

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2009-2012 YILLARI ARASINDA GELEN PORTÖRLERDE  
BURUNDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS TAŞIYICILIĞI, MEC-A  
VE PANTON- VALENTİNE LÖKOSİDİN VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Duygu Kübra TUNA  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
(TIP PROGRAMI)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman  
Doç.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU

VAN-2015

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2009-2012 YILLARI ARASINDA GELEN PORTÖRLERDE  
BURUNDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS TAŞIYICILIĞI, MEC-A  
VE PANTON- VALENTİNE LÖKOSİDİN VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Duygu Kübra TUNA  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
(TIP PROGRAMI)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman  
Doç.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU

VAN-2015

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2009-2012 YILLARI ARASINDA GELEN PORTÖRLERDE  
BURUNDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS TAŞIYICILIĞI, MEC-A  
VE PANTON- VALENTİNE LÖKOSİDİN VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Duygu Kübra TUNA  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
(TIP PROGRAMI)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı

Üye

Üye

TEZ KABUL TARİHİ

05/ 01/ 2016

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
TEŞEKKÜR.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL ÖZELLİKLER.....	5
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Kültür ve Boyanma Özellikleri .....	5
2.2. Virülans ve Patojeniteleri .....	6
2.2.1. Kapsüler polisakkarit.....	6
2.2.2. Hücre duvarı .....	7
2.2.3. Protein A.....	7
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Enzimleri .....	8
2.3.1. Katalaz.....	8
2.3.2. Koagülaz.....	8
2.3.3. Serbest koagülaz .....	8
2.3.4. Bağlı koagülaz (Clumping Factor) .....	9
2.3.5. Hyaluronidaz (yayılma faktörü) .....	9
2.3.6. Lipaz .....	9
2.3.7. Stafilokinaz.....	9
2.3.8. Penisilinaz.....	9
2.3.9. DNase .....	10
2.3.10. Slime Factor.....	10
2.4. <i>S. aureus</i> 'un Toksin ve Hemolizinleri .....	10
2.4.1. Alfa toksin .....	11
2.4.2. Beta toksin (sfingomyelinaz C) .....	11
2.4.3. Gama hemolizin.....	11

2.4.4. Delta hemolizin .....	12
2.4.5. Enterotoksinler .....	12
2.4.6. Eksfoliatif (epidermolitik) toksin .....	13
2.4.7. TSST .....	13
2.4.8. Panton-Valentine lökositin (non hemolitik lökositin) .....	14
2.5. <i>Staphylococcus aureus</i> 'larda Metisilin Direnci .....	14
2.5.1. Toplum kökenli metisilin dirençli <i>S. aureus</i> ile hastane kökenli metisilin dirençli <i>S. aureus</i> 'un epidemiyolojisi .....	16
2.6. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Neden Olduğu Hastalıklar .....	17
2.6.1. Deri enfeksiyonları .....	18
2.6.2. Bakteriyemi ve endokarditler .....	20
2.6.3. Organ enfeksiyonları .....	21
2.6.4. <i>S. aureus</i> 'un toksinleriyle yaptığı hastalıklar .....	22
2.7. Tanı .....	24
2.7.1. Koloni morfolojik görünümü .....	24
2.7.2. Gram boyama .....	24
2.7.3. Koagülaz .....	25
2.7.4. Katalaz testi .....	26
2.7.5. Lizostafin .....	26
2.7.6. Furozolidon .....	26
2.7.7. Basitrasine duyarlılık testi .....	27
2.7.9. DNase .....	27
2.7.10. Mannitol fermentasyonu .....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
3.1. Hastalar ve <i>Staphylococcus aureus</i> izolatları .....	29
3.2. Kültür, Antibiyogram ve İdentifikasyon .....	29
3.2.1. Kullanılan Besiyerleri .....	29
3.2.2. Suşların identifikasyonu .....	30
3.2.3. Antibiyogram .....	31
3.3. LUKS/F-PV ve MecA Gen Bölgelerinin Araştırılması .....	32
3.3.1. Suşların DNA ekstraksiyonu .....	32
3.3.2. PCR ile hedef gen bölgelerinin çoğaltılması .....	33

3.3.3. Hedef gen bölgelerinin görüntülenmesi .....	35
4.BULGULAR.....	39
5.SONUÇ VE TARTIŞMA .....	42
ÖZET .....	48
SUMMARY.....	49
KAYNAKLAR .....	50
ÖZGEÇMİŞ .....	56



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca engin bilgi ve tecrübesiyle eğitimimde emeği geçen, deneyimlerini ve bilgilerini bizden esirgemeyen ayrıca tezimin oluşmasında büyük emeği olan sayın Doç. Dr Hüseyin GÜDÜCÜOğLU'na; deneyimlerinden ve tecrübesinden faydalandığım ve birlikte çalışmaktan zevk ve onur duyduğum sayın Prof.Dr. Barış OTLU'ya;

Eğitim süreci boyunca benden desteğini esirgemeyen, her türlü zorlukta yanımda olan sevgili eşim Bakır TUNA' ya; bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan ve desteklerini her daim hissettiğim annem, ablam, kardeşim ve bütün dostlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım...

## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Stafilokokların gram boyamadaki görünümü..... 5
- Şekil 2.** Jel elektroforezinde LukS/F-PV gen bölgesi sonuçlarının görünümü..... 40
- Şekil 3.** Jel elektroforezinde Mec-A sonuçlarının görünümü..... 41
- Şekil 4.** Toplum kökenli *S. aureus* suşlarının mesleklere göre dağılımı..... 43
- Şekil 5.** Toplum kökenli *S. aureus* suşlarının cinsiyete göre dağılımı..... 44
- Şekil 6.** PVL gen bölgeleri pozitif ve negatif bulunan izolatlara ait PCR jel..... 45  
görüntüsü



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Stafilokok türlerinin belirlenmesinde kullanılan testler.....	5
<b>Tablo 2.</b>	Oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon yönteminde kullanılan... zon çap değerleri	34
<b>Tablo 3.</b>	PVL varlığını belirlemek için kullanılan primer dizileri.....	36
<b>Tablo 4.</b>	2X amplifikasyon tamponunun hazırlanması.....	36
<b>Tablo 5.</b>	PVL varlığını belirlemek için kullanılan PCR –Amplifikasyon.. Mastermiks protoklü	36
<b>Tablo 6.</b>	LukS/F-PV için amplifikasyon şartları.....	37
<b>Tablo 7.</b>	Mec-A varlığını belirlemek için kullanılan primer dizileri.....	37
<b>Tablo 8.</b>	Mec-A için amplifikasyon programı.....	38

## KISALTMALAR

<b>KNS</b>	: Koagülaz negatif stafilokoklar
<b>PVL</b>	: Panton-Valentine lökositin
<b>TK-S.aureus</b>	: Toplum kökenli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>HK-S.aureus</b>	: Hastane kökenli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MRSA</b>	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSSA</b>	: Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>TSST</b>	: Toksik şok sendromu toksini
<b>IgG</b>	: Immunglobulin G
<b>IgA</b>	: Immunglobulin A
<b>IgM</b>	: Immunglobulin M
<b>CRF</b>	: Coagulase-Reacting Factor
<b>PBP</b>	: Penisilin bağlayan protein
<b>SCC mec</b>	: Staphylococcal Casette Chromosome mec
<b>MHA</b>	: Müller-Hinton agar

## 1. GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açabilen *Staphylococcus* genusu bakterileri ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. 1880 yılında Pasteur abseden izole ettiği stafilokokları sıvı besiyerinde üretmiş ve yine aynı yıl Ogston fare ve kobaylar için patojen olduğunu vurgulamıştır. 1884 yılında ise Rosenbach beyaz renkli kolonileri *S. albus*, sarı-portakal rengi kolonileri ise *S. aureus* olarak isimlendirmiştir. Bu ayırım yakın zamana kadar devam etmiştir. Son 25 yılda koagülaz negatif stafilokokların da çok önemli nozokomiyal enfeksiyonların etkeni olduğu ve sepsis, endokardit, osteomyelit gibi değişik klinik tablolar yapabildiği açıklanmıştır. Baird-Parker spesifik KNS türlerini ilk kez tanımlamıştır (Cengiz A.T., 1999).

Stafilokokların çoğu sıcakkanlı hayvanların derisinde, deri ile ilişkili bezlerin kanallarında ve mukozalarında doğal olarak barınırlar. Bir kısmı da insan ve hayvanlar için patojen ve çoğu fırsatçı patojendirler. Üremeleri esnasında birbirlerinden ayrılmayarak üzüm salkımına benzeyen, düzensiz kümeler oluşturmalarına bakılarak bu bakterilere bu isim verilmiştir (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 2000 ).

İnsan sağlığı açısından en önemli tür *S. aureustur*. En fazla doğal olarak nazofarenkste bulunur ve buradan yayılır. Deride en çok ellerde, kollarda ve yüzde bulunur. Sağlıklı insanların %30'unun boğaz ve burun kültürlerinde ortamın baskın florası arasında *S. aureus* bulunur. Bunun dışında insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apseli yaralarda ve sivilcelerde yoğun olarak bulunurlar. *S. aureus* göz, deri, kıl kökü folikülü v.b. enfeksiyonlara, boğaz burun enfeksiyonlarına septisemi, menenjit, gastrointestinal sistemde ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca osteomyelite de neden olmaktadır. Gıda sektöründe çalışanlarda ve hastane personeline yaygın olarak bulunur. *S. aureus* ile infekte gıdalarda, gıda zehirlenmesine *S. aureus'un* bazı suşlarının ürettiği enterotoksinlerin sebep olduğu bilinmektedir. Stafilokokların çeşitli türleri insan vücudunun çeşitli yerlerinde kolonize olurlar. *S. aureus* normal insanların %10-40'ının, hastanelerde çalışanların ve hospitalize hastaların %70'inin burun deliği mukozasında kolonize olmuşlardır. *S. epidermidis*, *S. aureus'un* bulunmaması durumunda burun

deliği mukozalarından soyutlanan stafilokokların %90-100'ünü oluşturur (Bilgehan H., 2002).

Gıda sektöründe çalışan ve *S. aureus* taşıyıcısı olan portörler stafilokok besin zehirlenmesinin kaynağıdır. Gıdalarda, gıda işletmelerinde, kurumlara ait büyük mutfaklarda *S. aureus'a* rastlanması hijyen eksikliğinin göstergesi kabul edilir. İnfekte gıdalardan, hasta veya taşıyıcı (portör) kişiler aracılığıyla yeni konaklara bulaşmaktadır.

*S. aureus'un* enfeksiyon oluşturma potansiyeli, epidemi yapma riski ve enfekte gıdalarla gıda zehirlenmesine sebebiyet vermesi nedeniyle taşıyıcılık ve halk sağlığı yönünden önemlidir.

Ciddi enfeksiyonlara neden olan stafilokoklar antibiyotiklerin çoğuna karşı kolayca direnç kazandığı için taşıyıcılığı insan sağlığı için büyük risk oluşturur. Hasta veya taşıyıcı (portör) kişilerden, enfekte gıdalardan bulaşan antibiyotiklere karşı direnç kazanmış *S. aureus* tedavi yönünden çözülmesi güç sorunlar yaratır (Forbes ve ark., 2002). *S. aureus* bakterilerinin kemoterapötik maddelerin birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları nedeniyle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmaktadır.

Stafilokoklar geniş çapta antimikrobiyal ajanlara duyarlılık gösterebilir ve genellikle bir ilaç paneli içinde test edilir. Bununla beraber modern laboratuvarlar için en önemli nokta MRSA'nın izolasyonu ve tanımlanmasıdır. Metisiline dirençli suşların ortaya çıkışı metisilin klinik uygulamalarda kullanılmasından kısa bir süre sonra başlamıştır. Bunu 1970'lerin ortasında birçok ülkede tek bir epidemik suşun neden olduğu ve hastaneler arasında yayılan MRSA enfeksiyon salgını izlemiştir. MRSA nozokomiyal patojen olmasının yanı sıra toplum patojeni haline gelmiştir.

Stafilokok türlerinde metisilin direnç artışı ile birlikte diğer antibiyotikler bu tür bakterilerce oluşmuş ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Bir glikopeptid olan vankomisin, metisilin dirençli stafilokoklara bağlı enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen ilaçtır (Tammy ve ark., 2007 ).

MRSA 1990'lı yıllara kadar sadece hastane enfeksiyonlarından sorumlu iken, daha sonraları hastane ortamıyla ilişkisi olmayan ve herhangi bir risk faktörü bulunmayan toplumdaki kişilerde izole edilmeye başlanmıştır (Çağatay ve ark., 2005).

Son yıllarda toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) infeksiyonları düzenli artış göstererek önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya başlamıştır (Hiramatsu ve ark., 1997). Bu mikroorganizmayı ve sebep olduğu infeksiyonları tanımlayabilmek için oldukça fazla sayıda çalışma bulunmakla beraber TK-MRSA'yı tanımlamada terminolojide henüz tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Bu konudaki anlaşmazlık, yeni ortaya çıkan TK-MRSA'nın hastanelerde yayılımıyla doruğa ulaşmıştır (Smith ve ark., 1999). TK-MRSA'nın sağlık kuruluşlarındaki yayılımı yeni ortaya çıkan bir problemdir ve yakın zamandaki salgınlarla ilgili raporlar erken tanının ve acil kontrol önlemlerinin önemini vurgulamaktadır. Günümüzde Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin birçok eyaletinde deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından izole edilen MRSA oranı %50'lerin üzerine çıkmıştır. Daha da endişe verici olanı TK-MRSA'ların ilaçlara direnç oranlarının artması, yeni coğrafi alanlarda ve popülasyonlarda yayılmasıdır.

Ciddi TK-MRSA infeksiyonlarında ve buna bağlı ölümlerdeki hızlı artış bu potansiyel virulan patojenin yayılımının kontrolünde Panton-Valentin lökositin (PVL) geni taşıyan *S. aureus* izolatlarının tanımlanmasının önemini işaret etmektedir. MRSA izolatlarında PVL geninin saptanması, bu izolatların TK-MRSA olabileceğini düşündürmektedir. Bazı toplum kaynaklı *S. aureus* izolatları Mec-A genini taşımalarına rağmen metisilin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri çok düşük olabilmektedir. Yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde bunlar yanlışlıkla metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak tanımlanabilmektedir. Bu nedenle PVL üreten MSSA izolatlarında Mec-A geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile belirlenmesi önerilmektedir (Chang ve ark., 2003).

Bazı hastane başlangıçlı MRSA infeksiyonları toplum kaynaklı organizmalardan kaynaklanabilir ve bazı toplum başlangıçlı MRSA infeksiyonları da hastane kaynaklı organizmalardan kaynaklanabilir (Centers for Disease Control and Prevention, 1999). Mikrobiyolojik ve moleküler veriler olmaksızın sadece epidemiyolojik bilgiye dayalı CDC kriterleri tek başına TK-MRSA'yı tanımlamada yeterli olamamaktadır. Bundan dolayı klinik, epidemiyolojik ve mikrobiyolojik bilginin sentezi TK-MRSA'nın tanımlanmasında kullanılmalıdır (Smith ve ark., 1999).

*S. aureus*'un virülans faktörlerinden olan Panton-Valentin lökositin (PVL), insan polimorfonükleer hücreleri ve lökositler üzerindeki özgül litik aktivitesiyle por

oluşturarak lökositlerin yıkımına ve doku nekrozuna yol açan bir sitotoksindir (Salliot ve ark., 2006; McClure ve ark., 2006).

