlığında gliserolden asit oluşturma	-	+
Anaerobik şartlarda glukozdan asit oluşturma	-	+
Modifiye oksidaz testi	+	-

R: Dirençli, S: Duyarlı, +: Pozitif, -: Negatif

Modifiye Oksidaz Testi

Dimetil sülfoksit içinde tetrametil-p fenilendiamin dihidroklorid eriyiği emdirilmiş filtre kağıtları kullanılır. Besiyerinden alınan koloni diskin üzerine sürtüldüğünde 30 saniye içinde mavi-mor renk oluşumu testin pozitif olduğunu gösterir. Oksidaz negatif suşlar stafilokok olarak kabul edilir.

Basitrasin Duyarlılık Testi

Stafilokoklar disk difüzyon yönteminde basitrasine (0,04U) dirençlidirler. Mikrokoklar duyarlıdır ve ≥ 10 mm zon oluştururlar.

Mannitol Fermantasyonu

S.aureus, *S.epidermidis* ve diğer KNS türlerin tersine mannitolü fermente edebilir (Allen ve ark., 2006).

2.10. Tedavi

Stafilokoklarda antibiyotiklere karşı gelişen hızlı dirençten dolayı, uygun antibiyotiğin seçimi için antibiyotik duyarlılık testleri yapılmalıdır. Direnç gelişimi daha çok *S.aureus* suşlarında görülmektedir. *S.aureus*'un neden olduğu bakteriyemi, pnömoni, endokardit ve osteomyelit gibi ağır seyirli enfeksiyonlarda yüksek dozlarda ve uzun süreli antibiyotik uygulanması gerekmekte ve buna bağlı olarak direnç gelişmektedir (Cengiz, 1999; Gülay, 2008). Metisiline dirençli stafilokoklara karşı en etkili antibiyotik vankomisindir (Ustaçelebi, 1999).

2.10.1. Stafilokok Enfeksiyonlarında Kullanılan Başlıca Antibiyotikler Beta Laktamaz İnhibitörlü Kombine Penisilinler

Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam ile ampisilin, amoksisilin, tikarsilin, piperasilin gibi penisilin türevlerinin kombinasyonundan oluşan ve beta-laktamaz salgılayan bakterileri etkileyen antibiyotiklerdir (Ayaz, 2008).

Sefalosporinler

Etki mekanizmalarını bakteri hücre duvarı sentezinde rol oynayan PBP'lere bağlanarak inhibisyon yoluyla gösterirler. Sefalosporin direnci sıklıkla PBP'lerde değişiklik sonucu gelişir. Yapılarına ve antimikrobiyal etkinliklerine göre dört kuşak altında toplanırlar. Birinci kuşak sefalosporinler, metisiline duyarlı stafilokoklara (MSS) en etkili gruptur. Ancak hiç bir sefalosporin kuşağının MRSA üzerine etkinliği yoktur (Gür, 2008; Leblebicioğlu, 2003).

Karbapenemler

Karbapenemlerin iki üyesi; imipenem ve meropenemdir. Beta-laktam antibiyotikler içinde en geniş spektruma sahiptirler. Karbapenemlerin gram pozitif aerob bakterilere etkileri oldukça fazladır.

Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, gram pozitif kokların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde beta laktam antibiyotikler ve vankomisin gibi diğer bazı antibiyotiklerle sinerjik etkilerinden yararlanmak amacıyla kombine tedavide kullanılırlar. Stafilokoklara en etkili aminoglikozidler; amikasin ve netilmisindir (Topçu, 2002).

Makrolidler

Makrolidler bakterilerde protein sentezini geri dönüşümlü olarak inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler. Metisiline dirençli *S.aureus* suşları genellikle eritromisine dirençlidir. Stafilokoklarda eritromisin etkinliğinin en az iki katı oranında klaritromisin ve azitromisin etkinliği söz konusudur (Aydın, 2007).

Trimetoprim-Sülfametoksazol

Sülfonamidler, paraaminobenzoik asit analogları olup bu metabolik yolda dihidropteroat sentaz enzimini, trimetoprim ise dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek bakterilerde tetrahidrofolik asit sentezini engeller. Yaygın ve uygunsuz kullanımı sonucu son yıllarda bu kombinasyona karşı birçok bakteride direnç gelişmiştir (Topçu, 2002).

Kinolonlar

Kinolonlar nalidiksik asit türevleridirler. DNA sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Hedefleri DNA-giraz ve topoizomeraZIV enzimleridir. Kinolonlar DNA enzim kompleksine bağlanarak süpersarmal oluşumunu engelleyerek hücre ölümüne neden olurlar. Siprofloksasin ve ofloksasinin klinik kullanıma girdiği ilk yıllarda *S.aureus*'a karşı çok iyi etkinlik gözlenmiş ancak kısa sürede direnç gelişmiştir. Levofloksasin gram pozitif ve atipik etkenlere karşı etkinliği artırılmış bir antibiyotiktir ve metisilin dirençli kökenlere de etkili olabilir (Rice ve ark., 2003).

Linkozamidler

Linkozamid iki üyeden oluşmaktadır, linkomisin ve klindamisin. Ribozomun 50S subunitine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Antibakteriyel spektrumları gram pozitif mikroorganizmalar ve anaerob mikroorganizmalarla sınırlıdır. Klindamisin genellikle metisiline duyarlı *S.aureus*'a karşı etkili ancak metisiline dirençli suşlara karşı etkili değildir (Rice ve ark., 2003).

Kloramfenikol

Ribozomun 50S subunitine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Direnç mekanizması plazmid kontrolünde sentezlenen ve hücre içi bir enzim olan kloramfenikol asetil transferaz enzim aktivitesidir (Rice ve ark., 2003).

Tetrasiklin

Tetrasiklinler, bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler. Vücuttaki bakteri hücrelerini seçici olarak etkilerler. Bunun nedeni aktif transport mekanizmasının insan hücrelerinde bulunmamasıdır. Protein sentezini inhibe ederek etki gösteren antibiyotikler arasında en az seçicilik gösteren ilaçlardır. Stafilokoklar tet (K), tet (L), tet (M) olmak üzere üç direnç genine sahiptir (Kayaalp, 1998).

Rifampisin

Deoksiribo nükleik asit (DNA)'e bağımlı ribonükleik asit (RNA) polimeraz aktivitesini engelleyen, bakterisidal bir ilaçtır. Yüksek intraselüler düzeylere ulaşır ve biyofilme penetre olabilirler. RNA polimeraz enzimini kodlayan rpoB gen bölgesinde oluşan mutasyonlar rifampisin direncine yol açar (Rice ve ark., 2003).

Fusidik Asit

Bakterinin protein sentezini ribozomlara bağlanmadan inhibe eden bir antibiyotiktir. Etki mekanizmasının özgülüğü nedeniyle beta-laktam antibiyotiklerle arasında çapraz direnç olmadığı bildirilmektedir. Fusidik asit çeşitli dokulara iyi yayılması, toksisitesinin ve alerjik reaksiyonlarının az olması nedeniyle hem sistemik hem de topikal metisilin dirençli stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde önerilen bir ilaçtır (Yiğit ve ark., 2008).

Streptograminler

Streptograminler bakterilerde ribozomların 50S subunitine birbirlerine yakın yerlerden ve geri dönüşümsüz olarak bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Kinopristin/dalfopristin; iki farklı streptogramin bileşiğinin sinerjik etki gösteren semisentetik bir kombinasyonudur. Tek başına sınırlı bir antibakteriyel etkiye sahip bu bileşikler birlikte sinerjistik etki oluşturmaları nedeniyle iyi bir antibakteriyel etkinlik gösterirler. Dar spektrumlu bir antibiyotik kombinasyonudur. Metisiline duyarlı ve dirençli stafilocok suşlarına etkilidirler (Ulusoy, 2004).

Oksazolidinonlar

Etki mekanizması kendine özgü olup bakteriyel ribozomda 50S subunitinin 23S kısmına bağlanır. 70S başlatıcı kompleksin oluşumunu inhibe eder ve protein sentezini engellerler. Bu özgülük nedeniyle diğer antibiyotiklerle çapraz direnç göstermezler. Metisiline duyarlı ve dirençli stafilocok suşlarına etkilidirler (Mülazımoğlu, 2001).

Mupirosin

Primer ve sekonder deri enfeksiyonlarında etken olan stafilocoklara mükemmel in-vitro etkinlik gösterir. İzölsil-tRNA sentetazı inhibe ederek protein sentezini engeller. Metisiline dirençli stafilocokların büyük bir kısmı mupirosine duyarlı olmakla birlikte çoklu antibiyotik dirençli *S.aureus* suşları daha az duyarlıdır (Mülazımoğlu, 2001).

Glikopeptitler

Bu grup antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin, ristosetin, avoparsin) gram pozitif bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidlerin terminal D-Ala-D-Ala dizisine bağlanarak transglikozilasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe ederler. Çoğalmakta olan bakteriler üzerinde bakterisidal etki gösterirler. Glikopeptidler

metisiline duyarlı ve dirençli stafilokok suşlarına in vitro olarak çok etkilidir (Rice ve ark., 2003; Çetinkaya ve Ünal, 1997).

Penisilinaza dirençli penisilinler

Metisilin, nafsilin ve izoksazolil penisilinler (kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin ve oksasilin) bu grupta bulunmaktadır. Bu antibiyotikler beta-laktamazların hidrolizine karşı dirençlidirler. Etkinlikleri stafilokok enfeksiyonları ile sınırlı olduğundan dolayı bu antibiyotiklere “antistafilokokal penisilinler” de denilmektedir. Stafilokoklarda metisilin direnci, beta-laktamlara genel direnci ifade etmektedir. Bu nedenle metisiline dirençli stafilokokların etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde beta-laktam antibiyotikler önerilmemektedir (Ayaz, 2008).

2.10.2. Stafilokoklarda Antibiyotik Direnci

Hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olan *S.aureus*'un antibiyotiklere hızla uyum sağlama yeteneği dikkat çekicidir. Özellikle MRSA'nın, tüm beta-laktam antibiyotiklere intrensek direnci ve ayrıca diğer antibiyotiklere de direnç geliştirme eğilimi vardır.

Stafilokoklarda Penisilin Direnci

Penisilin G, 1940'lı yıllarda stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde başarı ile kullanılmış fakat kısa bir süre sonra penisilin G'ye dirençli suşlar izole edilmeye başlanmıştır (Ekşi ve ark., 2007). Stafilokoklardaki bu direncin nedeni penisilini parçalayan enzim (penisilinaz) üretimidir. Penisilinaz, ekstrakromozomal bir DNA parçası ya da plazmid tarafından kodlanan ve penisilin varlığında üretilen, yani indüklenebilen bir enzimdir. Penisilinaz veya daha geniş anlamda beta-laktamaz adı verilen bu enzim penisilini ve benzer antibiyotikleri, bakteriye zarar vermesine fırsat bırakmadan kimyasal olarak inaktive etmektedir. Stafilokoklarda tanımlanan beta-laktamaz; blaZ geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gen bölgesinin ekspresyonu blaR1, blaR2 (regulator) ve blaI (inhibitor) gibi düzenleyici genler ile sağlanmaktadır. İnhibisyondan sorumlu blaI geni ortamda beta laktam antibiyotik yokluğunda blaZ ve blaR gen bölgelerinin çalışmasını baskılar ve düşük seviyede beta-laktamaz üretimine sebep olur. Ortamda beta-laktam antibiyotik varlığında ise blaR1 tarafından blaZ geni uyarılarak yüksek miktarda beta-laktamaz üretimi sağlanır (Sabbath, 1982).

Metisilin Direnci

İlk olarak 1960 yılında metisilin, daha sonra da stafilokoklar tarafından üretilen penisilini parçalayan enzimlere (penisilinaz) dayanıklı penisilin türleri geliştirilmiştir. Ancak iki yıl gibi kısa bir süre sonra stafilokoklarda metisilin direnci saptanmıştır (Ekşi ve ark., 2007). Antibiyotik direnci olmayan bir stafilokokta; PBP1, PBP2, PBP3 ve PBP4 olarak adlandırılan başlıca dört farklı PBP bulunmaktadır (Hartman ve Tomasz, 1984). Metisiline dirençli suşlarda ise penisilin direncinden sorumlu olan ve beta laktamlara düşük afinite gösteren, PBP2 ya da PBP2a olarak adlandırılan farklı bir PBP bulunmaktadır. PBP2a, *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gen indüklenebilir özellikte ve transdüksiyon ile dirençli suşlardan duyarlı suşlara aktarılabilir. Son zamanlarda *mecA* gen homoloğu olan *mecALGA251*'inde metisilin direncinden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Nükleotid dizilerine göre kıyaslandığında *mecA* ve *mecALGA251* %70 oranında benzerlik göstermektedir. *mecALGA251* ilk olarak 22 sığırdan elde edilen *S.aureus* suşlarında saptanmış ve yalnızca hayvanlarda bulunduğu kabul edilmiştir. Ancak yapılan son çalışmalarda *mecALGA251*'in insanlarda da metisilin direncinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Pichon ve ark., 2012).

Metisiline Direnç Mekanizması

Kromozomal (İntrinsik) Metisilin Direnci

En sık karşımıza çıkan mekanizmadır. Metisilin direncinden sorumlu *mecA* genini taşıyan plazmid ve transpozonların bulunduğu gen kaseti, bakteri kromozomuna entegre olmaktadır. *mecA* geninin etkisi ile MRSA suşlarında PBP2' ya da PBP2a denilen yeni bir PBP sentezlenmektedir. PBP2a 78 kDa ağırlığında olup beta-laktam antibiyotiklere karşı PBP'den daha düşük afinite göstermektedir. Buna bağlı olarak beta-laktam antibiyotikler PBP2a'ya bağlanmamakta, böylece bakteri hücre duvarı için gerekli olan peptidoglikan sentezi devam etmektedir (Ulusoy, 2004). Stafilokoklarda PBP2a sentezinin düzenlenmesinde *mecR1* ve *mecI* adı verilen iki düzenleyici gen önemli rol oynamaktadır. Bu genler *mecA* gen transkripsiyonunu düzenlemektedir. *mecR1* membrana bağlı bir sinyal taşıyıcı protein olan *mecR1*'i kodlarken *mecI* transkripsiyonel düzenleyici bir protein olan *mecI*'yi kodlar. *mecR1* ve *mecI* proteinleri, beta-laktamaz üretiminin düzenleyici proteinleri olan BlaR1 ve BlaI proteinleri ile büyük oranda benzerlik gösterirler. BlaR1 ve BlaI proteinleri plazmid ilişkili beta-laktamaz üretiminden sorumlu bir gen olan blaZ gen sisteminin düzenleyici proteinleri

olup BlaR1 ve BlaI genleri tarafından kodlanmaktadır. BlaR1 ve BlaI proteinlerini kodlayan genlerin düzenlenmesi *mecA* sistemi ile yüksek oranda dizi benzerliği gösterir. Bu durum *mecA* sisteminin düzenleyici genlerinin *blaZ* gen sisteminden geliştiğini düşündürmektedir. Operatör bölgelerin benzerliği dolayısıyla BlaI proteini, PBP2a üretimini etkileyebilmektedir (Ulusoy, 2004). Bu nedenle *blaZ* geni, BlaR1 ve BlaI proteinleri kontrolünde PBP2a üretimini indükleyebilmektedir. Bu durum bir çok klinik MRSA suşunda görülmektedir (Gregory ve ark., 1997). Beta-laktamaz üretimi indüklenebilir özellikte olabilmekte iken, PBP2a sentezi normal regülatör genlerin varlığında indüklenebilir değildir; ancak bazı suşlarda yüksek metisilin konsantrasyonlarında PBP2a sentezi bir miktar indüklenebilmektedir (Ulusoy, 2004). Bunun nedeni *mecI* proteininin *mecA* geni üzerine olan baskılayıcı etkisinin, BlaI proteinin 23 *blaZ* geni üzerine olan baskılayıcı etkisinden daha güçlü olmasıdır. Bunun bir sonucu olarak; *mecA* geni taşıyor olsa da *mecI* ve *mecR1* regülatör bölgeleri sağlam olan suşlar, *mecI*'nin *mecA* üzerindeki baskılayıcı gen işlevini etkili olarak yapabilmesinden dolayı fenotipik olarak metisiline duyarlıdır. Bu MRSA izolatları pre-MRSA olarak adlandırılırlar (Kuwahara-Arai ve ark., 1996). Kromozomal metisilin direnci fenotipik olarak üç şekilde ortaya çıkmaktadır;

Homojen Direnç

Koloniye oluşturan bakteriler *mecA* genini taşırlar ve hepsinde bu gen eksprese olmuştur. Yüksek düzeyde dirence neden olmaktadır. Homojen direnç; ortamın pH'sı, ısı, tuz konsantrasyonu, inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerden etkilenmez (Ünal, 1996).

Heterojen Direnç

mecA geni taşıyıp metisiline dirençli olduğu halde fenotipik olarak metisiline duyarlı görünen bakterilerin neden olduğu direnç türüdür. Stafilokoklarda metisilin heterojen direnci, homojen dirençten daha sık görülmekte ve saptanması daha güç olmaktadır. Bu direncin nedeninin *mecA* dışındaki düzenleyici genetik elemanların mutasyonu olabileceği düşünülmektedir. Hem genotipik özellikler hem de çevre şartları ile çok değişken olarak ortaya çıkan heterojen direnç nedeniyle dirençli bakteri fenotipik olarak duyarlı bulunabilmekte ve tedavinin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olabilmektedir (Salmenlinna, 2002).

Eagle-Tip Direnç

Suşlar düşük metisilin konsantrasyonlarında metisiline duyarlı iken, yüksek konsantrasyonlarda dirençlidirler. Bu tip direncin, sağlam *mecA* regülatör genlerinin yüksek metisilin konsantrasyonlarında PBP2a sentezini indüklemeleri sonucu olduğu düşünülmektedir (Ünal, 1996).

MRSA'larda *mecA* geninin ekspresyonunu etkileyen, fenotipi belirleyen en az 3 regülasyon mekanizması vardır;

1- PBP2a oluşumunun bakteride hem *mecA* geni hem de beta-laktamaz plazmidi varsa, beta-laktamlar tarafından indüklendiği gözlemine dayanmaktadır. Bu nedenle beta-laktamaz geninin benzer olduğu düşünülmektedir.

2- *mecA* geni kontrolü ile PBP2a geninin içindeki bir kısmın PBP2a yapımını regüle ettiği ve bunun da fenotipi etkilediği düşünülmektedir.

3- *mecA* dışında bir yerde lokalize olan *femA* geni tarafından ekspresyonun belirlendiğidir (Ünal, 1996).

Borderline Metisilin Direnci

Buna kazanılmış metisilin direnci de denmektedir. *S.aureus*'lardaki borderline metisilin direnci bakterinin aşırı beta-laktamaz salgılamasıyla ortaya çıkmaktadır. β -laktamaz enzimi salgılanması esas olarak penisilin direncine neden olur, metisilin bu enzime dayanıklıdır. Ancak Tornsberry ve arkadaşları *S.aureus*'larda metisiline direnç gelişiminde bir diğer mekanizma olarak aşırı beta-laktamaz üretimini göstermişlerdir. Bu suşlar metisiline sınırda direnç gösterdikleri için bunlara borderline resistant *S.aureus* (BORSA) denilmiştir (McDougal ve Thornsberry, 1986). BORSA suşları PBP2a oluşturmamaları ve direnç kontrolünün plazmide bağımlı olmasıyla MRSA'lardan farklıdır.

Intermediate Metisilin Direnci

Stafilokoklarda modifiye PBP'lere bağlı metisiline duyarlılık azalmasıdır. Bu tip dirençli suşlara modified resistant *S.aureus* (MODSA) denmektedir (Durupınar, 2001). MODSA suşları normal yapıda PBP1 ve PBP2 içerirler ancak bu PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere affinitesi düşüktür. Ayrıca MODSA suşlarında normalden fazla PBP4 vardır (Willke, 1992). Son yıllarda beta-laktamaz negatif olup, *mecA* geni taşımadıkları halde, metisiline dirençli kökenler saptanmıştır.

2.10.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

İzolatları antibiyotik duyarlılık benzerliklerine göre gruplandırmak ve direnç gelişimini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Tiplendirme için antibiyogram sonuçlarının diğer yöntemlerle ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bazen benzer olmayan suşlar aynı antibiyogram profilini gösterirken, bazen de enfeksiyon atakları sırasında duyarlılık profilleri değişmektedir. Antimikrobik ajanın etken mikroorganizma üzerinde in vitro aktivitesi tedavide göz önüne alınması gereken faktörlerden biridir. Bir antibiyotığın antimikrobik aktivitesinin saptanması için uygulanan in vitro işlemlere genel olarak duyarlılık testleri adı verilmektedir. Duyarlılık testleri, klinik açıdan önemli, hızlı üreyen aerop ve fakültatif anaerop bakterilerin tedavide uygulanacak antibakteriyel ajana duyarlılığının öngörülemediği durumlarda yapılır. Başka bir deyişle, mikroorganizmanın sağaltımında ilk seçenek olan antibiyotiğe duyarlılığı biliniyorsa test uygulanmamaktadır. Örneğin *S.pyogenes* suşlarının tümü penisiline duyarlı olduğu için, bu antibiyotiğe karşı duyarlılığın in vitro testlerle değerlendirilmesine gerek yoktur. Ancak, aşırı duyarlılık gibi bir nedenle penisilin kullanılamıyorsa, direnç bulunabilmesi nedeniyle ikinci seçenek olan eritromisine karşı duyarlılığın saptanması uygun olur. Genellikle MİK, E-test, breakpoint ve disk difüzyon zon değerleri kullanılmaktadır (Jorgensen, 1997; Gülay 1999).

MİK Testi

Seyreltme yöntemlerinde standart sayıda bakteri topluluğu (inokulum), iki kat dilüsyonlar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobik ajan ile karşılaştırılır. İnkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu saptanır. Buna MİK denir ve (mg/L) şeklinde ifade edilir. MİK değerinin duyarlılığı yoksa direncimi temsil ettiğini belirlemek için, bulunan konsantrasyon duyarlılık sınırı adı verilen bir değer ile karşılaştırılır. MİK, bu sınırdan düşük ise mikroorganizma söz konusu ajana “duyarlı” olarak değerlendirilir. Bunun dışında “orta” ve “dirençli” kategorileri de saptanır. Duyarlılık sınırları, sağaltım sırasında ulaşılan serum ve doku düzeyleri ile duyarlılık özelliği kesin olarak bilinen bakterilerin MİK değerleri göz önüne alınarak belirlenmektedir. Her antimikrobik ajan için bakteri türüne göre de değişen ayrı bir sınır değer söz konusudur. Genel olarak sağaltımın başarısı için MİK değerinin serum düzeyine (Cmax) kıyasla 4-16 kez düşük

olması istenmektedir (Craig, 1998). Seyreltme temeline dayanan testler kantitatif sonuç verdiği için tercih edilmektedir. Sıvı besiyerindeki seyreltme yöntemleri, tüpte uygulanıyorsa makrodilüsyon (tüp), mikrodilüsyon plaklarında uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır (Jorgensen, 1997; CLSI, 2013).

Disk Difüzyon Yöntemi

Belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Böylelikle, diskteki antibiyotik agar içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek “duyarlı”, “orta” ve “dirençli” olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenir. Bu kategoriler ile ilgili sınır değerleri, her antimikrobik ajan için MİK ile korele edilerek ve erişilebilir serum düzeyleri göz önüne alınarak saptanır (Jorgensen, 1997; Gülay 1999; CLSI, 2013).

E-test

Difüzyon temeline dayanan ancak diskler yerine belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde antibiyotik içeren plastik striplerin kullanıldığı bir yöntemdir. İnkübasyon süresi sonunda, elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK olarak belirlenir. Bu yöntem özellikle *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* gibi güç üreyen bakteri türlerinin MİK değerlerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (CLSI, 2013; Jorgensen, 1997; Baker, 1991).

Enzim Üretimini Saptanması

H. influenzae, *Moraxella catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* gibi türlerde nitrosefin ile beta-laktamaz aktivitesinin saptanması ya da *H. influenzae* izolatlarında kloramfenikol asetil transferaz enzimi aktivitesinin biyokimyasal yöntemlerle gösterilmesi, antibiyotik direncinin klasik yöntemlere kıyasla daha hızlı saptanabilmesini sağlamaktadır (Jorgensen, 1997). Bakteriyostatik aktiviteyi gösteren testler dışında bakterisidal aktiviteyi gösteren testler de bulunmaktadır.