PVL'yi kodlayan genler, Prevost ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada klonlanıp, sekanslanarak LukS-PV ve LukF-PV olarak adlandırılmıştır. LukS-PV geni 28 aminoasitlik bir sinyal dizisi içeren 312 aminoasitten oluşan bir polipeptid, LukF-PV geni ise 24 aminoasitlik bir sinyal dizisi içeren 325 aminoasitten oluşan bir polipeptid kodlamaktadır. PVL genleri SLT fajı üzerinde taşınmaktadır (Prevost ve ark., 1995).

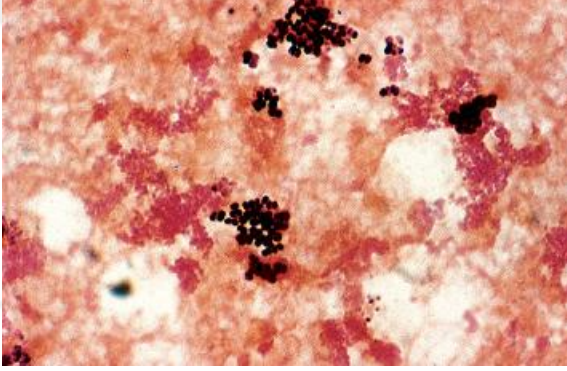
Coğrafi bölgeye ve çalışılan suşların özelliklerine göre değişmekle birlikte, klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının %5'inden daha azı PVL taşımaktadır (Lina ve ark., 1999; Diep ve ark., 2004).

Bunların çoğu metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşlarıdır. Ancak son yıllarda, PVL üreten metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının ağır nekrotik deri lezyonları ve nekrotizan pnömoni ile seyreden toplum kökenli enfeksiyonlarla ilişkili olduğu saptanmıştır (McDonald ve ark., 2005).

Çalışmamızda, Van Halk Sağlığı Laboratuvarı'na 2009-2012 yılları arasında gelen gıda işiyle uğraşan portörlerden alınan burun sürüntülerinde *S. aureus* pozitiflik oranının araştırılması, *S. aureus* pozitif olan portörlerde antibiyotik direnci, Mec-A ve PVL araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL ÖZELLİKLER

Stafilokoklar 0.5-1.5 mikron çapında, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, katı besiyerinde birbirine bakan iki dik yüzeyde bölünerek üreyen ve yavru hücrelerin birbirinden ayrılması sonucu üzüm salkımına benzeyen, sıvı besiyerinde diplokoklar veya kısa zincirler halinde görülen mikroorganizmalardır. Normalde kapsülsüz olmalarına rağmen bazı kökenlerinde belirgin bir kapsül ya da bir mukus katmanı bulunur. Basit besiyerleri dâhil birçok besiyerinde üreyebilseler de kanlı besiyerinde daha iyi çoğalırlar (Bilgehan H., 2002). Bazık boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitiflerdir.



Şekil 1. Stafilokokların gram boyamadaki görüntüsü

### 2.1. *Staphylococcus aureus*'un Kültür ve Boyanma Özellikleri

Stafilokoklar geniş bir ısı aralığında (6.5-45 °C) üreyebilen aerob ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu bakterilerin optimal üreme ısıları 30-37 °C ve pH:7-7.5'tir. Kanlı agarda 18-24 saatte yuvarlak, düzgün, 1-4 mm çapında, hafif konveks koloniler yapar. Gliserol monoasetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde 37 °C'de üretildiklerinde, karotenoidlerden dolayı pigment oluştururlar. Anaerob koşullarda ve buyyonda pigment yapmazlar.

*S. aureus* kanlı agarda beta hemoliz yapar. Şekerlerin çoğunu gaz oluşturmaksızın, asit meydana getirerek fermente eder.

**Tablo 1.** Stafilokok türlerinin belirlenmesinde kullanılan testler

Koloni morfolojisi
Pigment oluşturma
Hemolitik aktivite
Koagülaz ve diğer enzimatik aktivite
Aerobik koşullarda sükroz, trehaloz ve mannitoldan asit oluşturma
Asetil metil karbinol (Asetoin) oluşturma
Fosfataz duyarlılığı
Novobiocin duyarlılığı

Yüksek tuz konsantrasyonuna dirençlidirler ve %10 tuz içerikli ortamlarda gelişebilirler. %20'lik tuz içeren ortamlarda direnç gösteren suşları da bulunmaktadır. Tuz dışında tellurit, civa klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere ve neomisin, polimiksin gibi bazı antibiyotiklere de dirençlidirler (Gıda mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000).

## **2.2. Virülans ve Patojeniteleri**

*S. aureus* konakta infeksiyon oluştururken yapısında bulunan birçok yapısal elemanlardan, enzimlerinden ve toksinlerinden yararlanır. Bu patojenite faktörleri sayesinde fagositozdan kaçabilir, deri ve deri altına kolayca yayılabilir ve tipik apse formunu oluşturabilirler. Ayrıca toksinleri aracılığı ile farklı infeksiyonlara da neden olurlar. *S. aureus*'un virulans faktörlerinden en önemlileri aşağıda sıralanmıştır;

### **2.2.1. Kapsüler polisakkarit**

*S. aureus* klinik izolatlarının %90'ından fazlasında polisakkarid yapıda mikrokapsül bulunmaktadır. Bu kapsül bakteriyi fagositozdan korur ve konak hücrelerine ve özellikle kateter gibi yabancı cisimlere aderansini sağlayan bir tür ekzopolisakkarittir. 11 tip polisakkarit olmasına rağmen %70-80'inin tip 5 ve 8 olduğu



tespit edilmiştir. Polisakkarit üretimi kültür koşulları ve besiyerinin içeriğine bağlıdır ve bakteriyi nötrofil fagositozundan korur. Polisakkarit tip 8'in TSST üretimi ile bağlantılı olduğu ve MRSA'larda ise daha çok tip 5'in bulunduğu saptanmıştır (Çetinkaya Y., 2002; CDC, 2002).

### 2.2.2. Hücre duvarı

Hücre duvarı çok tabakalı kalın mureinden oluşur. Lineer teikoik asitler ve polisakkaritler mureindeki polisakkarit ile kovalent bağlarla bağlıdır. Stoplazma zarındaki lipoteikoikasitler tüm murein tabakası boyunca bulunurlar ve murein tabakanın dışına doğru uzanırlar. Teikoik asitler ve lipoteikoik asitler komplemanı alternatif yoldan aktive ederler ve makrofajlardan sitokin salınımını uyarırlar. Hücre duvarındaki proteinler mureinin peptid kısımlarına peptid bağlarıyla bağlıdır. Kümeleştirici (clumping) faktör, fibronektin bağlayıcı protein ve kollagen bağlayıcı protein spesifik olarak fibrinojen, fibronektin ve kollagene bağlanır ve doku ve ilgili matriks proteinleri ile kaplı yabancı cisimlere yapışmadan sorumludurlar.

### 2.2.3. Protein A

*S. aureus* hücre duvarında bulunan gruba özel bir antijen olan protein A, Wervwy tarafından 1940'ta tanımlanmıştır. Birçok memeli serumundaki IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'nin Fc parçası ile reaksiyon vermektedir. Mol ağırlığı 13.000 dalton olan küçük bir proteindir. Stafilokoklarda; ortama salınan serbest, hücreye bağlı ve hücre dışı olmak üzere 3 tip SpA bulunur (Cengiz A.T., 1999).

*S. aureus* immunglobulinlerin (IgG) Fc kısımlarına bağlanır. İmmunglobulinlerin protein A ile yanlış bağlanması opsonize edici antikorların doğru bağlanmasını engelleyerek fagositozu zorlaştırdığı kabul edilmektedir. Bazı *S. aureus* suşları polisakkarit yapısında olan ve antifagositik etkinliğe sahip kapsül oluştururlar (Fritz ve ark., 2002).

### **2.3. *Staphylococcus aureus*'un Enzimleri**

*S. aureus* çeşitli patojenik faktörlerden sorumlu birçok enzim ve toksini üretir ve salgılar. Özellikle *S. aureus* toksinlerinin saflaştırılmaları zor olduğu için patojeniteleri tam olarak anlaşılmamıştır.

#### **2.3.1. Katalaz**

Tüm stafilocoklar hidrojen peroksidi suya ve oksijene çeviren katalaz enzimini içerir. Hidrojen peroksit hem bir konak savunması olarak nötrofillerden salgılanabilir, hem de oksijenli ortamda ortaya çıkan toksik oksijen radikallerinden biridir. Katalaz enziminin varlığı stafilocokların patojeniteleri ile ilişkili bulunmuştur. Nadiren bazı *S. aureus* türleri katalaz negatif olabilir.

#### **2.3.2. Koagülaz**

Ekstraselüler bir proenzimdir. Coagulase-Reacting factor (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır. *S. aureus* için standart belirleyici olan koagülazla, patojen olan, olmayan stafilocok ayrımı yapılır. Koagülaz pozitif stafilocokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı yaptığı ileri sürülmektedir. Patojen stafilocoklar genelde; bağı (kümeleştirici faktör) ve serbest (stafilokinaz) koagülazlarına sahiptir.

Serbest koagülaz ve clumping faktör immünolojik olarak birbirinden farklı olduğu gibi, etki mekanizmaları da birbirinden farklıdır. Bu antijenlerin farklı enzimatik mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırdıkları belirlenmiştir. Tavşan plazması kullanılarak, lam ve tüp yöntemi ile koagülaz aktivitesi araştırılır.

#### **2.3.3. Serbest koagülaz**

Protein yapısındadır ve proteolitik enzimlerle, kolaylıkla inaktive edilir. Antijenik olarak 4 farklı tipi vardır. Filtrelerden geçebilir ve ısıya dirençli bir enzimdir. Bu enzim fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile plazmanın pıhtılaşmasına neden olan ve normal olarak plazmada bulunan koagülazı etkileyen faktörü (CRF) aktive etmektedir.

#### **2.3.4. Bağlı koagülaz (Clumping Factor)**

Stafilokokların hücre yüzeyinde meydana gelir ve serbest bırakılmaz. Hücre duvarına bağlı halde fibrinojeni fibrine çevirerek hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu meydana getirir. Bunun sonucu olarak stafilokoklar aglütinasyon ve kümeleşmeye uğrar. Bu enzimin patojenitedeki rolü, fagositozu önlemek üzere, bakterinin üzerine fibrin örtmesinden ileri gelmektedir. Her iki koagülaz da insan serumunu pıhtılaştırabilir (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 2000).

#### **2.3.5. Hyaluronidaz (yayılma faktörü)**

Patojen stafilokoklarda bulunan bir enzimatik aktivitedir. Bağdokusunun yapısında bulunan hyalüronik asidin depolimerizasyonunu ve bunun sonucu stafilokokların bağ dokuya invazyonundan sorumludur. Stafilokokların %90'ında bulunur (Bilgehan H., 2002; Peacock ve ark., 2005).

#### **2.3.6. Lipaz**

Lipidleri hidrolize eder. Stafilokokların yağlı deride yerleşmesini sağlar (Livermore D.M., 1995; Cengiz A.T., 1999).

#### **2.3.7. Stafilokinaz**

Stafilokokal fibrinolizin, ısıya dirençlidir. Plazminojeni plazmine aktive eder. *S. aureus*'un dokuya yayılımını kolaylaştırır.

#### **2.3.8. Penisilinaz**

*S. aureus*'un diğer önemli enzimlerinden biridir. Penisilindeki beta-laktam halkasını hidrolize ederek antimikrobiyallere direnç gelişmesine neden olur. Penisilinaz plazmidler tarafından kodlanır ve bu nedenle suşlar arasında direncin hızla yayılmasına neden olur. Ülkemizde ve dünyada penisilinaz sentezleyen stafilokoklar son derece yaygın olup oranları % 80-90 civarında değişmektedir (Livermore D.M., 1995; Cengiz A.T., 1999).

### 2.3.9. DNase

Endo ve ekzonükleaz aktivitesi ile nükleik asitleri 3'fosfomononükleotidlere parçalar (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 1999; Winn ve ark., 2006). Koagülaz pozitif *S. aureus*'ların %90-96'sında bulunan nükleaz, fosfodiesterazdır (Peacock ve ark., 2005).

Bunlardan başka stafilokokal serin proteaz (SspA), sistein proteaz (SspP), metalloproteaz (aureolysin; Aur) ve staphopain (Scp) gibi ekstrasellüler proteazlar da sentezlerler (Peacock ve ark., 2005).

### 2.3.10. Slime factor

Tryptic soy broth'a inoküle edilen KNS'lerin bazıları, ekildiği kabın yüzeyine tutunarak, adeziv bir tabaka oluşturur ki buna slime factor denir. İlk kez Christensen ve ark. tarafından gösterilmiştir. Slime maddesi amorf kapsül yapısında, glikokaliks materyali olup %40 karbonhidrat ve %27 proteinden oluşur. Çok kuvvetli antijenik yapıda olduğundan, izole edilerek tavşanlara şırınga edildiğinde, çok yüksek titrelerde antikor cevabı elde edilir. Slime özelliğinden dolayı stafilokoklar tıbbi aletlere tutunabilir. Slime faktör pozitif KNS suşlarının daha virulan ve antibiyotiklere daha dirençli oldukları bildirilmektedir. Bu polisakkarit bakterinin plastik ve metal yüzeylere aderansını artırmakta, antibiyotik difüzyonunu inhibe ederek mikroorganizmaya ulaşmalarını ve fagositozu önlemektedir

### 2.4. *S. aureus*'un Toksin ve Hemolizinleri

Toksin adını almalarının nedeni konak hücre yapısı ve fonksiyonlarını etkilemeleridir. Eksfoliatif toksin A, enterotoksinler ve TSST-1 süperantijen olarak adlandırılan bir polipeptid sınıfına dâhildirler. *S. aureus*, beş sitolitik ya da membran eritici toksin (alfa, beta, delta, gama ve Panton-Valentine lökositin), iki eksfoliatif toksin (A ve B), 8 enterotoksin ve toksik şok sendromu toksinini (TSST-1) üretebilmektedir. Sitolitik toksinler hemolizin olarak da adlandırılmaktadır. İlk dört toksinin etkileri sadece eritrositlerle sınırlı olmadığından ve Panton-Valentine lökositin (PVL) eritrositleri etkilemediğinden tüm bu toksinlerin hemolizin olarak adlandırılmasının yanlış olduğu düşünülmektedir.

Sitotoksinler nötrofilleri eriterek, lizozomal enzimlerinin açığa çıkmasına ve etraflarındaki dokuları haraplamalarına neden olur. Süperantijenler makrofajlardaki MHC-2 (major histocompatibility complex 2) moleküllerine bağlanır. MHC-2 molekülleri spesifik olarak T-hücre reseptörlerinin beta alt birimine bağlanarak T-hücrelerinin proliferasyonuna ve doku hasarını başlatacak sitokinlerin salınımına neden olurlar (Murray ve ark., 2005).