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının tekrarlanabilir olması, yani aynı koşullarda tekrarlandığında sonuçların aynı veya birbirine yakın olması gereklidir. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları birçok faktörden etkilenebilmektedir. Bu nedenle

testlerin uygun koşullarda yapılıp yapılmadığı kalite kontrol suşları ile denetlenir. Kalite kontrol suşları, sonuçlarının tekrarlanabilirliği %95'in üzerinde olan suşlardır. Bu suşlarla beklenen sonuçlar elde edilemezse antibiyotik duyarlılık testlerinin tekrarlanması gerekir (CLSI, 2013; Kaygusuz, 2000).

Bazı direnç mekanizmaları ise rutin duyarlılık testleri ile saptanamayabilir. Bunlar için özel ölçütler ve testler uygulanması gerekir. Örneğin, enterik bakterilerin 3. ve 4. kuşak sefalosporinler ve monobaktamlara dirençli olmasına yol açan Geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)'ler, özel duyarlılık kategorileri ve enzimin klavulanik asit ile inhibisyonuna dayanan özel yöntemlerle saptanabilir (Jorgensen ve Ferraro, 2000; Tenover ve ark., 1999;).

2.10.4. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçlarının Yorumlanması

Yeni antibakteriyellerin ve bunlara karşı direnç oranlarının gelişimine paralel olarak son 10 yıl içerisinde bakterilerin direnç mekanizmaları ile ilgili bilgilerin de çok arttığı görülmektedir. Direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, standart antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlanmasına ve dolayısıyla akılcı tedavi seçimine katkıda bulunmaktadır. Sürekli yeni antibiyotikler geliştirilmesine rağmen, genel olarak, bir antibiyotik ailesindeki üyelerden birine karşı duyarlılık veya direnç bulunması, diğerleri ile ilgili yorum yapılabilmesini sağlamaktadır. Örneğin, başta streptokoklar olmak üzere gram pozitif koklarda eritromisin direnci, klaritromisin, azitromisin gibi yeni makrolidlere karşı da direnç bulunduğunu göstermektedir (Courvalin, 1996). Benzer şekilde antibiyotiğin hedefini değiştiren bir direnç mekanizması yapı olarak farklı, ancak aynı hedefe etkili tüm antibiyotiklere direnç gelişimine neden olmaktadır. Yine gram pozitif koklarda eritromisin ve klindamisin direncinin birlikte saptanması, rRNA'daki hedef bölgesinin metilasyonunu ve bunun sonucunda, yapı olarak makrolidlerle ilişkisiz, ancak aynı hedefe etkili linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı da direnç varlığını göstermektedir (Seppala ve ark.,1998).

Duyarlılık test sonuçları mutlaka identifikasyon sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir. Bazı bakteri türleri genetik özellikleri açısından bir antibiyotiğin hedefi olan yapıyı hiç içermediği ya da antibiyotiğin hedefe ulaşmasını engelleyecek bir yapıyı veya antibiyotiği inaktive edecek enzimleri taşıdığı için o antibiyotiğe dirençlidir. Buna doğal direnç adı verilmektedir (Gülay, 1999). Örneğin, stafilokokların hücre duvar sentezinde görevli enzimleri (PBP) aztreonamı bağlamadığı için, stafilokoklar bu

antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Aminoglikozidlerin hücre içine alınması oksijene bağımlı aktif transport sistemi aracılığıyla olduğu için bu antibiyotikler anaerob bakterilere karşı etkisizdir (Gülay;1999).

Bakterilerin doğal direnç özelliklerinin bilinmesi, laboratuvarında karşılaşılan değişik bir direnç fenotipinin teknik bir hatadan mı yoksa yeni bir direnç mekanizmasından mı kaynaklandığını anlamamızı sağlar (Jorgensen, 1997; Courvalin, 1996).

2.10.5. CLSI ve EUCAST Önerileri

Ülkemiz Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında yaygın olarak Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-EUCAST) önerileri uygulanmaktadır (CLSI, 2013; EUCAST, 2014).

2.10.6. Gram Pozitif Bakterilerin Duyarlılık Testleri İçin Antibiyotik Seçimi

Tedavide kullanılacak antibakteriyel ajanların sayısının her geçen gün artması, rutin duyarlılık testleri için denenecek antibiyotikler arasında bir seçim yapılmasını gerekli kılmıştır. Bu seçimde, klinik etkinliğinin kanıtlanmış olması, teste uygulanabilir formunun bulunması, rutin test ve saklama koşullarında dayanıklılık, değerlendirme ölçütlerinin ve alınan sonuçların aynı aileden diğer ajanlara uygulanabilirliğinin bilinmesi gibi antibakteriyel ajana ait özelliklerin yanı sıra, hastanın yaşı, infeksiyon bölgesi, hastane formülleri gibi bilgiler etkili olmaktadır (Arman, 2008). CLSI listelerinde etki spektrumları açısından eşdeğer ajanlar “veya” bağlacı ile genellikle aynı bölümde yer alır. Bu şekilde belirtilen ajanlar için duyarlılık test sonuçları ortak değerlendirilmelidir. Sonuçlar duyarlı (S), orta düzeyde (intermediate; I) veya dirençli (R) olarak belirtilir. Duyarlı kategorisi, başka bir kontrendikasyon yoksa belirtilen etkene bağlı olan infeksiyonun denenen ilacın uygun dozları ile tedavi edilebileceğini gösterir. I kategorisi, MİK değerlerinin ilacın doku veya kan düzeylerine yakın olduğunu belirtir. Bu tip ilaçlar fizyolojik olarak konsantre edildikleri vücut bölgelerindeki infeksiyonların tedavisinde kullanılabilir (ör., kinolonlar ve beta-laktamlar için idrar yolu infeksiyonlarında olduğu gibi). R kategorisi ise, bu izolatların ilacın normal sistemik düzeyleri ile inhibe edilemeyeceğini gösterir (CLSI, 2013).

2.10.7. *S.aureus* ve KNS'larda Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Yorumu *S.aureus* İçin Disk Difüzyon ve Dilüsyon Testleri

1880'li yıllarda bir yara akıntısından izole edildiğinden beri önemli bir insan patojeni olarak bilinen *S.aureus*, içerdiği virulans faktörleri nedeniyle, tüm organ sistemlerinde enfeksiyona neden olabilmektedir (Archer,1998). Bu mikroorganizmanın nozokomiyal patojenler arasında da ön sıralarda bulunması ve antibakteriyel ajanlara direnç özelliğinin giderek artması, hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Günümüzde *S.aureus* suşlarındaki direnç sorununun odağını metisilin direnci oluşturmaktadır (CLSI, 2013; Bassetti ve ark., 2000; Moellering, 1998; Henze ve Berger-Bachi, 1996).

Metisilin, nafsilin, oksasilin gibi penisilinazlara dirençli penisilinlere duyarlılığı azalmış olan *S.aureus* suşları 3 gruba ayrılır (Hackbarth ve ark.,1995; Song ve ark.,1987).

a. MRSA: *mecA* genince kodlanan yeni ve düşük afiniteli bir penisilin bağlayan protein (PBP2a) yapan suşlar,

b. PBP'lerinde nokta mutasyonu veya aşırı üretim gibi bir değişiklik olan suşlar,

c. Aşırı beta-laktamaz üretimi sonucunda metisilin duyarlılığı sınırda olan suşlar (Borderline methicilline susceptible (BSSA) veya BORSA).

CLSI önerilerine göre stafilokok suşlarının penisilin ve oksasilin (metisilin) duyarlılıklarının saptanması ile tüm beta-laktam ajanlar için yorum yapılabilmesi sağlanmaktadır. Bu nedenle bunlar dışındaki beta-laktam ajanların duyarlılık testlerinde yer almasına gerek yoktur.

1. Eğer izolat penisiline duyarlı ise, tüm penisilin türevleri, sefemler, karbapenemlere duyarlıdır.

2. İzolat penisiline dirençli, oksasiline duyarlı ise, beta-laktamaz varlığı düşünülür. Bu tip suşlar, penisilin G, ampisilin, amoksisilin, azlosilin, karbenisilin, mezlosilin, piperasilin ve tikarsiline dirençli, penisilinazlara dirençli penisilinler, beta-laktamaz inhibitör/beta-laktam kombinasyonları, sefemler ve karbapenemlere duyarlıdır. Nitrosefin hidrolizi gibi direkt beta-laktamaz testi uygulaması ile de beta-laktamaz üretimi ve yukarıda sayılan ajanlara direnç saptanabilir.

3. İzolat oksasiline dirençli ise tüm beta-laktam ajanlara dirençlidir. Bu tip suşlar, *in vitro* olarak sefemlere, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına, imipeneme duyarlı olarak görünebilir. Ancak bu ajanlarla klinik tedavi sonuçları başarısız olduğu için tüm beta-laktam ajanlara dirençli olarak rapor edilmelidir.

Disk difüzyonda direnç değerlendirilirken disk etrafındaki silik veya tek koloni şeklindeki üremeler de dikkate alınır. Test sonucu ‘orta düzeyde’ ise sadece *S.aureus* suşları için oksasilin-tuz agar tarama testi uygulanır. Bu test KNS için önerilmemektedir (CLSI, 2013). Metisiline dirençli suşların birçoğu diğer beta-laktamlar, aminoglikozidler, makrolidler, klindamisin, tetrasiklin gibi ajanlara da dirençlidir. Bu nedenle, stafilokoklarda çoğul dirençlilik saptanması metisilin direncini düşündürmelidir. *mecA* geni içermeyen, ancak oksasilin MİK değeri 2-8 mg/L olan suşlar BORSA olarak değerlendirilmektedir. BORSA suşlarının daha çok laboratuvar şartlarına bağlı olarak gözlenen bir fenotip olduğuna ilişkin bulgular mevcuttur ve bu fenotipin klinik tedavi açısından önemi de kesin değildir (Pettersson ve ark., 1999).

KNS’larda Duyarlılık Testleri

KNS’lar, özellikle yabancı cisimlerle ilişkili bakteriyemi etkeni olan geniş bir grubun ortak adıdır (Hackbarth ve ark., 1995). KNS türleri arasında *S.epidermidis*, *S.hominis*, *S.simulans*, *S.warneri*, *S.haemolyticus*’da da *mecA* geni varlığı bildirilmiştir. Bu türler için önerilen duyarlılık testleri *S.aureus* ile benzer olmakla birlikte, 1999 yılında metisilin direnci ile ilgili duyarlılık sınırları değiştirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Laboratuvarları Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümüne gönderilmiş çeşitli klinik örneklerden izole edilen 277 *S.aureus* izolatu kullanıldı. İzolatların tanımlanması Vitek2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ve konvansiyonel yöntemlerle yapıldı.

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kullanılan Besiyerleri

Kanlı Agar

Kanlı agar (Himedia; India) besiyerinden 40g/L konsantrasyonunda olacak şekilde distile suya eklendi. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Sterilizasyon işleminden sonra besiyeri 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra 50ml/L olacak şekilde defibrine koyun kanı ilave edilerek karıştırıldı. Son karışımdaki koyun kanı oranı %5 olarak elde edildi. Sonrasında her bir petriye 20ml besiyeri döküldü. Hazırlanan besiyeri plakları soğutulduktan sonra +4°C'de buzdolabında saklandı.

Mueller-Hinton Broth (MHB)

Mueller-Hinton Broth (Himedia; India) besiyerinden 21g/L konsantrasyonda olacak şekilde distile suya eklendi. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Hazırlanan besiyeri oda sıcaklığına geldikten sonra kullanılmaya kadar +4°C'de buzdolabında saklandı.

Brain Heart Infusion Broth (BHI)

37g toz Brain Heart Infusion Broth, 1L distile su içinde çözüldü, 150mL gliserol ilave edildi. 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Besiyeri soğuduktan sonra +4°C'de buzdolabında saklandı.

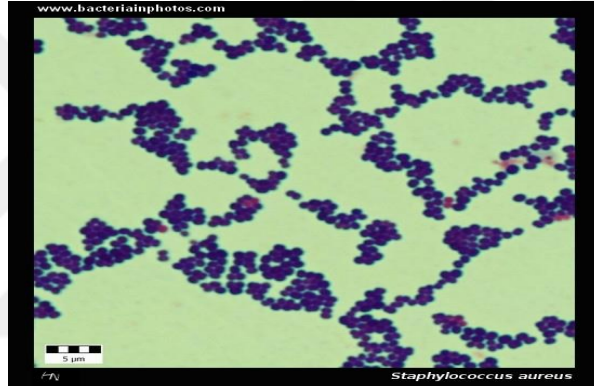
3.1.2. Bakteri İzolatları

Çalışmada toplam 277 *S.aureus* klinik izolatu test edildi. Bunlardan 118'i metisilin dirençli iken kalan 159'u ise metisiline duyarlıydı. Çalışmada kontrol olarak *S.aureus* ATCC29213 (metisiline duyarlı) ve ATCC43300 (metisiline dirençli) suşları kullanıldı.

3.2. METOT

3.2.1. *S.aureus* İzolatlarının Tanımlanması

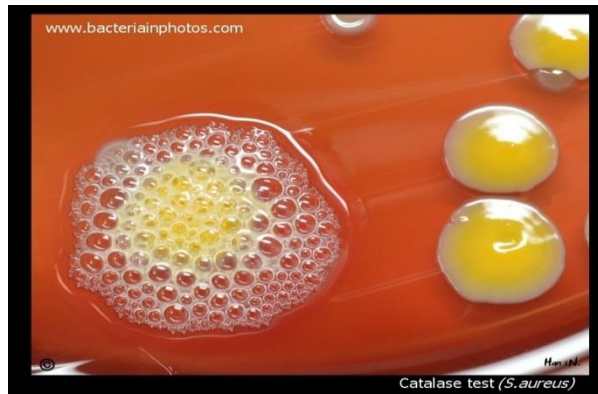
Laboratuvara gelen klinik örnekler %5 koyun kanlı agara ekildi. $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saatlik inkübasyondan sonra kanlı agarda üreyen koloniler koloni morfolojisi, pigment oluşumu, gram boyama (Şekil 16), katalaz ve koagülaz deneylerinin sonuçlarına göre *S.aureus* olarak tanımlandı. Tanımlamanın doğrulanması VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sisteminde yapıldı. Tür identifikasyonu doğrulanarak antibiyotik duyarlılık testleri çalışıldı. Duyarlılık testi sonucunda; oksasiline dirençli çıkan MRSA ve oksasiline duyarlı çıkan MSSA izolatları çalışmaya alındı. Çalışma sonrasında izolatlar, saklama besiyerine (BHI broth) alınarak -40°C 'de saklandı.



Şekil 16. *S.aureus*'un gram boyama yöntemi ile mikroskopik görünümü (M.B 10X100) (URL12)

Katalaz Testi:

Kültürlerde üreyen stafilocok şüpheli kolonilerin öncelikle gram boyası yapıldı. Gram pozitif kok olarak tespit edilen izolatlar temiz ve kuru bir lama yayılarak üzerlerine %3'lük H_2O_2 damlatıldı. Gaz kabarcığı oluşturan, katalaz pozitif bakteriler stafilocok olarak kabul edildi (Şekil 17).

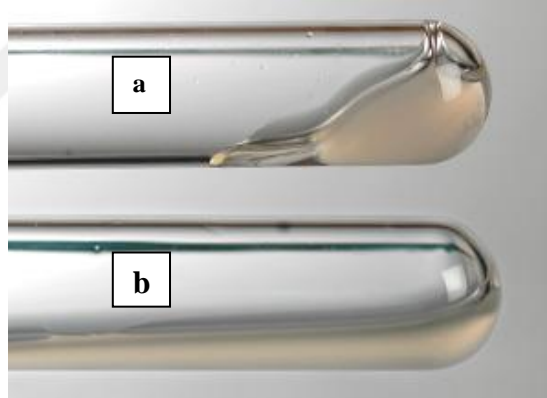


Şekil 17. Katalaz pozitif *S.aureus* (URL13)

Koagülaz Testi

Lam koagülaz testi; temiz bir lam üzerine iki farklı noktaya serum fizyolojik damlatıldı. Şüpheli kolonilerden öze ile alınarak serum fizyolojik içinde homojen süspansiyonlar hazırlandı. Birinin üzerine bir damla tavşan plazması (1:5 oranında sulandırılmış), diğerine bir damla serum fizyolojik damlatılarak, elde çevirme hareketleri ile karıştırıldı. Kontrol damlası homojen olup, plazmalı damlada 10-30 saniye içerisinde kümeleşme reaksiyonu gözlenen izolatlar, lam koagülaz pozitif olarak değerlendirildi.

Tüp koagülaz testi; tüpte koagülaz testi pozitifliği serbest koagülaz varlığını gösterir. Steril tüplere tavşan plazmasından (1:5 oranında sulandırılmış) 1ml aktarıldı. Şüpheli koloniler bu plazmada süspansiyon edilerek $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 4 saat inkübasyona bırakıldı. Her saat başında ve 4. saatin sonunda kontrol edilen tüplerde, plazmanın pıhtılaşığı izolatlar, koagülaz pozitif olarak değerlendirildi. Pıhtılaşmanın olmadığı tüpler oda sıcaklığına çıkartıldı ve 24. saatte tekrar değerlendirildi (Şekil 18). Pıhtı oluşturmayan bakteriler KNS olarak kabul edildi.



Şekil 18. Tüp koagülaz testi a) koagülaz (+) ve b) koagülaz (-) örneklerin görünümü (URL-15).

3.2.2. VITEK2 Compact Otomatize Sistem Testinin Uygulanması

VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem çalışması: katalaz ve plazma koagülaz test işlemlerinden sonra, izolatlar identifikasyon ve duyarlılık için rutin olarak kullanılan VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sisteminde değerlendirildi. Gram pozitif identifikasyon kartı GP (bioMérieux) ve Gram pozitif duyarlılık kartı AST (bioMérieux) kullanıldı. Referans suş olarak *S.aureus* ATCC29213 kullanıldı. Steril tuzlu sudan (%0.45-0.50 NaCl, pH 4.5-7.0) sistem için özel kullanılan şeffaf plastik deney tüpüne (12x75 mm) 3 ml konuldu. Tüpe öze ile saf koloniler aktarıldı ve McFarland 0,5 bulanıklıkta homojen bir süspansiyon hazırlandı.

Süspansiyon tüpü, GP ve AST kartı kasete yerleştirildi. Veri girişi ve kasetin cihaza yüklenmesi VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem kullanım talimatına uygun şekilde yapıldı. Çalışmada incelenen toplam 277 izolat mikrobank saklama tüpünde -40°C’de saklandı. Ayrıca VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem sonuçları ile tüp koagülaz testi sonuçları uyumlu bulundu.

3.2.3. Sıvı Mikrodilüsyon Testi İçin Sefoksitin İçeren Plakların Hazırlanması

Sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) steril bir kaba 40mg tartıldı ve 9,765ml steril distile su ile çözülerek 4096µg/ml’lik stok solüsyon hazırlandı. Filtrasyon ile sterilize edildi. Daha sonra steril endorff tüplere küçük miktarlarda bölünerek -40 °C’de saklandı. Test 96 kuyucuklu U-tabanlı plaklarda yapıldı. Mikrodilüsyon testi CLSI önerileri doğrultusunda yapıldı. Sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) sırası ile 32, 16, 8, 4, 2 ve 1 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan konsantrasyonları kullanıldı. Mikroplağın 1-B’den 12-B’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 32µg/ml, 1-C’den 12-C’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 16µg/ml, 1-D’den 12-D’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 8µg/ml, 1-E’den 12-E’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 4µg/ml, 1-F’den 12-F’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 2µg/ml, 1-G’den 12-G’ye kadar olan tüm kuyucuklarına 100µl 1µg/ml konsantrasyonundaki sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) içeren MHB ilave edildi. Son konsantrasyon 100µl bakteri inokülasyonundan sonra 16-0,5µg/ml olarak elde edildi. 1-A ile 12-A aralığı üreme kontrol kuyucuğu olarak ayrılırken 1-H ile 12-H aralığı ise sterilite kontrol kuyucuğu olarak ayrıldı. Eğer MİK değeri $\leq 4\mu\text{g/ml}$ ise duyarlı ve $\geq 8\mu\text{g/ml}$ ise dirençli olarak tanımlandı.

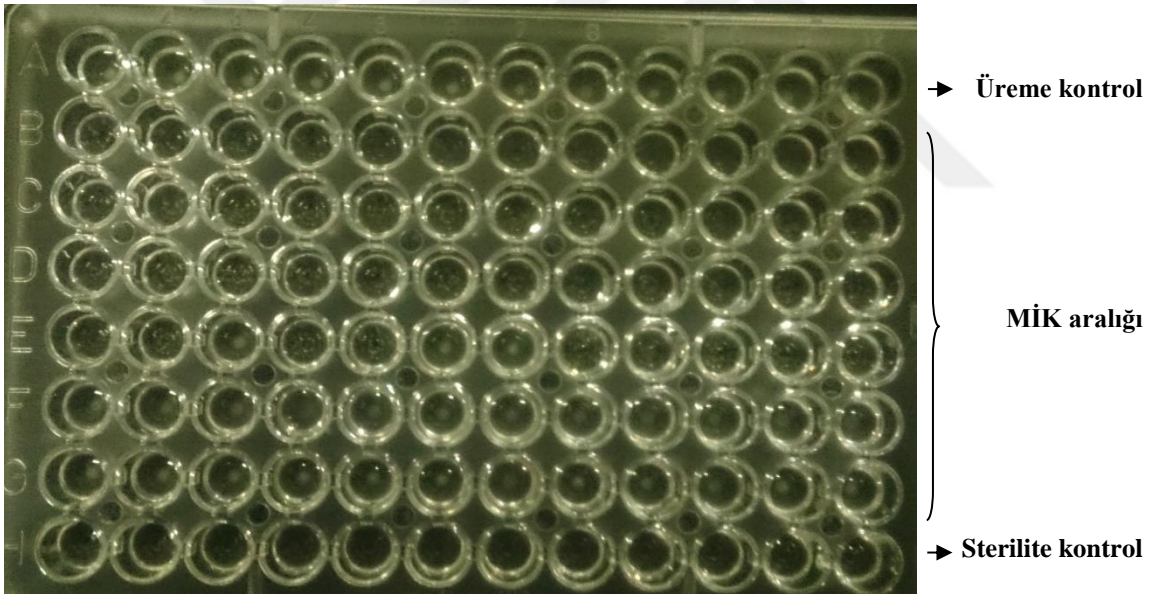
3.2.4. Bakteriyel İnokulum Hazırlanması

Bakteri inokülümleri kanlı agarda üremiş saflığı kontrol edilmiş taze bakteri kültüründen hazırlandı. Serum fizyolojik içinde McFarland 0,5 bulanıklığına ayarlanan bakteri inokülümleri sıvı mikrodilüsyon testi için kullanıldı. Serum fizyolojik içinde McFarland 1 bulanıklığına ayarlanan bakteri inokülümleri ise StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit çalışması için kullanıldı. İnokülümler hazırlandıktan sonra 15 dk içerisinde kullanılmasına dikkat edildi.