*S. aureus*'lardan en sık izole edilen toksinler aşağıdadır;

#### **2.4.1. Alfa toksin**

İlk kez 1900'de Kraus ve Clairmont tarafından tanımlanmıştır. *S. aureus* insan suşlarının ana hemolizindir. Birçok hücre membranına etkisi varsa da (lökosit, hepatosit, trombosit, fibroblast v.b.) en çok eritrositleri etkiler. Tavşan alyuvarları için hemolitik aktivitesi en fazla olmasına karşın, insan alyuvarlarına fazla bir etkisi yoktur. İnsan trombosit ve makrofajları ile doku kültürleri üzerine hemolitik etkinliği vardır. Monositler ise bu toksine dirençlidir. Alfa toksin antijeniktir, damarlardaki düz kas hücrelerini harap eder, deride nekroz oluşturur ve *S. aureus* suşlarının kanlı agarda yaptığı beta hemolizden sorumludur. Formol ile toksoid haline getirilebilir.

#### **2.4.2. Beta toksin (sfingomyelinaz C)**

Glenny ve Stevens tarafından 1935'te tanımlanmıştır. Stafilokokal sfingomyelinazdır, antijeniktir, ısıya dirençlidir. Diğer bir adı stafilotoksindir. En iyi koyun, daha az olarak da insan eritrositleri, lökosit ve fibroblastları etkiler. Eritrositlerin üzerindeki hemolitik aktiviteleri eritrosit membranının sfingomyelin içeriğine bağlıdır. Aktivasyonu için magnezyum ve kobalt iyonlarına gereksinimi vardır. Alfa toksin ile beraber stafilokokal infeksiyonlardaki doku hasarı ve apse formasyonunun oluşmasından sorumludurlar. Antitoksini ile nötralize olur ve formol toksoid haline dönüşebilir.

#### **2.4.3. Gama hemolizin**

Smith ve Price tarafından 1938'de tanımlanmış ve Möllby Wadström tarafından elde edilmiştir. Gama hemolizin 5R suşunun majör sitolizindir. Eritrositler üzerine

toksik etkilidir. İnsan, tavşan ve koyun alyuvarları duyarlı iken, at ve kuş alyuvarları dirençlidir.

#### **2.4.4. Delta hemolizin**

Williams ve Harper tarafından 1947’de tanımlanmıştır. Delta hemolizin antijenik değildir. Litik spektrumu oldukça geniştir. İnsan, tavşan, koyun ve maymun alyuvarlarını eritir. Mol ağırlığı 103.000 dalton olup, eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratan bir enzimdir. Güçlü bir yüzey aktif molekül olup biyolojik membranları deterjan benzeri bir etkiyle parçalar. Bazı memelilerde cAMP üretimini ve bağlantılı olarak su absorpsiyonunu arttırdığı ve akut diareye neden olduğu gösterilmiştir (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 1999; Winn ve ark., 2006).

İnsandan infeksiyon etkeni olarak izole edilmiş *S. aureus* suşlarının %92’sinde alfa ve delta toksinlerden en az biri, %82’sinde her ikisi birden bulunur (Waldvogel ve ark., 1999).

#### **2.4.5. Enterotoksinler**

Koagülaz olumlu stafilocok kökenleri tarafından yapılan suda erir, termostabil (kaynatmaya 30 dakika dayanıklı) ve özel antijen yapısında bir maddedir. Polipeptid yapıdadırlar. Özellikle yüksek karbondioksit atmosfer koşulları, karbonhidratlı ve proteinli besin maddeleri içeren ortamlarda üreyen stafilocoklar tarafından meydana gelir ve bu besinlerin yenilmesiyle gastrointestinal bulgularla seyreden zehirlenme tablosu ortaya çıkar. A,B,C1,C2,C3,D,E ve F olarak adlandırılan 8 çeşit stafilocok enterotoksini saptanmış olup patojen stafilocokların %50’sinin bu toksinleri yapabildikleri görülmüştür. En çok A enterotoksini oluşturulur. Enterotoksin A ve D tipleri besin zehirlenmelerinde, B tipi ise hastane infeksiyonlarında en sık karşılaşılan tiplerdir. Tümü T-lenfositlerin bir kısmını uyararak etkilerini gösterdiklerinden süperantijen grubuna dâhildirler.

Enterotoksin F TSST-1 olarak adlandırılır ve tüm toksik şok sendromlarının %50’sinden, menstürasyon ile ilişkili toksik şok sendromlarının ise % 90’ından sorumludur. Bir *S. aureus* kökeni bu enterotoksinlerden sadece birini yapabildiği gibi

birkaçını birarada da oluşturabilir (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 1999; Bilgehan H., 2002; Topçu ve ark., 2002).

#### **2.4.6. Eksfoliatif (epidermolitik) toksin**

Stafilokokların yaptığı, insanda vesiküler ve eksfoliatif deri lezyonlarından sorumlu toksindir. Molekül ağırlığı 24.000 daltondur ve ekzotoksin niteliğinde bir proteindir. Stafilokok infeksiyonlarının dermatolojik belirtilerinden sorumlu eksfoliatin *S. aureus* buyyon kültürlerinden izole edilebilir. Epidermisin stratum granulosum tabakasındaki hücrelerin desmoglein reseptörlerine bağlanarak, desmosom bağlarının kopmasına neden olur. Haşlanmış deri sendromuna neden olan eksfoliatin, epidermal nekroz ve dermatit oluşturan 2. faj grubuna aittir. Toksin yeni doğmuş farelere şırınga edilirse, jeneralize eksfoliasyona neden olur. Kavlamış deri sendromuna neden olan eksfoliatin, 1971'de bulunmuştur. Antijenik ve biyolojik özellikleri bakımından 2 çeşit eksfoliatin bulunduğu bildirilmiştir. Bu toksine karşı nötralizan ve presipitan antikorlar meydana gelir. Formaldehidle toksoide dönüşür. Eksfoliatin A, bakteri kromozomundaki bir gen tarafından oluşturulan, termostabil ve EDTA ile inaktive olan bir enzimdir ve 100 °C'de 20 dakika, Eksfoliatin B ise plazmid kaynaklı olup, 60°C'de 30 dakika ısıtılmaya dirençlidir ve EDTA'ya dayanıklı bir toksindir. Eksfoliatin oluşturan stafilokokların çoğunluğu toksin sitoliz ya da inflamasyon yapmadığından epidermis tabakalarının gram boyamasında stafilokoklara ya da lökositlere rastlanılmaz. Bu da tanı koydurucu bir özelliktir (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 1999; Bilgehan H., 2002; Winn ve ark., 2

#### **2.4.7. TSST**

TSST-1 ilk kez 1978 yılında tanımlanmış olan ateş, diyare, eritrodermi, mental konfüzyon ve refrakter hipotansiyon ile karakterize olan toksik şok sendromundan (TSS) sorumlu tutulan süperantijendir (Prevost ve ark., 1995).

Bu özgül toksini salgılayan *S. aureus*'ların hastane kaynaklı olabileceği bildirilmektedir. TSS menstrasyonla ilişkili olan ve olmayan olmak üzere iki tiptir. Menstruel TSS'da %90 TSST-1 sorumludur. Menstruel olmayan TSS'da ise %50 TSST-1, kalan olgularda enterotoksin B ve C salgılayan *S. aureus* sorumludur.

Menstrasyon gören kadınların büyük bir yüzdesinin kullandığı tamponların, *S. aureus*'un vajinal kolonizasyonunu kolaylaştırdığı belirtilmektedir. Faj 1 grubundan 29 ve 52 tipleri TSST-1 oluşturmaktadır (Hiramatsu ve ark., 1997; Bilgehan H., 2002).

#### **2.4.8. Panton-Valentine lökositin (non hemolitik lökositin)**

Diğer por oluşturan lökositinlerin aksine Panton-Valentine lökositin (PVL) eritrositleri haraplamaz, lökositler ve makrofajları etkiler. Lökositin lökositleri harap ettiğinden ve fagositozu engellediğinden, virülansta rolü olan bir elemandır. PVL geni bakteriye bir bakteriyofaj aracılığıyla geçer. Toksin elektroforetik olarak LukF (hızlı) ve LukS (yavaş) iki komponente ayrılır ve her iki komponent de antijeniktir. PVL LukS-PV ve LukF-PV tarafından kodlanır. LukS komponenti öncelikle polimorfonükleer nötrofillerdeki spesifik reseptörüne bağlanır. Daha sonra LukF parçası da bu komponente bağlanır. Bu sıra ile bağlanan alt birimler heptamer (7'li) bir yapı oluşturarak lökosit üzerinde bir por oluşmasına neden olurlar. Por oluşumu, konak hücre protein kinazının LukS komponentini fosforile etmesiyle başlar. Bu da kalsiyum iyon kanallarını indükleyerek hücre içi haberleşme mekanizmasını aktive ederek interlökin ve inflamatuvar medyatörlerin salgılanmasını artırır. PVL bu mekanizmalarla ortamdaki yoğunluğuna göre hedef hücrede apoptozise ya da hücre lizisine yol açar. İntradermal olarak tavşana enjekte edildiğinde ciltte eritem ve nekroza neden olur. Özellikle pulmoner ve deri enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Cengiz A.T., 1999; Boyle-Vavra ve ark., 2007).

Tüm dünyada ciddi bir sorun olarak ortaya çıkan PVL, MRSA ve MSSA suşlarının her ikisinde de bulunabilir. PVL genine sahip toplum kökenli metisiline dirençli *S. aureus* suşları, tüm dünyada *S. aureus* enfeksiyonlarında büyük bir öneme kavuşmuştur. Bu enfeksiyonlara sadece MRSA değil, *S. aureus* suşları da neden olmaktadır.

#### **2.5. *Staphylococcus aureus*'larda Metisilin Direnci**

*S. aureus*'ta metisilin direnci DNA segmentinde lokalize 2kb'lik Mec-A geni tarafından kodlanan penisilin bağlayan protein-2a yapımına bağlıdır. Mec-A; *S. aureus* kromozomu içine entegre genetik eleman stafilokok kromozomal kaset mec içinde



bulunmaktadır. PBP'ler peptidoglikan sentezinde yer alan enzimlerdir. Molekül ağırlıklarına göre 1-4 arası sayılar ile isimlendirilir. PBP'ler biri stoplazmik membrana gömülü, biri periplazmik aralıkta bulunan iki kısımdan oluşur. Bunlar arasında transpeptidazlar "yüksek molekül ağırlıklı PBP"; D-D karboksipeptidazlar ise "düşük molekül ağırlıklı PBP" olarak adlandırılırlar. PBP değişimine bağlı direnç, Gram pozitif bakterilerde daha fazla görülmektedir ve günümüzde özellikle *S. pneumoniae* ve *S. aureus* gibi türlerin beta-laktam ajanlarla tedavisinde sorun yaratmaktadır. Bu tip dirence yol açan genetik özellikler arasında en iyi incelenmiş olanı metisiline dirençli *S. aureus* suşlarında bulunan Mec-A genidir. Bu gen beta-laktam ajanlara bağlanmayan veya düşük oranda bağlanan ve PBP2a olarak adlandırılan yeni bir penisilin bağlayan protein yapımına neden olur.

PBP2a ampisiline oldukça iyi bağlanmasına karşın tüm beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaktadır. Hemen tüm MRSA suşlarının beta-laktamaz üretmesi ampisilinin kullanımını kısıtlamaktadır, ancak invitro ve hayvan çalışmaları ampisilinin bir beta-laktamaz inhibitörü ile kombinasyonunun etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bugüne kadar insanlarda MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde bu kombinasyonların kullanımını destekleyen klinik veri yoktur.

Mec-A geninin kaynağı bilinmemektedir. Kemirgen ve memelilerde bulunan bir stafilkok türü olan *S. sciuri* 'de bir Mec-A homologu tanımlanmıştır. İki ürün enzimin incelenen aminoasit dizileri tüm proteinlerde %88 benzerlik, transpeptidaz bölgesinde %91 özdeşlik göstermektedir. *S. sciuri* metisiline dirençli değildir, bu da genlerinde etkin bir promotor olmamasına bağlı olabilir.

*S. aureus*'ta metisilin direncinin ekspresyonu genin üst bölgesindeki mecI geninin veya beta-laktamazın ekspresyonunun düzenleyen homolog blaI geninin ürünü ile trans olarak (Mec-A ve beta-laktamaz genlerinin promotor bölgeleri benzerlik göstermektedir) kontrol edilmektedir, ancak bu etkileşimin kesin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İndüksiyonun etkinliği mekanizmaya göre değişiklik göstermektedir, bu da metisiline direnç fenotipinin saptanmasında güçlükler neden olmaktadır. Laboratuvarlarda direncin gösterilebilmesi için çeşitli teknikler kullanılmaktadır ve son zamanlarda fenotipik ifade atlanarak doğrudan Mec-A geninin tanımlanması ya da PBP2a proteininin saptanmasına yönelik teknikler geliştirilmiştir.

MecA geni kromozomun stafilokokal kaset kromozom mec (SCCmec) bölgesi olarak bilinen daha büyük bir bölgesinde yer almaktadır. Artık SCCmec'in hareketli bir element olduğu, hareketin ccrA ve ccrB genleri tarafından oluşturulduğu bilinmektedir. SCCmec'in temel öğeleri mecRI-mecI-pbp2a bölgesi ve ccrA'dır. Yeni toplum kaynaklı *S. aureus* izolatlarında SCCmec kompleksine çok az ekleme olmuştur. Bu nedenle, bu izolatlardaki SCCmec bölgeleri oldukça küçüktür ve izolatları sadece beta-laktamlara dirençlidir. Hastane izolatlarında zaman içinde çoklu dirence yol açan plazmid ve transpozonların birikimi nedeniyle SCCmec bölgeleri daha büyüktür. İnvitro olarak SCCmec elementinin geçirilebildiği gösterilmişse de klinik izolatlar ile yapılan çalışmalarda tip 4 SCCmec elementinin yeni kazanılmış olduğunu gösteren güçlü bulgular vardır. Tipik olarak 40kb'lik stafilokok bakteriyofajından küçük olmaları tip 4 SCCmec'in transdüksiyon ile geçtiğini düşündürmektedir. SCCmec'in tip I-III'lerin yapılarının büyük olması bu tip transferi olanaksız kılmakta, suştan suşa direnç determinantının geçmesi yerine MRSA'nın hastanede insandan insana bulaşının yaygın olması için bir açıklama getirmektedir. Mec bölgesinin stafilokok suşları arasında geçişi hiçbir zaman tam olarak saptanamamıştır. Bu nedenle MRSA'ların kurumlarda yayılımı daha çok dirençli bakterilerin büyük olasılıkla geçici olarak kolonize olan sağlık çalışanlarının ellerinde hastadan hastaya geçişine bağlıdır. Tek bir suş bir hastaneye ve tüm şehre yayılmıştır. Yeni bulgular değişik *S. aureus* klonları arasında Mec-A'nın dayanıklılığının farklı olduğunu göstermektedir, bu da direnç determinantının bulunduğu soyların kısıtlılığına bir açıklama getirebilir (Cengiz A.T., 1999; Bilgehan H., 2002; Boyle-Vavra ve ark., 2007; Cunnington ve ark., 2009).

### **2.5.1. Toplum kökenli metisilin dirençli *S. aureus* ile hastane kökenli metisilin dirençli *S. aureus*'un epidemiyolojisi**

1990'lı yıllardan önce MRSA suşlarının sadece hastane kaynaklı olduğu düşünülmekteydi. Toplum kaynaklı MRSA'ların da hastaneden topluma geçtiği düşünülmekteydi. Hastane kaynaklı MRSA ile Toplum kaynaklı MRSA arasındaki genotipik farklılığın keşfinden sonra, toplum kaynaklı MRSA'ların toplumda bulunan MSSA suşlarından evrimleştiğini kabul görmüştür. HK-MRSA ile TK-MRSA suşlarını birbirinden ayıran 3 önemli genotipik belirteç; genetik soy, metisilin direncini taşıyan genetik yapı ve PVL'dir.

Hastane kökenli MRSA genellikle stafilokokal kaset kromozom mec 1,2 ve 3 taşımaktadır. TK-MRSA ise SCC mec 4 ve 5 kaset kromozomu taşımaktadır. Büyük boyutlu olan SCC mec 1,2 ve 3, SCC mec 4 ve 5'te olmayan betalaktam antibiyotiklere karşı direnç genleri bulundurmaktadır. TK ve HK-MRSA arasındaki diğer önemli fark ise TK-MRSA suşlarında PVL genlerini taşıyan, entegre bir bakteriyofaj varlığıdır. Epidemiyolojik veriler TK-MRSA suşlarının yüksek virülans potansiyelinin PVL kodlayan gen varlığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. PVL, *S. aureus*larda %5 oranında bulunmasına karşın toplum kaynaklılarda %90 oranına kadar çıkmaktadır.

1970'li yıllarda *S. epidermidis*'te bulunan SCC mec 4 geni *S. aureus*'a transfer olmuştur. Çalışmalarda TK-MRSA suşlarında daha çok SCC mec 4 geninin varlığı gösterilmiş, son yıllarda ise tip 5'in de varlığı saptanmıştır.

SCC mec tip 4 kaset genleri kısa ve küçük yapısıyla hareketli olup, plazmid veya bakteriyofaj ile diğer klonlara transfer olabilmesi nedeniyle stafilokoklar arasında kolaylıkla yayılabilir. TK-MRSA altta yatan bir hastalığı ve hastanede uzun süre yatış öyküsü bulunmayan hastalardan izole edilebilmektedir. HK-MRSA genellikle pnömoni, sepsis, üriner sistem enfeksiyonu şeklinde görülürken, TK-MRSA pnömoni, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olur. TK-MRSA ile HK-MRSA'nın enfeksiyon ayrımı TK-MRSA hastaneye yattıktan en geç 48 saat içinde üreme olmasıyla yapılır (Frazee ve ark., 2005; Moran ve ark., 2006; Boyle-Vavra ve ark., 2007; Cunnington ve ark., 2009).

## **2.6. *Staphylococcus aureus*'un Neden Olduğu Hastalıklar**

*S. aureus*'un yaptığı enfeksiyonları dört grup içinde incelemek mümkündür;

1. Deri enfeksiyonları
2. Septisemi-endokardit
3. Organ enfeksiyonları
4. Toksinle olan hastalıklar

### **2.6.1. Deri enfeksiyonları**

İnsanlarda en sık görülen enfeksiyon tipidir. Püstüler ve bebeklerde kavlamış deri sendromu da görülür. Lokal lezyonu deri kavlaması izler. Yeni doğanda eksfoliatif dermatit(Ritter's hastalığı) yapar. Lohusalarda stafilokokal mastitler gelişebilir.

#### **2.6.1.1. İmpetigo**

İmpetigo şeklindeki lezyonlar, yeni doğanlarda ve çocuklarda daha çok görülür. İmpetigo derinin yüzeysel tabakalarında kabuklu püstüllerin oluşumu ile karakterizedir. Çok bulaşıcıdır (Hiramatsu ve ark., 1997; Cengiz A.T., 1999). Kırmızı bir makul seklinde başlayan lezyon üzerinde ortaya çıkan veziküller hızla rüptüre olur ve sarı kurutlu hal alır. Sistemik semptomlar görülmez.

#### **2.6.1.2. Follikulit**

Kıl follikülü ve apokrin bölgeyi içine alan piyodermidir. Lezyonları sıklıkla ortasından kıl çıkan, küçük eritemli, kaşıntılı püstüldür. Çocuklarda saçlı deride, erişkinlerde sakal bölgesinde, koltuk altında, uzuvlarda ve kalçalarda görülür. Kötü hijyen, nemli sıcak havalar predispozan faktörlerdir. Sistemik semptom bulunmaz ve lokal antiseptik tedavi yeterlidir (Hiramatsu ve ark., 1997).

#### **2.6.1.3. Fronkül ve karbonkül**

Fronkül genellikle follikülitin ilerleyerek derin inflamatuvar bir nodül oluşturması ile gelişir. Halk arasında daha çok ‘‘çıban, kan çıbanı’’ olarak bilinir. Kıl dokusundan zengin olan yüz, boyun, koltukaltı ve kalça bölgesinde oluşur. Fronkül kabarcık şeklinde, lokal bir lezyon görünümündedir. İnfeksiyon derialtı dokuya penetre olduktan birkaç saat sonra ödem, kırmızılık ve ağrı oluşur. Ödemli bölgenin üzerindeki deri parlak ve incedir. Kısa bir süre sonra delinir. İrin krem renginde veya sarımsıdır. Spontan ruptur veya cerrahi insizyon ile drene olur. Otoinokülasyona bağlı olarak sıklıkla satellit lezyonlar gelişir. Sistemik semptom genelde yoktur, ancak hafif ateş ve halsizlik olabilir. Özgül tedavisi yoktur.

Karbonkül (aslanpençesi), birden fazla fronkülün apseleşerek yayılması ile oluşur. Yara olgunlaştığında spontan olarak drene olabilir. Boyun, sırt ve kalçalara

yerleşir (Cengiz A.T., 1999). Hipertrofik skar dokusu şeklinde iyileşen santral nekrotik ülser oluşumu mevcuttur. Ateş ve halsizlik genelde mevcuttur. Bakteriyemi kaynağı olabilir ve sistemik antibiyotik tedavisi gerektirir (McDougal ve ark., 2003).

#### **2.6.1.4. Selülit**

Alt dermis ve subkutan yağ dokusunun tutulduğu akut bir enfeksiyondur. Basit olguların büyük çoğunluğundan grup A streptokoklar veya *S. aureus* sorumludur. Tipik olarak uzuvlarda hassasiyet, ağrı ve eritem ile başlar. Lezyonun deri üzerindeki sınırları, erizipelin tersine, belirgin değildir. Bölgesel lenfadenopati (LAP) ve lenfanjit sıktır. Lokal apseler ve nekroz olabilir. Selülit; enfeksiyonun lenfatikler ile yayılım riski olduğundan, ciddi bir enfeksiyondur. Travma (sıyrık, kesi), postoperatif yara yeri veya deri lezyonları zemininde gelişebileceği gibi, intakt deride hematogen yolla da gelişebilir. Nadiren de altta yatan enfeksiyon odağından (osteomyelit, apse) komşuluk yoluyla gelişir. Predispozan faktörler; obezite, kütanöz yaralar, venöz yetmezlik ve lenfatik obstrüksiyondur. Ciddi olgularda bakteriyemi ile birlikte ateş, taşikardi, konvüzyon ve hipotansiyon gelişebilir. Polimorfonükleer lökositoz görülür. Peteşi ve ekimoz beklense de, yaygın olması ve sistemik toksisite bulguları ile birlikte olması durumunda nekrotizan fasiit ekarte edilmelidir. Ayırıcı tanıda; akut dermatit, ürtiker, kütanöz inflamasyon ile seyreden gut ve herpes zoster enfeksiyonları düşünülmelidir. Tanı erken konulmalı ve tedavi süratle başlanmalıdır. Hidradenitis suppurativa aksiler, perineal, genital bölgelerde apokrin ter bezlerinin piyojenik enfeksiyonudur. Çok sayıda sinus ağzı vardır. Spontan drenajı takiben skar dokusu ile iyileşir. Genital bölge tutulumu lenfogranuloma venerum ile karışır. Oral antibiyotik tedavisi sadece sistemik semptomlar olduğunda gereklidir.

#### **2.6.1.5. Mastit**

Emziren annelerde %1-3 oranında stafilokokal meme enfeksiyonları gelişir (Diep ve ark., 2004). Ağrılı, eritemli nodülden kanaliküler abseye kadar değişen klinikle karşımıza gelebilir. Genelde doğumdan sonra 2-3. haftada gelişir. Yüksek ateş ve sistemik semptomlar eşlik eder. Topikal tedaviye ek olarak sistemik antibiyotik tedavisi ve absenin cerrahi drenajı faydalı olur.

### **2.6.1.6. Yara enfeksiyonları**

Derinin normal flora elemanı olduğundan cerrahi alan enfeksiyonlarının majör etkenlerindedir (Osiyemi ve ark., 2000). Cerrahi girişim sonrası ikinci ya da daha sonraki günlerde yara etrafında ödem, eritem ve ağrı gelişir. Derin dokulara yayılım yoksa dikişlerin alınması, tekrarlayan pansuman ve 7-10 günlük antibiyotik tedavisi yeterlidir. Sistemik semptomlar yoksa sistemik antibiyotik tedavisi tartışmalıdır. Protez gibi yabancı cisim olması veya derin dokuların (kemik gibi) tutulması halinde 4-6 hafta gibi uzamış antibiyotik tedavisine ek olarak yabancı cismin çıkarılması gerekebilir. Yara enfeksiyonlarında iyileşme hastanın eşlik eden hastalıklarına bağlıdır. Diabetiklerde ve vasküler yetmezlikli hastalarda yara iyileşmesi oldukça uzar (Hiramatsu ve ark., 1997).

### **2.6.2. Bakteriyemi ve endokarditler**

#### **2.6.2.1. Toplum başlangıçlı bakteriyemi**

Toplum başlangıçlı *S. aureus* bakteriyemisi ile karşılaşıldığında hasta bütün olarak değerlendirilmeli, eğer altta yatan bir faktörün olmadığı, öncesinde sağlıklı bir hasta ise genelde hassas bakterilerle olan ve bir enfeksiyon odağının veya endokarditin eşlik ettiği enfeksiyonlar olduğu akılda tutulmalıdır. Eşlik eden medikal faktör olduğunda ise hastane suşları ile benzerlik göstererek MDR olabileceği göz önüne alınıp ona göre ampirik antibiyotik tedavisi düzenlenmelidir.

#### **2.6.2.2. Nozokomiyal bakteriyemi**

Genelde intravasküler veya üriner kateter varlığı gibi invazif medikal girişimler ile ilişkilidir. Komplikasyon olarak metastatik periferik enfeksiyonlar gelişebilir. Nozokomiyal *S. aureus* bakteriyemisi hastanede gelişen bütün febrilseptik epizodun ayırıcı tanısında düşünülmelidir (Hiramatsu ve ark., 1997).

#### **2.6.2.3. Endokardit**

Doğal kapakta gelişen infektif endokardit *S. aureus* bakteriyemisinin en ciddi komplikasyonlarından biridir. Ateş ve metastatik abselerle seyreder. Valv replasmanı yapılsa da uygun antibiyoterapiye rağmen letal seyredebilir. Tipik olarak akut multiple,

periferal septik emboli, kapakdestrüksiyonu, miyokardit ve mikst kardiyojenik ve septik şokla gider (Cengiz A.T., 1999; Topçu ve ark., 2002).

### **2.6.3. Organ enfeksiyonları**

#### **2.6.3.1. Pnömoni**

*S. aureus* toplumdan kazanılmış pnömonilerin %10'undan sorumlu iken hastanede kazanılmış pnömonilerde %20-30 oranında izole edilmiştir (Osiyemi ve ark., 2000). TK-MSSA pnömonisi daha çok viral alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra, bakımevlerinde kalan 75 yaşından büyük yaşlı hastalarda, diyabet ve alkolizm gibi predispozan faktörlere sahip hastalarda görülür (Hiramatsu ve ark., 1997). Hastane kokenli *S. aureus* pnömonisi entübasyon veya aspirasyon ile ilişkili meydana gelir. Stafilokokal pnömonide, abse oluşumuna eğilim vardır. Akciğer parankim harabiyeti ile 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 edilebilir. *S. aureus* pnömonisi tipik olarak hızla doku destrüksiyonu ve kavitasyona ilerleyen nekrotizan enfeksiyondur. Komplike olmayan vakalar 10-14 günlük süre ile tedavi edilirken endokardit eşlik ediyorsa en az 4 haftaya uzatılmalıdır (Hiramatsu ve ark., 1997; Cengiz A.T., 1999).

#### **2.6.3.2. Osteomyelit**

Yara ve fronkül gibi primer bir odaktan hematogen yayılım sonucu, *S. aureus* tarafından daha çok çocuklarda meydana getirilen osteomyelit, çocuklarda uzun kemiklerin diafizinde görülür. Yaşlılarda ise vertebral osteomyelit sıktır. Hematojen yayılım veya kirli kontaminasyon sonucu kemiği infekte eder. Klinik olarak akut ve kronik formda karşımıza çıkabilir.

Akut form genelde çocuk ve yaşlılarda hematogen yayılımla oluşur. %50 vakada kan kültürleri, %65 vakada doku kültürleri pozitif bulunur (Hiramatsu ve ark., 1997). Ateş yükselmesi, subperiostal abseler, kemik üzerinde ağrı ve üşüme- titreme vardır. Kemik sintigrafisi ve manyetik rezonans tanıda yardımcıdır (Cengiz A.T., 1999).

### **2.6.3.3. Septik artrit**

Çocuklarda ve erişkin artritlerinde *S. aureus* en sık sorumlu olan etkindir (Hiramatsu ve ark., 1997; Turnridge ve ark., 2000). Lokal travma sonucu, hematogen veya iyatrojenik olarak gelişebilir. Erişkinlerde romatoid artrite bağlı olarak gelişebilir.

### **2.6.3.4. Septik bursit**

En sık diz ve dirsek eklemleri tutulur. Septik artritte görülen eklem hareketlerindeki kısıtlılık burada yoktur. Antistafilokokal antibiyotikler 2-3 hafta süreyle verilmelidir. Tekrarlama durumunda cerrahi eksizyon düşünülebilir (Hiramatsu ve ark., 1997).

## **2.6.4. *S. aureus*'un toksinleriyle yaptığı hastalıklar**

### **2.6.4.1. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu**

Eksfoliatin A ve B salgılayan suşlar tarafından oluşturulur. Geniş bir klinik spektruma sahiptir. Buloz impetigo en sık görülen formudur. Ciddi sepsis, sıvı-elektrolit kaybı sonucunda hipovolemi, sepsis sendromu ve %1-10 oranında ölüm görülür. Tam düzelme genelde 10 günde olur (Jevons M., 1961). Tutulan deri bölgesinde *S. aureus* gösterilemez.

Ayırıcı tanıda toksik epidermal nekrolizis, diğer buloz hastalıklar ve toksik şok sendromu düşünülmelidir. Tedavide  $\beta$ -laktamazlara direcli  $\beta$ -laktamlar parenteral olarak kullanılmalıdır. Destekleyici tedavi olarak deri bakımı ve sıvı-elektrolit kaybının yerine konması sayılabilir.

### **2.6.4.2. Toksik şok sendromu**

Bu sendrom 1978'de Told ve ark. tarafından, yeni bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Bu hastalık *S.aureus*'un toksik şok sendromu toksini-1 ile meydana gelmektedir. TSS, primer olarak TSST-1 üreten *S. aureus* 'un lokal infeksiyonu sonucu oluşan, septik şoka benzer bir klinik tablodur. Bu sendrom ateş, bulantı, kusma, diyare, yaygın döküntüler, el ve ayak tabanında eksfoliasyon kızılın yüzeysel formlarına benzemektedir.