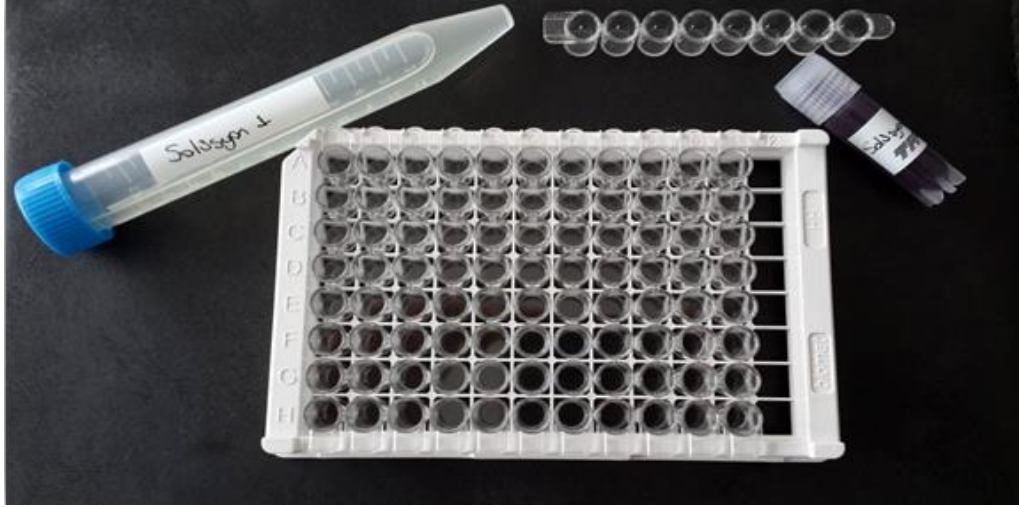
3.2.5. Sıvı Mikrodilüsyon Testinin Uygulanması

Kanlı agar besiyerinde bir gece bekletilip ve saflığı kontrol edilen kolonilerden McFarland 0,5 standardında hazırlanan bakteri 1:100 (990µl MHB 10µl bakteri) oranında dilüe edildi. Sterilite kontrol kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 100µl olacak şekilde inoküle edildi. Kalite kontrol suşları olarak *S.aureus* ATCC29213 (metisilin duyarlı) ve ATCC43300 (metisilin dirençli) kullanıldı. İnokulum standardize edildikten sonra 15 dk içinde mikropklara ekim yapılmasına dikkat edildi. Plaklar $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. Gözle görülebilen bir üremenin olmadığı, dolayısıyla üremenin inhibe olduğu en düşük sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) konsantrasyonu MİK değeri olarak raporlandı (Şekil 19). Bulunan MİK değerleri CLSI ve EUCAST'a göre değerlendirildi (Tablo 4).

S.aureus için sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) duyarlı ve dirençli MİK değerleri sırası ile $\leq 4\mu\text{g/ml}$ ve $\geq 8\mu\text{g/ml}$ olarak kabul edildi (CLSI, 2013, EUCAST, 2014).



Şekil 19. Sıvı mikrodilüsyon çalışması



Şekil 20. StaResMet® kiti

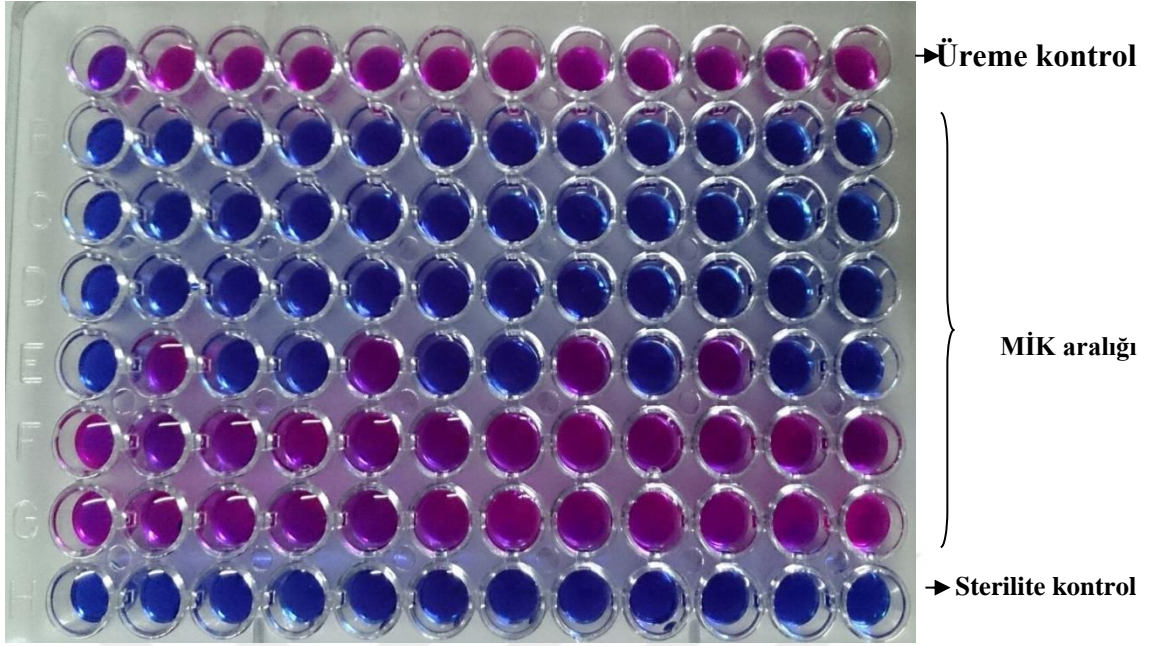
3.2.6. StaResMet® Kit Testinin Uygulanması

StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit ile testin uygulanması üretici firma önerilerine göre yapıldı (Şekil20). Plakların tüm kuyucuklarına 200µl Solüsyon 1'den konuldu. Daha sonra McFarland 1 bulanıklığındaki bakteri inokülümünden her kuyucuğa (sterilite kontrolü olan 8. kuyucuk hariç) 10µl inoküle edildi. Plaklar 35±2°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 5. saatinde her kuyucuğa 30µl Solüsyon 2'den eklenerek ilave 1 saat daha inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üreme kontrol kuyucuğu olan ilk kuyucukta renk maviden kırmızıya dönmüşse test değerlendirilerek MİK değerleri not edildi. Eğer tam renk dönüşümü olmamış ise inkübasyon uzatıldı. Üremenin olmadığı son kuyucuk (kırmızının olmadığı son kuyucuk) MİK değeri olarak belirlendi (Şekil 21; Şekil 22). Kalite kontrol suşları olarak *S.aureus* ATCC29213 (metisilin duyarlı) ve ATCC43300 (metisilin dirençli) kullanıldı. Bulunan MİK değerleri CLSI ve EUCAST'a göre değerlendirildi (Tablo 4).

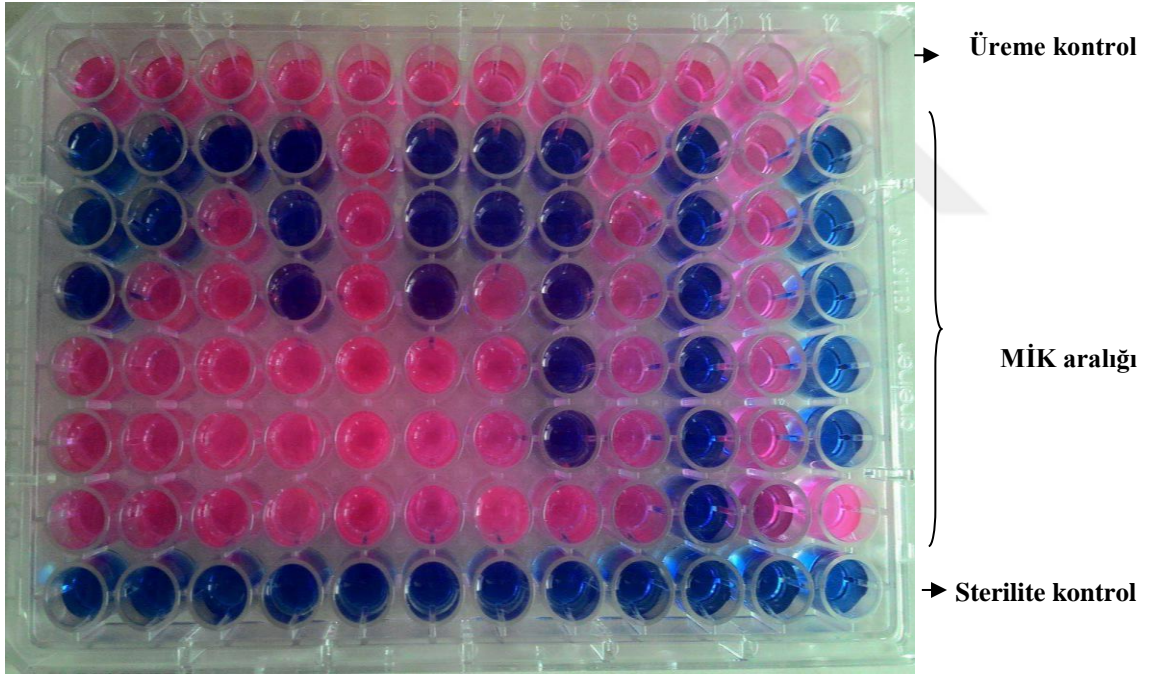
Tablo 4. CLSI ve EUCAST'a göre stafilkoklarda sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) değerlendirme kriterleri (CLSI, 2013; EUCAST, 2014)

		<i>S.aureus</i>	
		S	R
CLSI	SEFOKSİTİN MİK	≤4	≥8
EUCAST	SEFOKSİTİN MİK	4≤	>4

MİK: Mikrodilüsyon, S:Duyarlı, R:Dirençli



Şekil 21. StaResMet® kit çalışması



Şekil 22. StaResMet® kit çalışması

4. BULGULAR

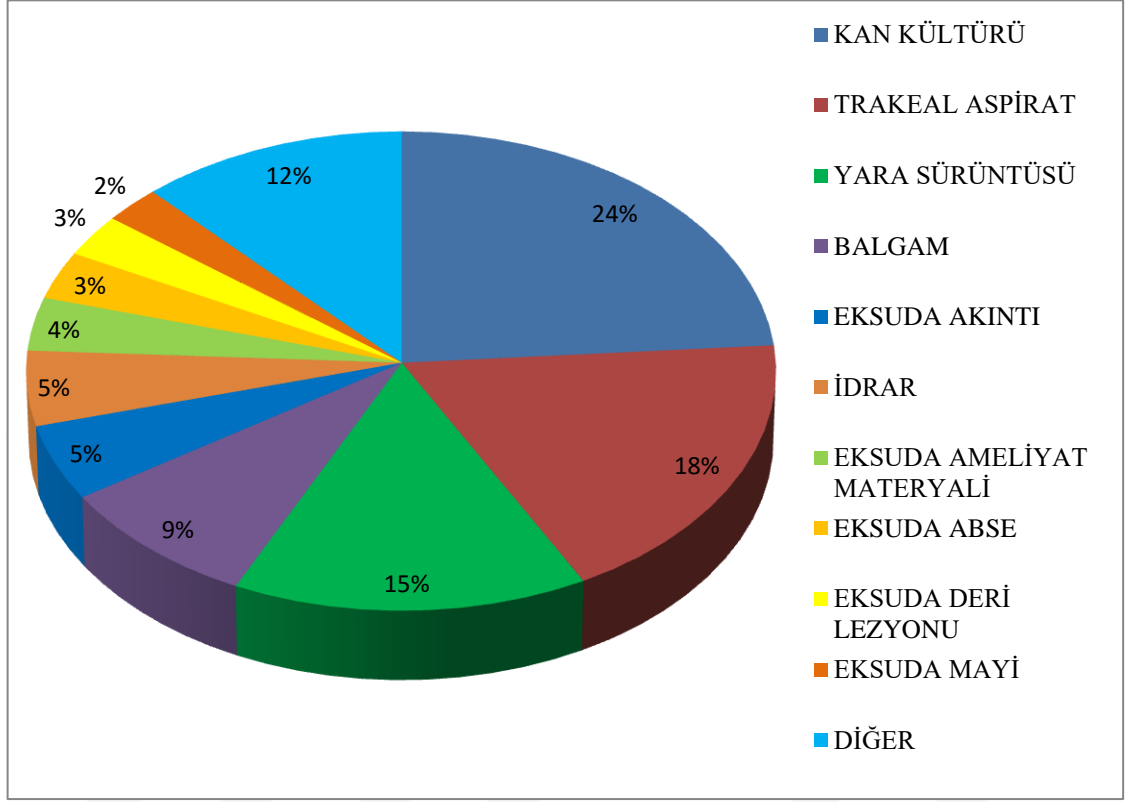
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA ve MSSA'lardan belirli periyotlarda seçilen 118 MRSA ve 159 MSSA olmak üzere 277 *S.aureus* izolatu çalışmaya dahil edildi.

Hastanemizde yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S.aureus*'ların materyal dağılımı Tablo 5'de ve Şekil 23'de gösterilmiştir.

Tablo 5. *S.aureus*'ların izole edildiği materyallerin dağılım tablosu

MATERYAL	ÖRNEK SAYISI
Kan Kültürü	66
Trakeal Aspirat	51
Yara Sürüntüsü	41
Balgam	24
Eksuda Akıntı	14
İdrar	14
Eksuda Ameliyat Materyali	10
Eksuda Abse	9
Eksuda Deri Lezyonu	8
Eksuda Mayi	7
Kulak Sürüntüsü	4
İdrar Sondası	3
Katater Hubundan Kan	3
Katater Ucu	3
Derin Yara Sürüntüsü	3
BOS	2
Konjunktiva Sürüntüsü	2
Steril Vücut Sıvısı Kültürü	2
Bronkoalveolar Lavaj (Bal) Örneği Kültürü	2
Vajinal Sürüntü	2
Burun Sürüntüsü	1
Diyalizat	1
Göbek	1
Katater Eksüdat Sürüntüsü	1
Orta Akım İdrar Örneği	1
Plevra Sıvısı	1
Suprapubik Aspirasyonla İdrar Örneği Kültürü	1

S.aureus'ların en sık izole edildiği materyal kan kültürü olup bunu trakeal aspirat kültürü ile yara sürüntüsü kültürü izlemektedir.



Şekil 23. Yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından gönderilen materyallerin dağılım grafiği

Laboratuvarımıza gelen materyallerin servislere göre dağılımı Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Gönderilen materyallerin servislere göre dağılımı tablosu

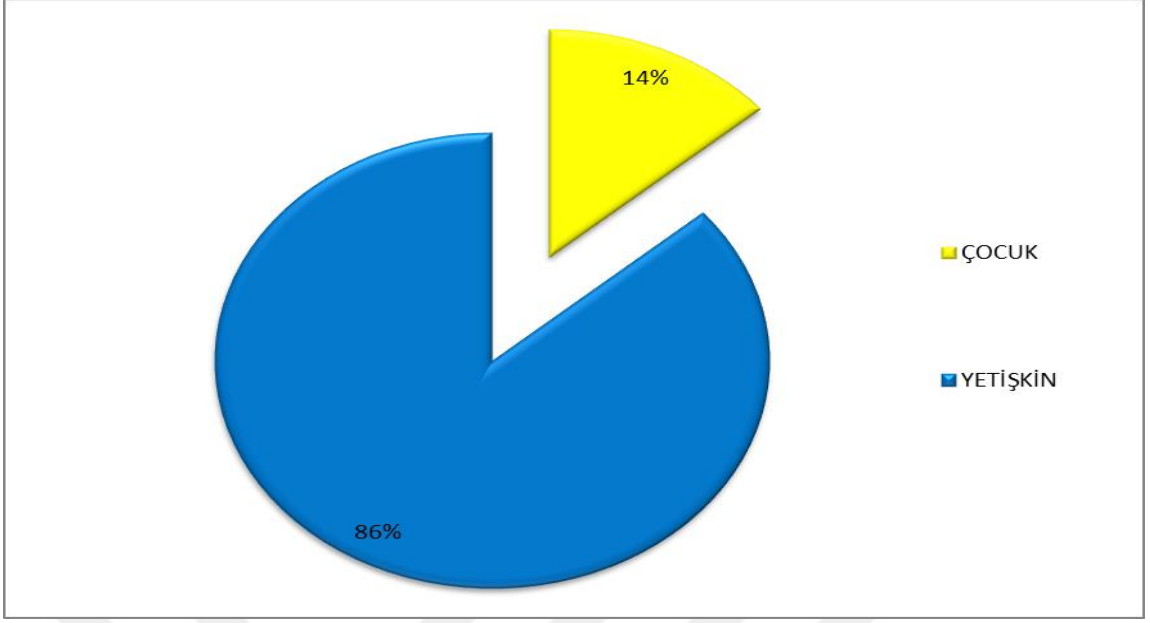
BÖLÜM	SAYI
Göğüs Hastalıkları Servisi	23
Mikail Yüksel Yoğun Bakım Servisi	23
Nöroloji Servisi	22
Acil ve İlk Yardım Servisi	20
Hematoloji Servisi	16
Enfeksiyon Servisi	12
Nefroloji Servisi	12
Dermatoloji Servisi	10
Beyin Cerrahi Servisi	9
Genel Cerrahi Servisi	9
Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisi	9
Kroner Yoğun Bakım Servisi	8

Tablo 6. Devamı

Tıbbi Onkoloji Servisi	8
Ortopedi ve Travmatoloji Servisi	7
Çocuk Enfeksiyon Servisi	6
Çocuk Genel Servisi	6
Dermatoloji Polikliniği	6
Yeni Doğan Yoğun Bakım Servisi	6
Üroloji Servisi	5
Çocuk Yoğun Bakım Servisi	4
Kulak Burun Boğaz Servisi	4
Üroloji Polikliniği	4
Gastroenteroloji Servisi	3
İç Hastalıkları ve Yoğun Bakım Servisi	3
Kardiyoloji Servisi	3
Romatoloji Servisi	3
Diğer	31

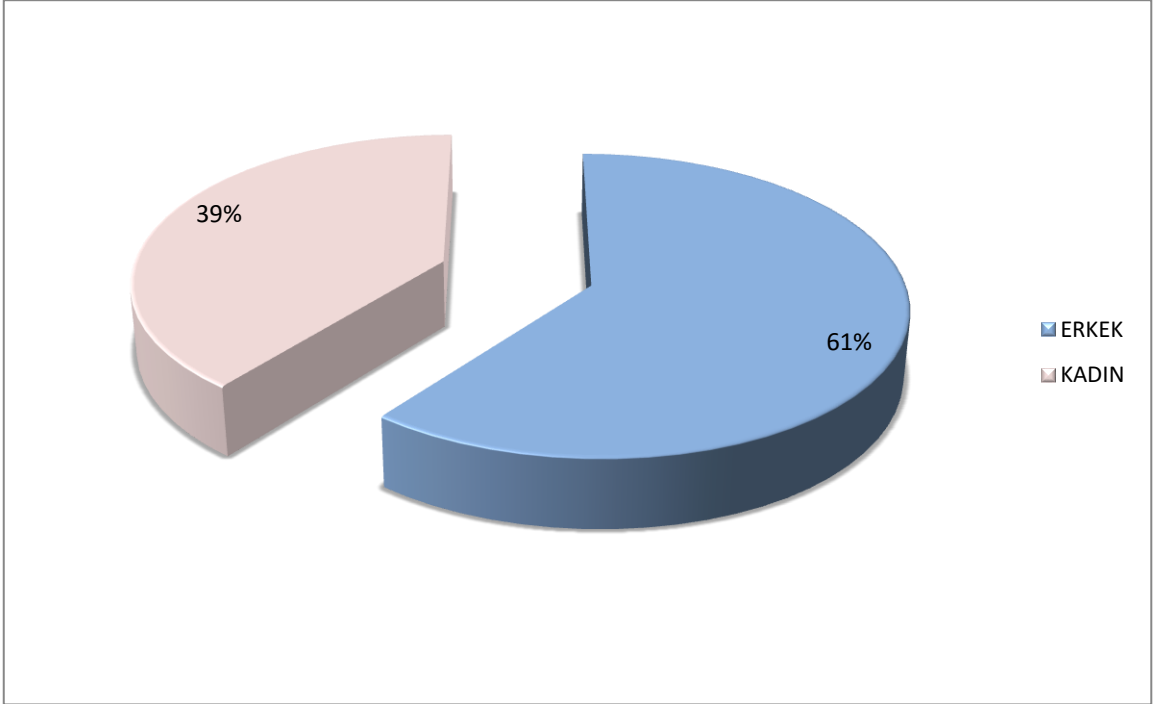
* Çocuk Acil Polikliniği, Çocuk Cerrahi Servisi, İç Hastalıkları Polikliniği, Endokrin Servisi, Enfeksiyon Polikliniği, Göğüs Cerrahi Servisi, Kalp Damar Cerrahisi Servisi, Periton Diyalizi, Plastik Rekons Ve Estetik Cerrahi Servisi, Çocuk Cerrahi Polikliniği, Çocuk Enfeksiyon Polikliniği, Çocuk Sağlığı Hastalıkları Muayenesi, Doğumhane, Genel Cerrahi Polikliniği, Göz Hastalıkları Servisi, Hemodiyaliz, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Polikliniği, Kalp Damar Cerrahisi Yoğun Bakım Servisi, Kulak Burun Boğaz Polikliniği, Nefroloji Polikliniği, Nöroloji Servisi Yoğun Bakım Servisi, Romatoloji Polikliniği

Laboratuvarımıza gelen materyallerin servislere göre dağılımı Şekil 24'de gösterilmiştir. Örnek yoğunluğunun sıklıkla göğüs hastalıkları servisi, Mikail Yüksel yoğun bakım servisi ve nöroloji servisinden geldiği gözlemlenmiştir.



Şekil 25. Klinik örneklerin yetişkin hasta ve çocuk hasta dağılım grafiği

Çalışmamızda kullandığımız 277 klinik örneğin 109'unun kadın hastadan 168'inin ise erkek hastadan alındığı belirlenmiştir. Klinik örneklerin kadın hasta ve erkek hasta dağılımını Şekil 26'de gösterilmiştir.



Şekil 26. Klinik örneklerin erkek hasta ve kadın hasta dağılım grafiği

Çalışmamızda, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji merkez laboratuvarına gönderilen çeşitli materyallerden izole edilen 277 *S.aureus* izolatının VITEK2 compact otomatize sistem ile yapılan sefoksitin duyarlılık test

sonuçlarına göre 118'si MRSA olarak saptandı. Bu izolatların sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) MİK değeri referans yöntem sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 61'inde >16mg/L, 33'ünde 16mg/L, 24'ünde 8mg/L olarak saptanmıştır. StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile yapılan çalışma sonuçlarına göre de 118 MRSA izolatının 61'inde >16mg/L, 33'ünde 16mg/L, 24'ünde 8mg/L olarak saptanmıştır. VITEK2 compact otomatize sistem ile yapılan sefoksitin duyarlılık test sonuçlarına göre 277 *S.aureus* izolatının 159'u MSSA olarak saptandı. Bu izolatların sefoksitin (Sigma-Aldrich, USA) MİK değeri referans yöntem sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 46'sında 4mg/L olarak saptanırken 100'ünde 2mg/L ve 13'ünde 1mg/L olarak saptanmıştır. 159 MSSA izolatının StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile yapılan duyarlılık sonuçları ise 51'inde 4 mg/L olarak saptanırken 90'ında 2 mg/L, 12'sinde 1mg/L ve 6'sında ≤0,5mg/L olarak saptanmıştır. Tablo 7'de MRSA ve MSSA izolatlarının VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem, referans yöntem sıvı mikrodilüsyon duyarlılık sonuçları, StaResMet® kit (AYC MED, Samsun, Türkiye) çalışması duyarlılık sonuçları gösterilmiştir.

Çalışmada StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile elde edilen sonuçlar altın standart yöntem olarak kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi ve VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem ile tam uyumlu bulunmuştur (Tablo 7). Buna göre StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) ticari kit testinin özgüllük, duyarlılık, pozitif ve negatif prediktif değeri %100 olarak belirlenmiştir.

Tablo 7. *S.aureus* izolatlarının duyarlılık sonuçları

	VİTEK 2		SIVI MİKRODİLÜSYON		StaResMet®	
	İZOLAT SAYISI	SONUÇ	İZOLAT SAYISI	SONUÇ	İZOLAT SAYISI	SONUÇ
MRSA	118	POZİTİF	61	>16	61	>16
			33	16	33	16
			24	8	24	8
MSSA	159	NEGATİF	46	4	51	4
			100	2	90	2
			13	1	12	1
			0	≤0.5	6	≤0.5

5. TARTIŞMA

Toplum ya da hastane kaynaklı MRSA suşlarının hızlı ve doğru olarak saptanması, enfeksiyonun kontrolü ve bakterinin nozokomiyal yayılımını önlemek açısından önemli bir yere sahiptir (McClure ve ark.,2006). Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerinin belirlenmesi referans yöntem olarak kullanılmakla birlikte, testte elde edilen MİK değerleri, testin uygulandığı koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Günümüzde MİK değerinin saptandığı testlerin yerini büyük oranda *mecA* genini saptayan moleküler yöntemler almıştır. Ayrıca, lateks aglütinasyon testi ve otomatize yöntemler (Vitek/Vitek2, bioMerieux; Phoenix, Becton-Dickinson; Microscan, Dade Behring) gibi bazı hızlı testler de kullanılmaktadır (Cesur ve ark., 2010). Moleküler testler ve otomatize yöntemler pahalı olmaları, teknik deneyim gerektirmeleri ve özel ekipmanlara ihtiyaç duymaları nedeniyle dezavantajlı olup bazı laboratuvarlar tarafından kullanılamamaktadır.