TSS, 20-40 yaşındaki kadınlarda daha sık görülmekte ve menstrasyon sırasında kullanılan tamponların, vajinada *S. aureus* kolonizasyonuna yol açmasıyla ortaya çıkmaktadır. TSST-1 ekzotoksini, aerobik koşullarda en fazla üretilmektedir. Vajinal yol nispeten anaerobik olmasına karşın, hava cepleri bulunan tamponlar oksijenli ortam yaratarak, toksin üretimini kolaylaştırmaktadır. Tamponla birlikte gelişen TSST-1, kan dolaşımına girerek, belirtilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca yara enfeksiyonları, postpartum enfeksiyonlar ve burun içi tampon kullanımlarında da, *S. aureus*'a bağlı TSS gelişebilir. Ancak olguların %80 kadarı menstürel tamponlarla ilgili bulunmuştur. Vajinal veya yara kökenli olguların tümünde *S. aureus* gözlenmiştir.

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

**1-**İnterlökin-1 ve tümör nekrozis faktör- alfa (TNF-alfa) gibi sitokinlerin salınımını tetikler. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritleri gibi (LPS) aynı yoldan etki ederek, şok nedeni olur.

**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 (Cengiz A.T., 1999).

Tedavide şok ve sistemlere yönelik komplikasyonlara öncelik verilmelidir. Tampon varsa uzaklaştırılmalı, uygun antibiyotik tedavisine hızla başlanmalıdır. Bakteriemi olmadığında 10-15 gün tedavi verilmelidir.  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin TSST-1 yapımını artırdığı ileri sürüldüğünden alternatif olarak makrolidler tedavide seçilebilir. Ağır vakalarda intravenöz immunglobulin (IVIG) tedaviye eklenebilir.

#### **2.6.4.3. Besin zehirlenmeleri**

En fazla görülen bakteriyel zehirlenme şeklidir. Hastalık enterotoksin B ve diğer enterotoksinlere bağlı olarak gelişir. Toksin ısıya dirençli olup kaynatma veya pişirme ile inaktive olmaz. Bu toksini taşıyan besinlerin yenilmesinden birkaç saat sonra (2-6)

meydana gelir. Uygun olmayan ortamlarda saklanmış sütlü tatlılar, konserveler, süzme peynir, etli yiyecekler, patates salataları ve dondurma gibi yiyecekler besin zehirlenmelerine yol açar. 2-6 saatlik inkübasyon süresinden sonra bulantı, kusmayla başlayıp ishale devam eder. Ateş ve nörolojik bulgu yoktur. Prognoz iyi olup tüm semptomlar sekiz saatte düzelir. Tedavide sıvı-elektrolit kaybının yerine konması esastır. Antibiyoterapi gerekmez (Cengiz A.T., 1999; Waldvogel ve ark., 1999; Topçu ve ark., 2002).

## **2.7. Tanı**

### **2.7.1. Koloni morfolojik görünümü**

Seçici olmayan kanlı agar, nutrient agar, triptik soy agar veya beyn kalp infüzyon agarda izole edilen stafilokok türlerinin çoğunluğu 24 saat içinde 1-3 mm çapında ve türe bağlı olarak 34-37 °C 'de havada 3 günlük inkübasyon sonrası 3-8 mm çapında koloni oluştururlar.

Tipik *S. aureus* kolonileri 24 saatte sarı-portakal rengi, düzgün, bütün, hafif kabarık ve rutin kanlı agarda hemoliz oluşturur. Belirgin kapsül oluşturan nadir suşlar parlak ve ıslak görünüme sahip olabilir.

Tipik KNS kolonisi pigmentsiz, düzgün, bütün, parlak, hafif konveks kabarık ve opaktır. Kuvvetli slime tabakası oluşturan nadir türler mukoid koloni morfolojisi gösterirler.

### **2.7.2. Gram boyama**

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

incelenir ve mor renkli üzüm salkımına benzer şekilde kümeleşmiş koklar stafilokok olarak tanımlanır (Arda M., 2000; Cengiz A.T., 2004).

### **2.7.3. Koagülaz**

Plazmadaki fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalizleyerek bakteriyi konağın savunma sisteminden korur. Koagülaz tayininde EDTA'lı tavşan plazması kullanılır. Bazı enterokoklar sitratlı plazmaları kullanıp yalancı pozitiflik oluşturabilir. Bağlı ve serbest koagülaz olmak üzere iki tipi vardır.

#### **2.7.3.1. Lam koagülaz-bağlı koagülaz(Clumping faktör)**

Temiz bir lamın uca yakın kısımlarına birer damla saf su damlatılır. Kuşku stafilokok kolonilerinden öze ile alınarak bu iki damlayla karıştırılıp homojen süspansiyonlar elde edilir. Bu süspansiyonlardan birinin üzerine plazma, diğerinin üzerine negatif kontrol olarak fizyolojik tuzlu su damlatılır ve elde çevirme hareketleri yaparak karıştırılır. Olumlu sonuçlarda 10-30 saniye sonra plazma eklenen damlada stafilokokların birbirine yapışması nedeniyle gözle görülür bir kümeleşme oluşur. Bunun nedeni hücre duvarının yüzeyinde bulunan clumping faktördür. Bu faktör plazmadaki fibrinojenle reaksiyona girer ve hızlı hücre aglütinasyonuna yol açar. Yüksek tuz oranı otoaglütinasyona yol açabileceğinden mannitol salt agar gibi besiyerlerindeki kolonilerden çalışılmamalıdır. Lam koagülaz negatif olan suşlar tüp koagülazla doğrulanmalıdır. *S. lugdunensis* ve *S. schleiferi sp. schleiferi* lam koagülaz pozitif olabilir (Freney ve ark., 1988).

#### **2.7.3.2. Tüp koagülaz-serbest koagülaz**

Test çalışılırken bir koloniden öze ile alınan örnek plazma içinde ezilerek emülsiyon haline getirilir. 37°C'lik su banyosunda bekletilip 1. ve 4. saatlerde pıhtı oluşumuna bakılır. Eğer pıhtı oluşmazsa 1 gece oda ısısında bekletilir. Fakat bazı suşlar fibrinolizin oluşturabileceğinden fazla beklemesi yalancı negatif sonuç verebilir. Pıhtılaşmanın nedeni ekstrasellüler sekrete edilip, plazmadaki CRF (coagulase reacting factor) ile birleşerek fibrinojeni fibrine çeviren koagülaz enzimidir. Bazı koagülaz negatif stafilokoklar (*S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini*, *S. schleiferi sp. schleiferi*) da pozitif reaksiyon verebilir. Koagülaz tayini *S. aureus* ile diğer koagülaz negatif

stafilokokların ayırımında kullanılan temel testlerdedir. *S. aureus* hem lam koagülaz, hem de tüp koagülaz pozitifdir (Winn ve ark., 2006).

#### **2.7.4. Katalaz testi**

Katalaz testi stafilokokları streptokoklardan ayırımında kullanılan temel testlerden biridir. Katalaz, bakteriyi toksik oksijen radikallerinden koruyan bir sitokrom oksidaz enzimidir. Test %3'lük hidrojen peroksit lama öze yardımıyla alınan kolonilerin üzerine damlatılarak bakılması prensibine dayanır. Stafilokoklardaki katalaz enzimi hidrojen peroksiti, su ve oksijene ayırır. Açığa çıkan oksijenden ötürü hızlı bir gaz çıkışı (kabarcık) gözlenir ve bu pozitif olarak değerlendirilir. Tercihen kanlı olmayan bir besiyerinden yapılmalıdır. Çünkü kanlı besiyerlerinde mevcut olan eritrositlerde de bir miktar katalaz olabilir ve yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Tüm stafilokoklar katalaz pozitifdir (Winn ve ark., 2006).

#### **2.7.5. Lizostafin**

Stafilokokların hücre duvarındaki peptidoglikan tabakadaki glisinden zengin pentapeptid köprülerini yıkan bir tür endopeptidazdır. Test çalışılırken, içinde yeterince glisin bulunan Mueller-Hinton agara 0.5 Mc Farland bulanıklığında inoküle edilmiş bakteri üzerine 10µg lizostafin içeren disk konulup, 24 saat 35°C'deki inkübasyondan sonra değerlendirilir. 10-16 mm zon çapı duyarlı kabul edilir. Tüpte yapılacaksa 200µg/ml lizostafin bakteri süspansiyonuna eklenir ve 35°C'de 2 saat sonra bulanıklığın kaybolması pozitif olarak değerlendirilir. Lizostafin testi stafilokokların mikrokoklardan ayırımında kullanılır. Stafilokoklar lizostafine duyarlıdır, mikrokoklar ise dirençlidir (Hiramatsu ve ark., 1997).

#### **2.7.6. Furozolidon**

Mikrokoklarla stafilokokları ayırt etmede kullanılan bir test olup bakteri 0.5 Mc Farland bulanıklığında koyun kanlı agara inoküle edilir. Besiyerine 100µg furozolidon içeren disk yerleştirilir ve 35°C'de 18-24 saat inkübe edilir. 15 mm'den geniş zon duyarlı kabul edilir. Stafilokoklar furozolidona duyarlı sonuç verir. Mikrokoklar ise 6 – 9 mm arası zon verir ve dirençli kabul edilir (Hiramatsu ve ark., 1997).

### 2.7.7. Basitrasine duyarlılık testi

Stafilokokları mikrokoklardan ayırmak için kullanılan bir testtir. Stafilokoklar basitrasine dirençli iken, mikrokoklar duyarlı olup 10mm'nin üzerinde zon oluştururlar (Murray ve ark., 2005).

### 2.7.8. Thermostable endonükleaz testi

*S. aureus*'un ısıya dayanıklı deoksiribonükleaz oluşturması temeline dayanır. TNase metakromatik agar difüzyon ve DNA-toluidin blue agar ile saptanabilir. Toluidin blue agarlı ticari TNase testi mevcuttur ve sonuçlar 4 saat içinde yorumlanabilir.

Testin uygulanışında standart bir mikroskop lamı üzerine 3 ml toluidin-blue DNA agar ilave edilir. Agar katılaştıktan sonra 2 mm çapında kuyucuklar açılır. Açılan 10-12 kuyucuğa su banyosunda 15 dakika tutulmuş örneklerden 0.01 ml ilave edilip nemli ortamda 4 saat 35°C'de inkübe edilir. Bu sürenin sonunda toluidin mavisi içeren agarda DNA'nın parçalanmasıyla açığa çıkan oligonükleotidler nedeniyle parlak pembe-kırmızı ya da mor renkli, 1 mm kalınlığında hale oluşması pozitif olarak değerlendirilir (Bilgehan H., 2002; Winn ve ark., 2006).

### 2.7.9. DNase

Bazı *S. aureus* suşlarının tüp koagülaz ve katalaz testleri zayıf ya da belirsiz sonuçlanabilir. Böyle durumlarda *S. aureus*'u özellikle katalaz pozitif, koagülaz negatif olan stafilokoklardan ayırmak için DNase testi kullanılır. DNA içeren DNase agara *S. aureus* olduğu düşünülen koloni ekilir. 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda DNase enzimini içeren *S. aureus* besiyerindeki DNA'yı parçalayacaktır. Besiyerine oluşan kolonilerin üzeri 1 N HCl ile kaplandığında asit DNA'yı çökelteceğinden *S. aureus* kolonisinin etrafındaki bölge şeffaf kalırken, diğer bölgelerde halen DNA mevcut olduğundan buralar bulanık görülür. DNase testinde pozitifliği daha iyi görmek için besiyerine toluidin mavisi eklendiğinde DNase pozitif kolonilerin etrafında pembe bir hale görülür (Winn ve ark., 2006).

### 2.7.10. Mannitol fermentasyonu

İdentifikasyonda %1 mannitol, %7,5 NaCl, fenol kırmızısı ve peptonlar içeren mannitol-salt agar seçici besiyeri olarak kullanılmaktadır. *S. aureus* suşları mannitolü fermente eder. Besiyerinde bulunan yüksek tuz konsantrasyonu diğer bakterilerin üremesini engeller. *S. aureus* kolonilerinin etrafı, mannitolün fermentasyonu sonucu, asit oluşumuna bağlı sarı halka oluşması ile ayırt edilir (Murray ve ark., 2005; Seybold ve ark., 2006).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hastalar ve *Staphylococcus aureus* izolatları

Van İl Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda 2009-2012 tarihleri arasında izole edilen 65 toplum kökenli *S. aureus* suşu çalışmaya alındı. *S. aureus* suşlarının izole edildiği hastalara ait bilgiler ve laboratuvar sonuçları defter kayıtlarından retrospektif olarak incelendi. Çalışma için kullanılacak *S. aureus* suşları besiyerinde -80 °C' de stoklandı.

#### 3.2. Kültür, Antibiyogram ve İdentifikasyon

Boncuk besiyerinde stoklanmış olan *S. aureus* suşları %5 koyun kanlı agara ekilerek 35°C'de 18-24 saat etüvde inkübe edilerek saf kültür elde edildi. Üreyen kolonilerin; koloni morfolojisi, pigment oluşumu, kanlı agarda B hemoliz oluşturması, Gram boyamada gram pozitif kokların görülmesi, katalaz ve koagülaz deneylerinin sonucuna bakılarak *S. aureus* olarak doğrulandı.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda, izole edilen *S. aureus* suşlarında metisilin direncinin belirlenmesi için sefoksitin ve oksasilin diskleri kullanılarak Mueller Hinton agar besiyerinde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi çalışıldı (CLSI, 2007). Çalışmanın diğer aşamaları için saf olarak koyun kanlı agarda üretilen *S. aureus* suşları boncuk besiyerinde -80 °C'de saklandı.

##### 3.2.1. Kullanılan Besiyerleri

###### Koyun Kanlı Agar

*S. aureus* suşlarının saf olarak elde edilmesi amacı ile koyun kanlı agara ekim yapılmıştır.

- Pepton (DIFCO 63928JB)5 gr
- Et ektresi (MERCK 1.03979)5 gr
- NaCl(MERCK 1.06400)5 gr
- Agar (LAB M MC2) 12 gr
- pH: 7.3 +\_0.2

37 gr toz besiyeri 1000ml distile suda çözülerek 121 °C’de 15 dakika otoklavda (Trans, Ankara, Türkiye) steril edildi. Daha sonra 50 °C’ye kadar soğutulup içerisine %5-10 oranında defibrine koyun kanı eklenerek elde edildi.

### **Müller Hinton Agar**

Metisilin direncini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

- Casein acid hydrolysate 17.5 gr
- Beef heart infusion 2 gr
- Storch, soluble 1.5 gr
- Agar 17 gr
- pH: 7.3+\_0.2

38 gram toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121 °C’de 15 dakika süreyle otoklavda steril edildi. Besiyerleri hazırlandıktan sonra buzdolabında muhafaza edildi.

### **3.2.2. Suşların identifikasyonu**

#### **a) Katalaz testi**

Stafilokokları katalaz enzimine sahip olmayan streptokoklardan ayırt etmek amacı ile bu test kullanıldı. Kanlı agar besiyerinde üretilen *S. aureus* kolonilerinden lam üzerine eküvyon yardımıyla dikkatlice alındı. Kolonilerin üzerine bir damla %3’lük hidrojen peroksit damlatıldı. Stafilokokların katalaz enzimi ile hidrojen peroksitten su ve oksijen oluşturması sonucu gaz kabarcıkları gözlemlendi (Bilgehan H., 2002; Winn ve ark., 2006).