Metisilin direncinin belirlenmesinde dilüsyon yöntemleri (agar dilüsyon, sıvı mikrodilüsyon ve makrodilüsyon), E-test, agar tarama, disk difüzyon ve sınır değer (breakpoint) duyarlılık testi gibi fenotipik yöntemler bulunmaktadır. Bununla birlikte bu yöntemlerde sonuçların elde edilebilmesi için 24 saatlik bir süreye gereksinim vardır. Bu yöntemlerden sınır değer duyarlılık testi hem agarda hem de sıvı besiyerinde yapılabilmekte ve dilüsyon MİK yöntemlerine benzemektedir. Farklılık ise sınır değer duyarlılık testinin yalnızca tek bir kritik konsantrasyonda uygulanmasıdır (Cesur ve ark., 2010). Bu yöntemin avantajı, tek ilaç konsantrasyonunun kullanılmasından dolayı iş yükünün ve maliyetin azalmasıdır.

Bu çalışmada, StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) ticari kiti ile yapılan test ucuz, uygulanması ve değerlendirilmesi kolay, hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Bu nedenle StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile metisilin direnç sonucu, bir sonraki günü beklemeden *S.aureus* hızlı tanımlamasının yapıldığı aynı gün (6 saat sonra) verilebilmektedir.

Son yıllarda, kromojenik besiyerleri ile metisiline dirençli stafilokokların etkin ve hızlı bir şekilde saptanabildiği rapor edilmektedir (Brown ve ark., 2005). Çoban ve arkadaşları (2014), *S.aureus* suşlarında metisilin direncinin hızlı saptanmasında bir sınır değer duyarlılık test yöntemi olarak Nitrat Redüktaz Testinin (NRT) performansını araştırmışlar bu test yönteminin *S.aureus* tanısını takiben 5 saat gibi kısa bir sürede

metisilin direncinin saptanarak bildirilmesinde hasta ve klinisyen açısından büyük öneme sahip olabileceğini, ayrıca testin hızlı, güvenilir, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir olması ve ucuz bir yöntem olması, test sisteminin liyofilize olarak hazırlanıp raf ömrünün de uzatılmasının ek bir avantaj sağlayacağını bildirmişlerdir (Çoban ve ark., 2014). Merlino ve arkadaşları (2000), kromojenik bir besiyerinin (CHROMagar *S.aureus*, Fransa), *S.aureus*'un tanımlanmasında ve KNS'lardan ayırt edilmesindeki performansını araştırmışlar; bu besiyerinin hastane kökenli MRSA izolatlarının tamamını doğru olarak tanımlarken, toplum kökenli MRSA izolatlarının ancak %30'unu doğru olarak tanımladığını bildirmişlerdir. Bir surveyans çalışmasında Morris ve arkadaşları (2012), burun sürüntü örneklerinde MRSA araştırılması amacıyla ChromID MRSA (bioMerieux), Brilliance MRSA 2 Agar (Oxoid) ve Colorex MRSA (EO Laboratories) kolorimetrik besiyerlerini kullanmışlardır. Araştırmacılar, bu besiyerleriyle elde edilen test sonuçlarının inkübasyon süreleriyle ilişkili olduğunu ifade etmişler ve eğer öncelik yüksek duyarlılık ise ChromID MRSA besiyerinin; öncelik 24 saat içinde sonuç alınması ise Colores MRSA besiyerinin daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ChromID MRSA için MRSA doğrulamasının yapılmasını da önermişlerdir (Morris ve ark., 2012). Nazal sürüntü örneklerinden MRSA izolatlarının saptanmasında üç kolorimetrik besiyeri ve Xpert MRSA testinin etkinliğini araştırmışlar; yöntemlerin hiçbirinde duyarlılık ve özgüllük belirlenmemiş olsa da sağlık kuruluşlarında MRSA taramasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Lee ve ark., 2013).

Bu çalışmada kullanılan kolorimetrik özellikli StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile *S.aureus* olarak tanımlanmış (özellikle hızlı testlerle) izolatlarda metisilin direncinin varlığı aynı gün içerisinde 6 saat gibi kısa sürede verilmektedir. Kromojenik tarama testlerinde 16-48 saat arasında sonuç alınmakla birlikte genellikle inkübasyon süresinin uzatılması testin duyarlılığını artırmaktadır.

Çoban ve arkadaşları, *S.aureus* klinik izolatlarında Quicolor ES agar (Salubris Inc.) kullanarak kolorimetrik disk difüzyon yöntemiyle metisilin direncinin varlığını 4-9 saat arasında tanımlamışlardır (Çoban ve ark., 2011). Bu yöntemde, besiyerinde gözlenen renk değişimine göre üremenin varlığı belirlenip diskin etrafında gözlenen renk değişimi ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır; ancak 4 ile 9 saat arasındaki sürelerde besiyerinin sürekli kontrolünün yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada kullanılan StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit testinde bakteri inokülasyonunu takiben yapılan 5 saatlik inkübasyonun ardından eklenen solüsyon 2 ile 1 saat içinde renk değişimi gözlenmekte ve sonuç alınmaktadır. Çalışmada StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit plakları ile yapılan test sonuçları, VITEX2 otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında her üç test sonuçlarının aynı olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, StaResMet[®] (AYC MED, Samsun, Türkiye) kitinin birçok laboratuvar tarafından kolaylıkla kullanılabilmesini göstermekle birlikte hızlı ve doğru sonuç alınması, maliyetinin düşük olması, ek bir malzeme gerektirmemesi, iş gücü gereksinimin en aza indirgeyecek şekilde hazırlanmış olması, liyofilize olarak tasarlanmış olan kit içeriğinin raf ömrünü uzatması, kullanılabilirliğinin kolay ve güvenilir olması ile çoklu avantaj sağlayabileceği belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda, kromojenik besiyerleri ile metisiline dirençli stafilokokların etkin ve hızlı bir şekilde saptanabildiği rapor edilmektedir (Brown ve ark., 2005). Çoban ve arkadaşları *S.aureus* suşlarında metisilin direncinin hızlı saptanmasında bir sınır değer duyarlılık test yöntemi olarak Nitrat Redüktaz Testinin (NRT) performansını araştırmışlar; bu test yönteminin *S.aureus* tanısını takiben 5 saat gibi kısa bir sürede metisilin direncinin saptanarak bildirilmesinde hasta ve klinisyen açısından büyük öneme sahip olabileceğini, ayrıca testin hızlı, güvenilir, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir olması ve ucuz bir yöntem olması, test sisteminin liyofilize olarak hazırlanıp raf ömrünün de uzatılmasının ek bir avantaj sağlayacağını bildirmişlerdir (Çoban ve ark., 2006). Merlino ve arkadaşları (2000), kromojenik bir besiyerinin (CHROMagar Staph aureus, Fransa), *S.aureus*'un tanımlanmasında ve KNS'lardan ayırt edilmesindeki performansını araştırmışlar; bu besiyerinin hastane kökenli MRSA izolatlarının tamamını doğru olarak tanımlarken, toplum kökenli MRSA izolatlarının ancak %30'unu doğru olarak tanımladığını bildirmişlerdir. Bir sürveyans çalışmasında Morris ve arkadaşları (2012), burun sürüntü örneklerinde MRSA araştırılması amacıyla ChromID MRSA (bioMerieux), Brilliance MRSA 2 Agar (Oxoid) ve Colorex MRSA (EO Laboratories) kolorimetrik besiyerlerini kullanmışlardır. Araştırmacılar, bu besiyerleri ile elde edilen test sonuçlarının inkübasyon süreleri ile ilişkili olduğunu ifade etmişler ve eğer öncelik yüksek duyarlılık ise ChromID MRSA besiyerinin; öncelik 24 saat içinde sonuç alınması ise Colores MRSA besiyerinin daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ChromID MRSA için MRSA doğrulamasının yapılmasını da önermişlerdir (Morris ve ark., 2012). Nazal sürüntü örneklerinden MRSA izolatlarının saptanmasında üç kolorimetrik besiyeri ve Xpert MRSA testinin etkinliğini araştırmışlar; yöntemlerin hiçbirinde duyarlılık ve özgüllük belirlenmemiş olsa da sağlık kuruluşlarında MRSA taramasında kullanılabilmesini belirtmişlerdir (Lee ve ark., 2013). Bu çalışmada kullanılan kolorimetrik özellikli StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile *S.aureus* olarak tanımlanmış (özellikle hızlı testlerle) izolatlarda metisilin direncinin varlığı aynı gün içerisinde 6 saat gibi kısa sürede verilebilmektedir. Kromojenik tarama testlerinde 16-48 saat arasında sonuç alınmakla birlikte genellikle inkübasyon süresinin uzatılması testin duyarlılığını artırmaktadır.

Çoban ve arkadaşları (2011), *S.aureus* klinik izolatlarında Quicolor ES agar (Salubris Inc.) kullanarak kolorimetrik disk difüzyon yöntemiyle metisilin direncinin varlığını 4-9 saat arasında tanımlamışlardır. Bu yöntemde, besiyerinde gözlenen renk değişimine göre üremenin varlığı belirlenip diskin etrafında gözlenen renk değişimi ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır; ancak 4 ile 9 saat arasındaki sürelerde besiyerinin sürekli kontrolünün yapılması gerekmekte olup bu açıdan dezavantajlı olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit testinde bakteri inokülasyonunu takiben yapılan 5 saatlik inkübasyonun ardından eklenen solüsyon 2 ile 1 saat içinde renk değişimi gözlenmektedir. Çalışmada ayrıca StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit plakları ile yapılan test sonuçları, VITEX2 otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon çalışma sonuçları ile karşılaştırıldı. Sonuçta her üç test sonuçlarının aynı olduğu saptandı. Bu sonuçlar, StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kitinin birçok laboratuvar tarafından kolaylıkla kullanılabilceğini ve güvenilir sonuç alındığını göstermektedir.