#### **b) Koagülaz testi**

*S. aureus*’u diğer stafilokoklardan ayırt etmede kullanılan koagülaz deney yöntemlerinden lam koagülaz deneyi kullanıldı. Bu yöntem aşağıdaki şekilde yapıldı:

**1-Koagülaz antijeninden bir damla lam üzerine damlatıldı.**



2-Kanlı agar besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonrasında üremiş olan stafilocok kolonilerinden bir koloni öze yardımıyla alınarak lamdaki koagülaz antijeniyle birbirlerine karışımı sağlandı.

3-Birkaç dakika gözlem yapılarak aglütinasyon oluşumuna bakıldı. Aglütinasyon oluşturmayan suşlar koagülaz negatif olarak kabul edildi (Bilgehan H., 2002; Winn ve ark., 2006).

### **3.2.3. Antibiyogram**

#### **3.2.3.1. Metisilin direncinin belirlenmesi**

*Staphylococcus aureus* olarak tanımlanmış 65 suşun metisilin direnci; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'ün belirlediği kriterler doğrultusunda Müller Hinton agar (MHA) besiyerinde, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile sefoksitin ve oksasilin diskleri kullanılarak belirlendi (CLSI, 2007). 65 suş da duyarlı olarak saptandı ve bu suşlardan doğrulama testi olarak PCR ile 448 bp'lik Mec-A gen bölgesinin varlığı araştırıldı.

#### **3.2.3.2. Disk difüzyon testi**

Bu yöntemin temeli, Müller Hinton agar besiyeri yüzeyine bakterilerin yayılarak yapılan ekimi sonrasında, besiyeri yüzeyine antibiyotik emdirilmiş disklerin yerleştirilmesi ve 37 °C'de bir gecelik inkübasyonun ardından disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarını ölçerek, mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığının incelenmesine dayanmaktadır (Bilgehan H., 2002; CLSI, 2007).

1-İdentifikasyonu yapılan *S. aureus* suşları öncelikle serum fizyolojikle süspanse edildi ve bulanıklığı Mcfarland 0.5'e göre ayarlandı.

2-Bulanıklığı ayarlanan bakteri süspanasyonu eküvyon aracılığı ile Müller Hinton besiyerine ekildi.

3-Besiyeri üzerine Oksasilin ve Sefoksitin diskleri steril pens ile yerleştirilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı.

4-İnkübasyondan sonra zon çapları ölçülerek CLSI kriterleri uygulanarak metisilin direnç profilleri belirlendi. Standart suş olarak ATCC 25923 kullanıldı.

**Tablo 2.** Oksasilin ve Sefoksitin disk difüzyon yönteminde kullanılan zon çap değerleri

	<b>Dirençli</b>	<b>Orta Duyarlı</b>	<b>Duyarlı</b>
1 µg Oksasilin	≤ 10 mm	11-12 mm	≥ 13 mm
30 µg Sefoksitin	≤ 21 mm		≥22 mm

### **3.3. LUKS/F-PV ve MecA Gen Bölgelerinin Araştırılması**

Çalışmamızda, portör numunelerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında 448 bp'lik Mec-A ve 433 bp'lik LukS/F-PV gen bölgelerinin araştırılması amacıyla DNA kalıp olarak kullanılarak elde edilen PCR ürünlerine, agaroz jel elektroforezi uygulandı.

#### **3.3.1. Suşların DNA ekstraksiyonu**

DNA ekstraksiyonu için otomatize (biyrobot EZI system, QIAGEN, Hilden, Germany) sistem kullanıldı.

Kit içeriği;

- RCV (Reagent Cartridges, Virus)
- DHT (Disposable Fitler- Tips)
- DFT (Disposable Fitler- Tips)
- ST Sample Tubes (2 ml)
- ET Elution Tubes (1.5 ml)
- Carrier RNA

-AVE Elution Buffer

Ekstraksiyona alınacak örnek miktarı, 200 µl olarak belirlendi. Son volüm 60 µl olarak sulandırıldı ve çalışmalara alınım süresine kadar -20 °C 'de saklandı.

### 3.3.2. PCR ile hedef gen bölgelerinin çoğaltılması

#### A) LUKS/F-PV gen bölgelerinin amplifikasyonu

Toplum kökenli 65 *S. aureus* suşundan elde edilen ekstraksiyon ürünlerine Lina ve ark. tarafından tanımlanan 433 bp'lik ürün oluşturan Luk-PV-1 ve Luk-PV-2 primerleri kullanılarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi (Lina ve ark., 1999). Amplifikasyon sonrası PVL'yi kodlayan LukS/F-PV gen bölgesinin varlığının belirlenmesi amacıyla agaroz jel elektroforezi uygulandı.

**Tablo 3.** PVL varlığını belirlemek için kullanılan primer dizileri

PVL için kullanılan primerler	
Luk-PV-1F (Forward Primer)	5'-ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCC A-3'
Luk-PV-2R (Reverse Primer)	5'-GCA TCA AGT GTA TTG GAT AGC AAA AGC-3'

**Tablo 4.** 2X amplifikasyon tamponunun hazırlanması

2X Amplifikasyon Tamponunun Hazırlanması	
10X Buffer	200 µl
25 Mm MgCl	120 µl
1.5 Mm Dntp	25 µl
H2O	655 µl

**Tablo 5.** PVL varlığını belirlemek için kullanılan PCR Amplifikasyon Mastermiks Protokolü

PCR Amplifikasyon Matermiks Protokolü	
2X PCR Buffer	12.5 µl x örnek sayısı
1F Primer	1 µl x örnek sayısı
1R Primer	1 µl x örnek sayısı
Taq DNA Polimeraz	0.3 µl x örnek sayısı
Distile Su	7.7 µl x örnek sayısı

Amplifikasyon karışımı hazırlandıktan sonra 0.2 ml tüplere 22.5 µl dağıtıldı. Toplam hacim 25 µl olacak şekilde bakteri DNA ekstraksiyon ürünlerinden tüplere 2.5 µl dağıtılp termal döngü cihazına ( Palm-Cycler Corbett Research, Australia ) yerleştirildi.

**Tablo 6.** LukS/F-PV için amplifikasyon şartları

Evre	Sıcaklık	Süre	Siklus sayısı
Ön Denatürasyon	94 °C	5 dk.	1
Hedef DNA Denatürasyon	94 °C	30 sn.	30
Primer Bağlanması	55 °C	30sn.	
Primer Uzaması	72 °C	60 sn.	
Final Uzama	72 °C	5 dk.	1

Amplifikasyon işlemi sonrası ürünler, %2 lik agaroz jele yüklendi.

### **B) Mec A gen bölgesinin amplifikasyonu**

Sefoksitin ve Oksasilin diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile Metisiline direnç göstermeyen *S. aureus* suşlarında PCR ile MecA gen varlığı araştırıldı.

**Tablo 7.** Mec-A varlığını belirlemek için kullanılan primer dizileri

<b>MecA Primerleri</b>	
Primer 1R	5'-AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3'
Primer 2R	5'-AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C-3'

Amplifikasyon karışımı hazırlandıktan sonra 0.2 ml tüplere 22.5 5 µl dağıtıldı. Toplam hacim 25 µl olacak şekilde bakteri DNA ekstraksiyon ürünlerinden tüplere 2.5 µl dağıtılıp termal döngü cihazına ( Palm-Cycler Corbett Research, Australia ) yerleştirildi.

**Tablo 8.** Mec-A için amplifikasyon programı

<b>Evre</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>	<b>Siklus Sayısı</b>
Ön Denatürasyon	94 °C	4 dk.	1
Hedef DNA Denatürasyon	94 °C	45 sn.	30
Primer Bağlanması	50 °C	45 sn.	
Primer Uzaması	72 °C	1 dk.	
Final Uzama	72 °C	2 dk.	1

### 3.3.3. Hedef gen bölgelerinin görüntülenmesi

#### A) Agaroz jel elektroforezi

Deniz yosunlarından elde edilen agaroz, 42-45 °C'ye soğutulduğunda karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile katılarak jel yapısı oluşur. Oluşan bu jele yüklenen DNA molekülleri, elektroforez cihazı yardımıyla molekül ağırlıklarına, yapılarına, elektron yüklerine göre farklı hızda hareket ederler. Bu harekete göre küçük molekül

ağırlığına sahip DNA bantları daha büyük olanlara göre daha hızlı bir şekilde hareket ederek farklılaşır.

#### **Agaroz jelin hazırlanması için gereken malzemeler;**

-Agar ( SeaKem Le Agarose)

- Trizma Base (SIGMA)

- EDTA ( ApplıChem)

- Borik Asit ( ApplıChem)

- Distile Su

- Etidyum Bromid (0,5 µg/ml)

#### **1X TBE Buffer (Tris-Borik Asit- EDTA) hazırlanması**

1000 ml için;

-Trisma Base = 10.78 gr

-Borik Asit = 5.5 gr

-EDTA = 0.75 gr

Karışım hazırlandıktan sonra distile su ile hacim 1000 ml ye tamamlanır.

#### **Agaroz jelin hazırlanması**

Hassas terazide 3 gr agar, % 2'lik 150 ml agaroz jel için tartıldı ve balon joje ye bırakıldı.150 ml 1X TBE tamponu ile agaroz jel hazırlandı. Mikrodalga fırında agar tamamen çözününceye kadar eritildi. Oda şartlarında 50-60 °C'ye kadar soğuyan agaroz jel üzerine 10 µl/ml konsantrasyonda Etidyum Bromür'den 20 µl/ml eklendi.(Etidyum Bromür çift iplikçikli DNA arasındaki H bağları ile kompleks oluşturarak UV altında floresan ışımaya sağlamaktadır.) Etidyum Bromür ile agaroz jel karıştırıldıktan sonra elektroforez jel kalıba dökülerek soğumaya bırakıldı. Oda ısısında katılaştıktan sonra

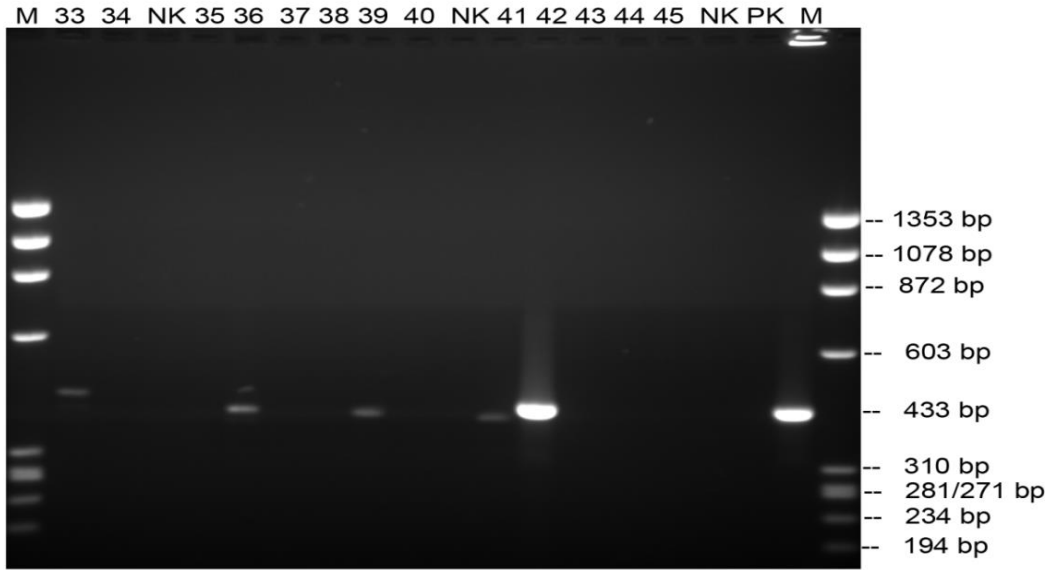
dikkatli bir şekilde çıkarıldı ve içerisinde 1X TBE (Tris-Borik Asit- EDTA) tamponu olan tank içerisine yerleştirildi.

### **B) Elektroforez**

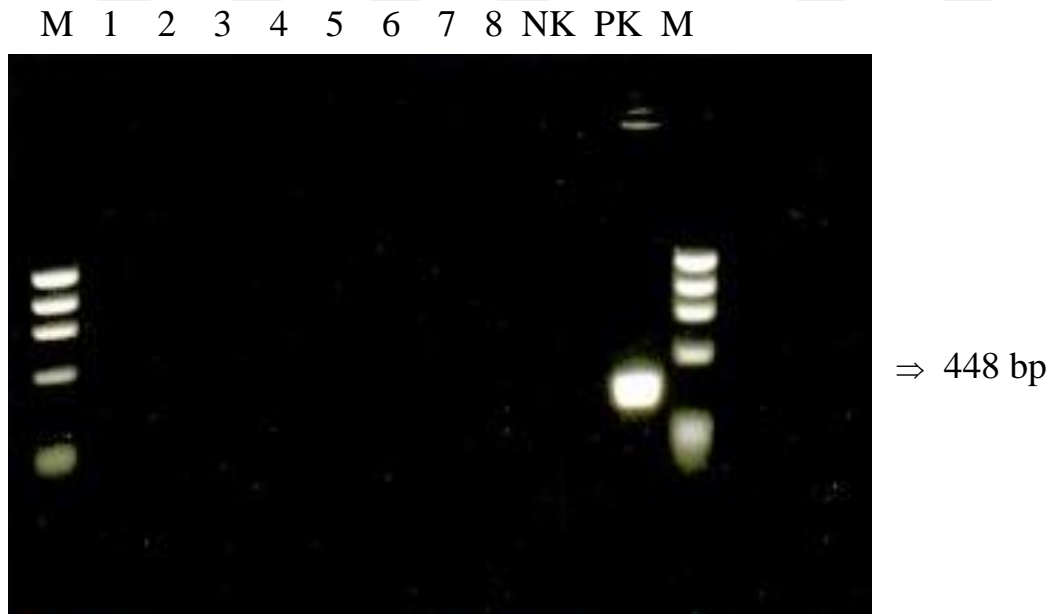
Agaroz jel katılaştıktan sonra, amplifikasyon ürünü DNA'ların incelenmesi ve boyutlarının belirlenmesi için; 10 µl amplifikasyon ürünü ile 3 µl Blue dye boya karıştırılarak agaroz jel kuyucuklarına yükleme yapıldı. Örnekleri doğru bir şekilde değerlendirebilmek için molekül büyüklükleri bilinen marker DNA'lar jelde yer alan bir kuyucuğa yüklendi. Marker ve örneklerin yüklenmesinden sonra tank güç kaynağına (Biorad) bağlandı. Elektroforez cihazında (STRATAGENE) 100 volt elektrik akımına tabi tutularak moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı.

### **C) Jel elektroforez sonuçlarının değerlendirilmesi**

Elektroforez sonunda görüntüleme için ( Gel Logic 2200 İmaging system, ayırım gücü 1708x1280 pixel. Kodak Company, NY, USA) sistemi kullanılarak DNA bantları incelendi. Elde edilen 433 bp'lik DNA fragmentleri LukS/F-PV gen bölgesi pozitif olarak değerlendirildi. 448 bp'lik DNA fragmenti görülmediğinden Mec-A geni negatif olarak değerlendirildi.



**Şekil 2.** Jel elektroforezde LukS/F-PV gen bölgesi sonuçlarının görünümü. 34.,35.,37.,38.,40.,43.,44.,45. örnekler LukS/F-PV negatif, 33.,36.,39.,41.,42. örnekler; LukS/F-PV pozitif, NK; negatif kontrol, PK; lukS/F-PV pozitif kontrol (433 bp), M; 1 kb DNA Ladder (Promega)



**Şekil 3.** Jel elektroforezde Mec-A sonuçlarının görünümü. 1-8 örnekler Mec-A negatif, NK negatif kontrol, PK; Mec-A pozitif kontrol (448 bp), M: 1 kb DNA Ladder (Promega)



#### 4. BULGULAR

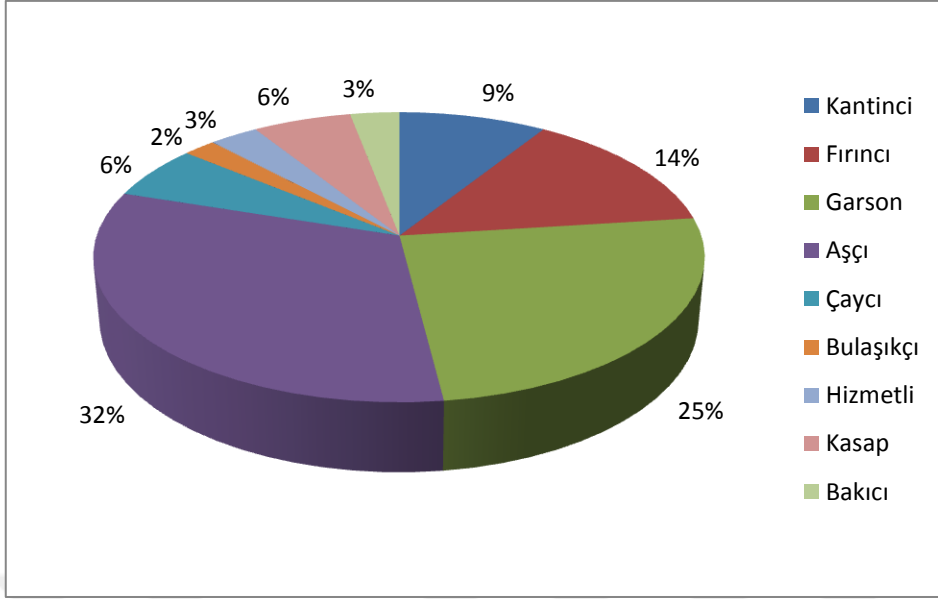
Çalışmamızda Center for Diseases Control and Prevention (CDC) kriterleri dikkate alınarak; toplum kökenli toplam 65 *S. aureus* suşu izole edildi. Disk Difüzyon yöntemi ve Mec-A gen varlığı araştırılan suşların tamamında sefoksitin ve oksasilin direncinin olmadığı belirlenmiş olup;65 suşun tamamı CLSI'nın belirlediği kriterlere göre MSSA olarak değerlendirildi.

2009-2012 yılları arasında Van İl Halk Sağlığı Laboratuvarı'na başvuran 6353 hastaya 9103 kez bakılmış olup bunlardan 273'ünde *S. aureus* pozitif bulunmuştur. Saklanmış olan *S. aureus* pozitif suşların 65'i çalışmaya alındı.

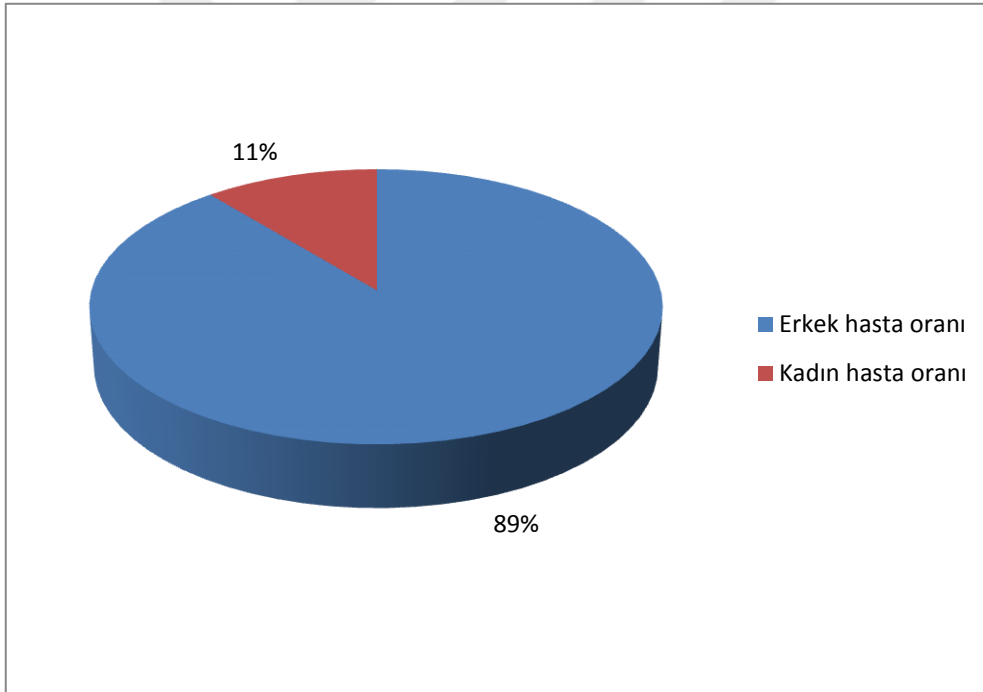
*S. aureus* suşlarının en fazla izole edildiği meslek grupları sırasıyla aşçı (%32),garson (%25) ve fırıncı (%14) dır.

65 suşun izole edildiği hastalardan en küçüğü 16, en büyüğü 55 yaşında olup toplam yaş ortalaması 30 olarak bulunmuştur. Hastalardan 7'si kadın, 58'i erkektir.

Toplum kökenli *S. aureus* suşlarının mesleklere ve cinsiyete göre dağılım cetveli aşağıda gösterilmiştir.



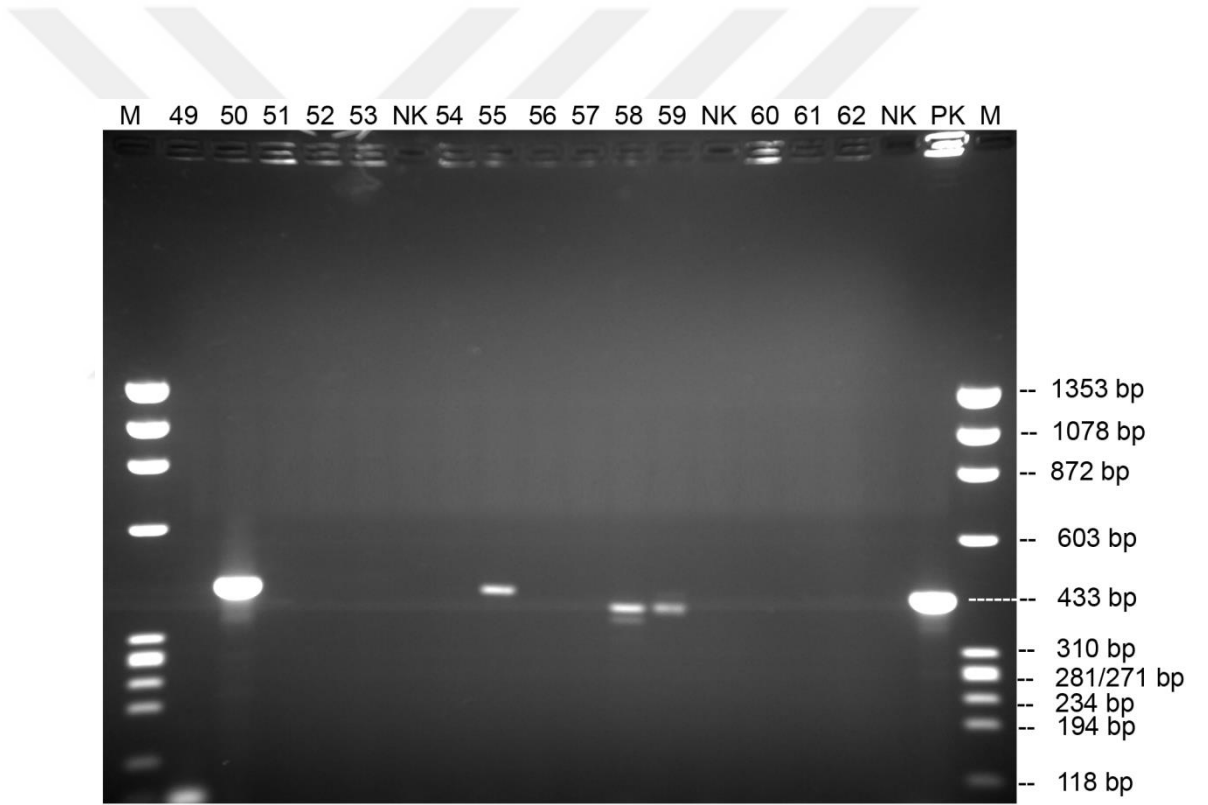
Şekil 4. Toplum kökenli *S.aureus* suşlarının mesleklere göre dağılımı



Şekil 5. Toplum kökenli *S.aureus* suşlarının cinsiyete göre dağılımı

#### 4.1. Panton-Valentin Lökosidin Pozitif *S. aureus* Suşlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda Luk-PV1F ve Luk-PV2R primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PCR analizi sonucunda izole edilen toplum kökenli 65 *S. aureus* suşunun 23'ünde (%35) Panton -Valentin lökosidin 433 bp'lik gen bölgeleri pozitif saptandı. Bunlardan 2'si (%9) kadın, 21'i (%91) erkek suşlardı. Kadın hastaların %28'inde, erkek hastaların ise %36'sında PVL pozitif saptanmıştır. Örnek olarak PVL gen bölgeleri pozitif ve negatif bulunan izolatlara ait PCR jel görüntüleri aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 6. PVL gen bölgeleri pozitif ve negatif bulunan izolatlara ait PCR jel görüntüsü

PVL pozitif saptanan toplum kökenli *S. aureus* suşlarının tamamı MSSA idi ve tamamı burun kültüründen izole edildi.

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

*Staphylococcus aureus*, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda etken olan önemli mikroorganizmalardan biridir. Virulans faktörleri ve antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirmesi ile yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir. Toksin ve enzimleri ile deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, osteomyelit, endokardit, bakteriyemi, pnömoni ve toksik şok sendromu gibi birçok klinik tabloya neden olur (DeRyke ve ark., 2005).

*Staphylococcus aureus* enfeksiyonu sonrası mortalite oranı penisilinin 1940 yılında kullanıma girmeden öncesinde % 80 olarak bildirilmiştir (Skinner ve ark., 1941). 2 yıl gibi kısa sürede penisiline direnç gösteren *S. aureus*'lar ortaya çıkmıştır. Beta-laktamaz enziminin neden olduğu direnç sorununa karşı, yarı sentetik penisilinler (metisilin vb.) üretilmiştir. Metisilin kullanılmaya başladıktan 2 sene sonra 1961 yılında, İngiltere'de penisiline dirençli olan *S. aureus* suşunun Mec-A geni kazanmasıyla ilk metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşu tanımlanmıştır (Salgado ve ark., 2003; Deresinki S., 2005; Chambers ve ark., 2009).

Metisilin direncinin tespitinde genellikle disk diffüzyon yöntemi kullanılmakla beraber altın standart Mec-A geninin PCR yöntemiyle gösterilmesidir (Brown ve ark., 2005). Çalışmamızda metisilin direnci; Kirby –Bauer disk difüzyon yöntemi ile sefoksitin ve oksasilin diskleri kullanılarak belirlendi. 65 suştan hiçbirinde MRSA izlenmedi ve aynı suşlarda PCR yöntemiyle Mec-A gen varlığı araştırıldı. Tamamı toplum kökenli olan suşlarda Mec-A gen varlığı da izlenmemiş olup tamamı MSSA olarak değerlendirilmiştir.

Özellikle deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile toplumdan kazanılmış pnömonilerden izole edilen *S. aureus* suşlarında tespit edilen PVL; nekroz ve apoptozis ile polimorfonükleer hücrelerde harabiyete neden olduğundan, *S. aureus* suşlarının virulansını önemli ölçüde artırır ve neden olduğu hastalıkların klinik seyrini ağırlaştırır (Genestier ve ark., 2005). PVL pozitif *S. aureus* kökenlerinin hastane ortamında yayılması ve daha dirençli kökenler haline gelmesi çok tehlikelidir. PVL pozitif MRSA'lar acil müdahale gerektiren mikroorganizmalardır (Vandenesch ve ark., 2003).

*S. aureus*'ta PVL varlığı hastalık şiddetinde artışla birlikte cerrahi drenaja ihtiyaç gösteren deri infeksiyonundan, ağır kronik osteomyelite ve ölümcül nekrotizan pnömoniye kadar değişen olgularla ilişkilidir. Belki de ileride PVL virulans faktörünün görüntülenmesi gelecekte rutin laboratuvar işlemleri arasına girecektir (McClure ve ark., 2006). PVL negatif *S. aureus* ile enfekte pnömoni hastalarının ölüm oranı %6 iken, PVL pozitif *S. aureus*'lar ile enfekte pnömoni hastalarının ölüm oranı %32 olarak bildirilmiştir (Kollef ve ark., 2005).

PVL özellikle toplum kökenli *S. aureus* suşlarında sıklıkla görülmekle birlikte bu sitotoksinin hastane kökenli *S. aureus* suşlarında da hızla yayılmaya başladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Chini ve ark., 2006; Boyle-Vavra ve ark., 2007; Diep ve ark., 2008). Yakın zamana kadar PVL kodlayan genlerle sık karşılaşılıyordu ve dünya çapında *S. aureus*'larda oran %5'in altındaydı. Bununla birlikte yeni ortaya çıkan TK-MRSA izolatlarında çeşitli çalışmalarda %77-100 gibi görülme oranları rapor edilmektedir (McClure ve ark., 2006). Çeşitli ülkelerde yapılmış çalışmalarda MRSA kökenlerinde PVL pozitiflik oranı; Yunanistan'da toplum kaynaklı MRSA'larda %72, hastane kaynaklı MRSA'larda %23, poliklinik hastalarında %20, yatan hastada %5; Amerika'da poliklinik hastalarında %37, servis hastalarında %35,4; Hollanda'da 2000 yılında %5 ve 2002 yılında ise %15 ve Kanada'da %50 olarak saptanmıştır (Özkul ve ark., 2007).

Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde klinik örneklerden elde edilen MRSA kökenlerinde PVL pozitifliği saptanmamış, 2005 yılına ait 40 MSSA kökeninin 2'sinde (%5), 2006 yılına ait 39 MSSA kökeninin 4'ünde (%10,3) PVL pozitifliği saptanmıştır (Özkul ve ark., 2007). İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 22 MRSA kökeninin 9'unda (%41), 38 MSSA kökeninin 9'unda (%24 ) PVL pozitifliği saptanmış; cilt, yumuşak doku ve solunum yolu örneklerinde PVL varlığının araştırılmasının ciddi enfeksiyonların önlenmesinde önemli olacağı vurgulanmıştır (Öksüz ve ark., 2008).

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 130 MRSA kökeninin 2'sinde (%1,5), 20 MSSA kökeninin 1'inde (%5), PVL pozitifliği saptanmış ve PVL varlığının tespitinin PVL pozitif *S. aureus*'un yayılmasını önlemek açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (Cirit ve ark., 2009).