Bu çalışmada, StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) ticari kiti ile yapılan test ilave maliyet gerektirmeyip iş yükünün ve ekipmanın en aza indirgenmesi planlanarak hazırlanmış kit içeriği, uygulanması ve değerlendirilmesi kolay, hızlı sonuç veren bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile metisilin direnç sonucu, bir sonraki günü beklemeden *S.aureus* tanımlamasının yapıldığı aynı gün (6 saat sonra) verilebilmektedir. Altı saat gibi kısa bir süre sonrasında verilen sonucun hem klinisyen hemde hasta açısından da çoklu avantaj sağlayacağı yönünde değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit ile testte bakteri inokülasyonunu takiben yapılan 5 saatlik inkübasyonun ardından eklenen solüsyon 2 ile 1 saat içinde renk değişimi gözlenmektedir. Çalışmada ayrıca StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kit plakları ile elde edilen MİK sonuçları, sıvı mikrodilüsyon çalışması ile elde edilen MİK sonuçları ve VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem ile elde edilen MİK sonuçları karşılaştırıldı ve sonuçlar uyumlu saptandı. Bu sonuçlar, süre için avantajlı olan otomatize sistem maliyet açısından dezavantajlı, güvenilirlik, kolay uygulanabilirlik açısından avantajlı geleneksel yöntem sıvı mikrodilüsyon süre açısından dezavantajlı bulunur iken StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kiti ile yapılan duyarlılık

çalışmasının güvenilir, ilave maliyet gerektirmediği, iş yükünün ve ekipmanın en aza indirgenmesi planlanarak hazırlanmış kit içeriği, uygulanması ve raporlanması kolay, hızlı sonuç veren bir yöntem olarak değerlendirilmiş ve çoklu avantajlı bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır. Avantajları ile birlikte StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kitinin birçok laboratuvar tarafından kolaylıkla kullanılabilceğini göstermektedir. Ayrıca sonuçların, sıvı mikrodilüsyon test sonuçları ve VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem sonuçları ile birebir uyumu StaResMet® (AYC MED, Samsun, Türkiye) kitinin güvenilirliğini göstermiştir. Aynı zamanda hızlı duyarlılık belirlemenin klinisyen ve hasta açısından da ek avantaj sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Allen S, Allen E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G, The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organisms. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, editors. 5th Ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2006; 539-576.
- Archer GL. *Staphylococcus aureus*; a well armed pathogen. Clin Infect Dis. 1998 May; 26(5): 1179-1181.
- Arıdoğan A, Atasever L, Bal Ç. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2004; 34: 20-23.
- Arman D, Glikopeptidler, streptograminler ve lipopeptidler. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M editörler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri. 2008; 326-337.
- Ayaz C. Beta laktamların genel özellikleri ve penisilinler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2008; 266-278.
- Aydın K, Makrolidler ve Linkozamidler. Ankem Derg. 2007; 21(2):57-61.
- Aygen B, Sehmen E, Sümerkan B, Doğanay M. Koagulaz Negatif Stafilokoklarda Slime Yapımı ve Aderans. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1996; 26: 67-70.
- Aygen B. Stafilokok İnfeksiyonlarında Klinik ve Tanı, 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Ankara, Kongre Kitabı. 1997; 331-340.
- Baker CN, Stoker SA, Culver DH, Thornsberry CP. Comparison of E-test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol. 1991; 29: 533-538.
- Bassetti D, Bassetti M, Montero E. Strategies for antibiotic selection in empirical therapy. Clin Microbiol Infect. 2000; 6 (Suppl 3):98-100.
- Bilgehan H. Gram Olumlu Koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir, Fakülteler Kitabevi. 2000; 239-268.
- Bouvet A, Fournier JM, Audurier A, Branger C, Orsoni A, Girard C. Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *S.aureus*. J ClinMicrobiol. 1990; 28(6):1338-1341.
- Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, Wren MW. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother. 2005; 56 (6): 1000-1018.

- Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustaçelebi Ş, editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji' de. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999; 339-347.
- Cesur S, Yıldız E, Irmak H, Aygün Z, Karakoç E, Kinikli S, Demiröz AP. Evaluation of oxacillin resistance screening agar and chromogenic MRSA agar media for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Mikrobiyol Bul. 2010; 44(2): 279-284.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third Informational Supplement. CLSI Document M100-S23, US, Wayne, PA. 2013: 72-89.
- Courvalin P. Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme). Clin Microbiol Infect. 1996; 2(suppl 1): 26-34.
- Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. Clin Infect Dis. 1998;26(1):1-10.
- Crass BA, Bergdoll MS, Involvement of coagulase negative staphylococci in toxic shock syndrome. J Clin Microbiol. 1986; 23: 43-45.
- Çetinkaya Y, Ünal S. Glikopeptid Antibiyotikler: Vankomisin ve Teikoplanin. Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi. 1997; 3: 1-14.
- Çoban AY, Bozdoğan B, Cihan CC, Çetinkaya E, Bilgin K, Darka O, Akgüneş A, Durupınar B, Appelbaum PC. Two new colorimetric methods for early detection of vancomycin and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2006;44(2):580-582.
- Çoban AY, Demirpek U, Yıldırım T, Çaycı YT, Kocagöz T, Durupınar B. Rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates; evaluation of colorimetric Quicolor ES agar and determination of breakpoint inhibition zone diameters of cefoxitin. World J Microbiol Biotechnol 2011; 27(8): 1901-1904.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000; 13(1): 16-34.
- Durupınar B. Antibiyotiklere Dirençte Yeni Eğitimler. Klimik Dergisi. 2001;14(2):47-56.
- Dündar V, Dündar DÖ. Stafilokok Enfeksiyonları. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri. 2008; 2065-2077.
- Dündar V. Metisiline Dirençli Stafilokok İnfeksiyonları. Klimik Dergisi. 2000;13(Özel Sayı): 26-27.

- Ekşi F, Balcı İ, Gayyurhan ED, Çekem G. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarının metisilin direncinin belirlenmesi ve antimikrobiyal ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*. 2007; 21(1): 27-31.
- Felten A, Grandy B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low level methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 2766-2771.
- Gregory PD, Lewis RA, Curnock SP, Dyke KG. Studies of the repressor (BlaI) of β -lactamase synthesis in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol*. 1997; 24: 1025-1037.
- Gülay Z. Antibakteriyel ilaçların etki mekanizmaları. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2008; 227-243.
- Gülay Z. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö, editörler. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999; 91-108.
- Gür D. Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 243-257.
- Hackbarth CJ, Kocagöz T, Kocagöz S, Chambers HF. Point mutations in *Staphylococcus aureus* PBP 2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995; 39(1): 103-106.
- Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 1984; 158(2): 513-516.
- Henze UU, Berger-Bachi B. Penicillin binding protein 4 overproduction increases beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40(9): 2121-2125.
- Hızel S, Şanlı C, Kaygusuz S, Tunç A. Kırıkkale Üniversitesinde Hastane Personeli İle Hasta Ziyaretçilerinde Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı. *Van Tıp Dergisi*. 2005; 12 (2):140-144.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. *Zinsser Microbiology*, 19th ed. East Norwalk, Appleton & Lange. 1988 401-416.
- Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: special needs for fastidious organisms and difficult-to-detect resistance mechanisms. *Clin Infect Dis*. 2000; 30: 799-808.

- Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci from blood stream infection: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998; 30(3): 205-214.
- McClure JA, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, Zhang K. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from -resistant staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44(3): 1141-1144.
- McDougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol*. 1986; 23 (5): 832-839.
- Merlino J, Leroi M, Bradbury R, Veal D, Harbour C. New chromogenic identification and detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S.aureus*. *J Clin Microbiol* 2000; 38(6):2378-2380
- Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Rood II, O'Grady N, Harris JS, Craven DE. Guidelines for the management of intravascular catheter related infections. *Clin Infect Dis*. 2001; 32(9): 1249-1272.
- Moellering RC Jr. Problems with antimicrobial resistance in Gram positive cocci, *Clin Infect Dis*. 1998; 26(5): 1177-1178.
- Moreillon P, Que YA, Glauser MP. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock) In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Diseases*. 6th Ed. Vol.2 Philadelphia, Churchill Livingstone. 2005; 2321-2351.
- Morris K, Wilson C, Wilcox MH. Evaluation of chromogenic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* media: sensitivity versus turnaround time. *J Hosp Infect* 2012; 81(1): 20-24.
- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS Pfaller MA. *Staphylococcus* and related organisms. *Medical Microbiology*. 4th Ed. St. Louis Mosby. 1993; 202-216.
- Mülazımoğlu L. Oksazolidinonlar. *Ankem Derg*. 2001; 15(3): 543-545.
- Peacock SJ. *Staphylococcus*. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G. Editors. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th Ed. London, United Kingdom, Hodder Arnold. 2005: 771-832.
- Petersson AC, Kamme C, Miörner H. Disk with high oxacillin content discriminates between methicillin-resistant and borderline methicillin-susceptible

- Staphylococcus aureus* strains in disk diffusion assays using a low salt concentration. J Clin Microbiol. 1999; 37(6): 2047-2050.
- Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM. Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of nuc, Pantón–Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mecALGA251*. J Antimicrob Chemother. 2012 Oct; 67(10): 2338-2341.
- Rice LB, Sahn D, Bonomo RA. Mechanism of resistance to antimicrobial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Phaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of clinical microbiology. 8th Ed. Washington DC, ASM Press. 2003; 1074-1101.
- Sabbath LD. Mechanism of resistance to beta lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. Ann Intern Med. 1982; 97:339.
- Salmenlinna S. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Finland.. Faculty of Medicine, University of Helsinki, Haartman Institute, Helsinki, Academic dissertation, 2002; 33-35.
- Seppala H, Skurnik M, Soini H, Roberts MC, Huovinen P. A novel erythromycin resistance methylase gene (*ermTR*) in *Streptococcus pyogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42: 257-262.
- Shopsin B, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2001; 7 (2): 323-326.
- Song MD, Wachi M, Doi M, Ishino F, Matsushashi M. Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBS Lett. 1987 Aug; 221(1): 167-171.
- Souvenir D, Donald E, Anderson JR, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J, Claridge J, Eiland J, Malone C, Garrison MW, Watson P, Campbell DM. Blood cultures positive for coagulase negative staphylococci: antisepsis, Pseudobacteremia, and therapy of patients. J Clin Microbiol. 1998; 36: 1923-1926.
- Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. Clin Microbiol Infect. 2011; 18: 395-400.
- Stout RD, Li Y, Miller AR, Lambe DW Jr. Staphylococcal glycocalyx activates macrophage prostaglandin E2 and interleukin 1 production and modulates tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production. Infect Immun. 1994 Oct; 62 (10): 4160-4166.

- Telli M, Sümerkan B, Eşel D. *Staphylococcus aureus*'ta Metisilin Direncinin Belirlenmesinde Sefoksitin Disk, Oksasilin Disk, Oksasilin Agar Tarama ve PBP2a Lateks Testlerinin Karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 2006; 20(2): 93-96.
- Tenover FC, Mohammed MJ, Gorton TS, Dembek ZF. Detection and reporting of organisms producing extended spectrum beta-lactamases: Survey of laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol*. 1999; 37: 4065-4070.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tanles form interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0. 2014;17-21.
- Topçu AW. Aminoglikozidler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 214-222.
- Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi. 2004; 9-68.
- Ulusoy S. Streptogramms (Quinupristin/Dalfopristin). *Ankem Derg*. 2004; 18: 174-177.
- Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. İzmir, Güneş Kitabevi. 1999; 1: 339-345.
- Ünal S. Stafilokoklarda Metisilin Direnç Mekanizmaları ve Metisilin Direnç Tespit Yöntemleri. *Flora*. 1996; 1: 14-17.
- Willke A. Stafilokoklarda metisiline direnç mekanizmaları ve belirlenmesi. *Ankem Derg*. 1992; 6(2): 288-291.
- Yiğit N, Aktaş AE, Al FD. Klinik Örneklerden İzole Edilen Stafilokokların Metisilin, Fusidik asit ve Mupirosin Direnci. *Türk Hij Den Biyol Der*. 2008; 65(1): 17-23.
- URL1:<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/vancomycin%20intermediate%20resistant%20staphylococcus.html>, 2016.
- URL2:<http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/staphylococcus%20aureus%20photos/STAU24.html>, 2016.
- URL3:<http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/images/TaksoBakt/Hemoliza.jpg>, 2016.
- URL4:<http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus.html>, 2016.
- URL5:<http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/images/TaksoBakt/Hemoliza.jpg>, 2016.
- URL6:[http://www.bacteriainphotos.com/clumping_factor_\(bound_coagulase\).html](http://www.bacteriainphotos.com/clumping_factor_(bound_coagulase).html), 2016.

URL7:https://tr.wikipedia.org/wiki/Zat%C3%BCrre#/media/File:New_Pneumonia_cartoon.jpg, 2016.

URL8:<http://emedicine.medscape.com/article/1073117-overview>, 2016.

URL9:<http://www.hemensaglik.com/makale/endokardit-kalp-ic-zari-iltihabi/nedir>, 2016.

URL10:<http://www.menenjit.gen.tr/menenjit-belirtileri.html>, 2016.

URL11:<http://www.microbiologyinpictures.com/staphylococcus%20aureus.html>, 2016.

URL12:<http://www.bacteriaainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/staphylococcus%20aureus%20microscopy.html>, 2016.

URL13:http://www.bacteriaainphotos.com/catalase_test.html, 2016.

URL14:[http://www.bacteriaainphotos.com/clumping_factor_\(bound_coagulase\).html](http://www.bacteriaainphotos.com/clumping_factor_(bound_coagulase).html), 2016.

URL15:<http://www.hastaneenfeksiyonlari.saglik.gov.tr/dosya/lab.doc>, 2016.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Mehtap SOYSAL

Doğum Yeri: Artvin

Doğum Tarihi: 30.06.1983

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): 19 Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü 2007-Mezun

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008-2013

E-posta: msc.mehtapsoysal@gmail.com