Holmes ve arkadaşları 2002 yılında İngiltere ve Galler'de *S. aureus* izolatlarında PVL gen sıklığını araştırmak için yaptıkları çalışmada, seçilen 515 izolattan 8 (%1,6)'inde PVL gen varlığını pozitif bulmuşlardır. PVL geninin stafilokokal hastalıklarda dağılımını saptamak için seçilen 470 izolattan 23 (%4,9)'ünde PVL'yi pozitif bulmuşlardır. Pozitif olan 23 izolatın 15 (%65)'ini deri ve yumuşak doku örneklerinden elde edilen izolatlar oluşturmuştur. Kalan izolatlardan 4'ü pnömonili olgulardan, 2'si yanık infeksiyonlarından, 1'er tanesi de bakteriyemili ve soyulmuş deri sendromlu hastalardan elde edilmiştir (Holmes ve ark., 2005). İngiltere'de PVL üreten geni taşıyan *S. aureus* izolatlarının prevalansı %2'nin altındadır ve bunların çoğu MSSA'dır. ABD'nin bazı bölgelerindeki acil servislerde karşılaşılan ciddi *S. aureus* infeksiyonlarının çoğundan TK-MRSA sorumludur (Nathwani ve ark., 2008).

Hong Kong Halk Sağlığı Laboratuvar'ında TK-MRSA olduğu varsayılan 140 izolat 2006 yılı süresince incelendiğinde, 42 (%30) izolatın PVL geni taşıdığı saptanmıştır (Cheung ve ark., 2008).

Krziwanek ve arkadaşları 2001-2006 yılları arasında Avusturya'da, 1150 MRSA izolatında PVL gen varlığını incelemişler ve 94 PVL pozitif izolat tanımlamışlardır (Krziwanek ve ark., 2007). Otter ve arkadaşları 2000-2006 yılları arasında toplanan 194 siprofloksasin duyarlı MRSA izolatında PVL oranını %25.3 olarak saptamışlardır (Otter ve ark., 2008). Jones ve arkadaşları 2005 yılında komplike olmayan deri ve derinin yapısal infeksiyonlarından izole edilen 190 *S. aureus* izolatını incelemişlerdir. 101 MRSA izolatından 77'si TK-MRSA olarak kabul edilmiş ve bu toplum kaynaklı izolatlarda PVL pozitiflik oranı %95 oranında saptanırken 89 MSSA izolatında ise % 17 oranında saptanmıştır (Jones ve ark., 2007).

Denis ve arkadaşları 2002-2004 yılları arasında Belçikalı hastalardan topladıkları 41 klinik MRSA izolatının 16'sının (%40) PVL toksin geni taşıdığını bulmuşlardır. PVL toksin geni pozitif bulunan izolatların biri dışında hepsi toplumdaki kazanılmıştır (Denis ve ark., 2005). Japonya'da 1979-1985 yılları arasında izole edilen 97 MRSA izolatının 44'ünde (%45,3) PVL pozitifliği saptanmıştır (Ma ve ark., 2006). Kanada Calgary'de 1999-2003 yılları arasında toplanan izolatlardan seçilen 287 MRSA ve 280 MSSA izolatında PVL pozitiflik oranları sırasıyla %1,9 ve %2,1 olarak bulunmuştur (McClure ve ark., 2006).

Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada MSSA'nın klinik ve nazal taşıyıcılıklarındaki LuksPV genlerinin prevalansları benzer bulunmuştur (Vorobieva ve ark., 2008). MSSA'nın klinik izolatlarındaki PVL pozitif MSSA prevalansı %37 olarak gösterilmiştir. Benzer metodoloji kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda %7 ile %12 arasında değişen daha düşük prevalans oranları bildirilmiştir ( Jevons M., 1961; Prevost ve ark., 1995; Peacock ve ark., 2005).

Aynı çalışmada PVL pozitif MSSA'nın deri ve yumuşak doku enfeksiyonu tanısıyla güçlü olarak ilişkisi gösterilmiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu ile ilişkili olan tüm MSSA izolatlarının %48'i LuksPV pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada PVL pozitif ve negatif enfeksiyonların ağırlıklarındaki farklılıklar karşılaştırılmış olup PVL pozitif MSSA ile enfekte olan hastalarda 3,9 kat daha fazla cerrahi girişime gereksinim olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada MSSA enfeksiyonlarının 1/3'ünden daha fazlasında PVL pozitif suşların etken olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PVL pozitif MSSA enfeksiyonlarının bazı etnik gruplarda, daha genç yaştaki hastalarda, deri ve yumuşak doku enfeksiyonu tanısı konulanlarda, toplum kökenli enfeksiyonlarda ve cerrahiye ihtiyaç duyulan hastalar arasında anlamlı ilişkili olduğu görülmüştür.

Yunanistan'da 2001-2003 yılları arasında *S. aureus*'un PVL pozitif izolatlarının belirgin olarak arttığı gözlenmiştir. Bunların çoğunluğu da MRSA'dır.(%/77). TK-MRSA izolatları %72 oranında PVL geni taşıırken HK- MRSA'ların %23'ü PVL geni taşır. Buna karşılık sadece TK-MSSA izolatlarının %20'si ve HK-MSSA izolatlarının %5'inde PVL geni bulunmuştur (Chini ve ark., 2006).

PVL pozitif MSSA epidemiyolojisi iyi bilinmemektedir ve patojenik potansiyeli muhtemelen gözardı edilmektedir. PVL geni içeren MSSA suşlarının oranı %12 ile %81 arasında bildirilmiştir (Chiristensen ve ark., 1994; Cheung ve ark., 1995). Bazı hayvan çalışmaları PVL'nin majör bir virülans belirleyicisi olduğunu düşündürmektedir (Deurenberg ve ark., 2008). Buna ek olarak PVL geninin MRSA izolatlarından daha yaygın olduğu bildirilmiştir. Tayvan'da Yaw-Kwan Chiu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada test edilen 3305 çocuktan 495'inde(%15) MSSA nazal kolonizasyonu bulundu. Aynı çalışmada klinikteki PVL geninin bulunduğu MSSA izolatları sadece %19,7 olarak bulunmuştur ve sadece kolonize olmuş izolatların %1'inde PVL pozitifliği gösterilmiştir. Hemen hemen tüm klinikteki TK-MRSA

izolatlarının PVL pozitif olduğu gösterilmiş, buna karşın kolonize suşların sadece %16,9'unun PVL geni içerdiği bulunmuştur. PVL geninin prevalansı TK-MRSA izolatlarında MSSA izolatlarından daha yüksek gösterilmiştir (Chiu ve ark., 2012).

Kılıç ve arkadaşları 4 yıllık dönemde 385 MRSA izolatını incelemiş ve 5 (%1,3) izolatta PVL pozitifliği bulmuşlardır (Kılıç ve ark., 2008). Özkul ve arkadaşları 79 MSSA izolatının 6'sında PVL'yi pozitif bulmuşlar ve 55 MRSA izolatının hiçbirinde PVL geni pozitif bulunamamıştır (Özkul ve ark., 2007). Karahan ve arkadaşları 261'i MRSA (230'u hastane kaynaklı, 74'ü toplum başlangıçlı), 43'ü MSSA olmak üzere toplam 304 *S. aureus* izolatının 12'sinde (1'i hastane kaynaklı, 11'i toplum kaynaklı) PVL pozitifliği saptamışlardır. PVL pozitif izolatların 8'i MRSA, 4'ü ise MSSA'dır (Karahan ve ark., 2008).

Bazı hastane başlangıçlı MRSA infeksiyonları toplum kaynaklı organizmalardan kaynaklanabilir ve bazı toplum başlangıçlı MRSA infeksiyonları da hastane kaynaklı organizmalardan kaynaklanabilir (Gerberding ve ark., 2001). TK-MRSA izolatlarının hastanede yayılımı metisiline dirençli izolatların sıklığını arttırabilecektir. Aynı zamanda topluma geçiş kapasitesi artmış çoklu ilaca dirençli izolatların seçimine de yol açabilecektir. Bu sonuç da toplum kaynaklı stafilokokal infeksiyonların tedavisinde artık ampirik beta laktam kullanımının daha fazla mantıklı olamayacağını göstermekle beraber kültür ve antimikrobiyal duyarlılık testine gereksinimi ortaya çıkarmaktadır (Carleton ve ark., 2004). MRSA kontrolünde anahtar parametreler el hijyeni, temas izolasyonu, dekolonizasyon ve aktif sürveyans olarak sıralanabilir (WHO, 2004). Hollanda'da MRSA'ların kontrolünde “yakala ve yok et” stratejisi izlenmektedir (Editorial, 2005). Dekolonizasyon amacıyla nazal mupirosin ve klorheksidinle duş önerilmektedir (Boubaker ve ark., 2004). Ancak futbol takımlarında ortaya çıkan TK-MRSA infeksiyonlarına bağlı salgınlarda infekte futbolcuların burunlarında salgınla ilişkili MRSA klonunun saptanmaması patogeneizde burun dışı kolonizasyonun önemli olabileceğini işaret etmektedir (Decker CF, 2008).

Çalışmamızda Luk-PV1F ve Luk-PV2R primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PCR analizi sonucunda izole edilen toplum kökenli 65 *S. aureus* suşunun 23'ünde (%35) PVL pozitif saptanmıştır.



Sonuç olarak; Portörlerden elde edilen *S. aureus* suşlarında virulansın belirleyici faktörlerinden Mec-A ve PVL pozitifliğinin oldukça ciddi bir toplum sağlığı sorunu yaratabileceği elde edilen veriler ışığında öngörülebilir. Bu noktada rutin taramalarda *S. aureus* taşıyıcılığı saptanan portörlerde Mec-A geni ve özelliklede PVL pozitifliğinin belirlenmesinin rutin laboratuvar çalışmaları arasına katılması gerektiğini önermekteyiz.



## ÖZET

**Tuna D.K. Van İl Halk Sağlığı Laboratuvarı'na 2009-2012 yılları arasında gelen portörlerde burunda *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı, Mec-a ve Panton- Valentine lökositidin varlığının araştırılması. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2015.** Bu çalışmanın amacı *S. aureus*'un enfeksiyon oluşturma potansiyeli, epidemi yapma riski ve enfekte gıdalarla gıda zehirlenmesine sebebiyet vermesi nedeniyle halk sağlığı yönünden oldukça önemlidir. *S. aureus* virulans faktörleri ve direnç geliştirme potansiyeli nedeniyle günümüzde daha da önem kazanmıştır. *S. aureus*'un virülans faktörlerinden olan Panton-Valentin lökositidin (PVL), lökositlerin yıkımına ve doku nekrozuna yol açan bir sitotoksindir. Bu özellikleriyle PVL, enfeksiyonların klinik seyrini ağırlaştırarak, komplikasyon gelişmesine neden olabilmektedir. Ciddi TK-MRSA enfeksiyonlarında ve buna bağlı ölümlerdeki hızlı artış; bu potansiyel virulan patojenin yayılımının kontrolünde PVL geni taşıyan *S. aureus* izolatlarının tanımlanmasının önemine işaret etmektedir. Çalışmamızda, portörlerden elde edilen *S. aureus* suşlarında MecA ve PVL pozitifliğinin saptanmasının ciddi bir toplum sağlığı tehlikesi yaratabileceği öngörülerek, bunun için gereken önlemlerin alınması için istatistiki verilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada Van İl Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda 2009-2012 tarihleri arasında izole edilen 65 toplum kökenli *S. aureus* suşu çalışmaya alındı. *S. aureus* suşlarının izole edildiği hastalara ait bilgiler ve laboratuvar sonuçları defter kayıtlarından retrospektif olarak incelendi. Çalışma için kullanılacak *S. aureus* suşları besiyerinde -80°C' de stoklandı. Kültür, antibiyogram ve identifikasyon aşamalarından geçirilen suşlarda LukS/F-PV ve MecA gen bölgelerinin araştırılması yapılarak elde edilen sonuçlar kaydedildi. Dağılım ve frekans analizi yöntemiyle bu sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildi. Çalışmamızda Center for Diseases Control and Prevention (CDC) kriterleri dikkate alınarak; toplum kökenli toplam 65 *S. aureus* suşu izole edildi. Disk Difüzyon yöntemi ile MecA gen varlığı araştırılan suşların tamamında Sefoksitin ve Oksasilin direncinin olmadığı belirlenmiş olup;65 suşun tamamı CLSI kriterlerine göre MSSA olarak değerlendirildi. *S. aureus* suşlarının en fazla izole edildiği meslek grupları sırasıyla aşçı(%32),garson (%25) ve fırıncı(%14) olarak bulundu. Çalışmamızda yapılan PCR analizi sonucunda izole edilen toplum kökenli 65 *S. aureus* suşunun 23'ünde (%35) PVL pozitif saptandı. Bunlardan 2'si (%9) kadın, 21'i (%91) erkek suşlardı. Kadın hastaların %28'inde, erkek hastaların ise %36'sında PVL pozitif saptanmıştır. Sonuç olarak portörlerden elde edilen *S. aureus* suşlarında virulansın belirleyici faktörlerinden MecA ve PVL pozitifliğinin oldukça ciddi bir toplum sağlığı sorunu yaratabileceği elde edilen veriler ışığında öngörülebilir. Bu noktada; *S. aureus* taşıyıcılığı saptanan portörlerde MecA geni ve özelliklede PVL pozitifliğinin belirlenmesinin rutin laboratuvar çalışmaları arasına katılması gerektiğini önermekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *S. aureus*, Panton-Valentine lökositidin, Mec-A, MSSA

## SUMMARY

**Tuna D.K.** The carriage of *Staphylococcus aureus* at nasal region in carrier admitted to Van Provincial Public Health Laboratory between the years 2009-2012 and to investigate the existence of Mec-a Panton- Valentine leukocydine. Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, M. Sc. Thesis, 2015. The aim of this study was to create the potential for *S. aureus* infections, due to the risk of causing epidemic and food poisoning with infected food , in terms of public health is very important. Because of virulence factors and resistance development potential *S. aureus* has become even more important today. One of the virulence factors of *S. aureus* Panton-Valentine leukocidin (PVL) is a cytotoxin that led to the destruction of leukocytes and tissue necrosis. With these features, PVL, exacerbating the clinical course of the infection can lead to complications. The severe CA-MRSA infections and rapid increase in related deaths; under the control of spreading this potentially virulent pathogen indicates the importance of the identification of *S. aureus* isolates that carrying PVL genes. In our study, foreseeing the detection of *mecA* and PVL-positive on *S. aureus* strains derived from carrier can create a serious public health hazard, it is intended to evaluate statistical data for precautionary measures. In Van Provincial Public Health Laboratory, 65 community-acquired *S. aureus* strains isolated the dates between 2009-2012 were included in the study. Informations and laboratory results of the patients isolated of *S. aureus* strains were analyzed retrospectively from the registry. *S. aureus* strains to be used for working have stocks -80 °C in the medium. in the strains that is passed from steps of culture, antibiotic susceptibility and identification; the results obtained by the investigation of the LuxS/ F-PV and *MecA* gene regions were recorded. With the method of distribution and frequency analysis, these results were analyzed statistically. In our study, the Center for Diseases Control and Prevention (CDC) criteria for consideration; A total of 65 community-acquired *S. aureus* strains were isolated. all the strains that were investigated the presence of the *MecA* gene by Disk Diffusion method were determined to absence resistance of cefoxitin and oxacillin, all 65 strains were defined as MSSA to the criteria of CLSI. The most isolated occupational groups of *S. aureus* strains were found cooks (32%), waiter (25%) and baker (14%) respectively. In our study; community-acquired 65 *S. aureus* strains that isolated from the result of PCR analysis 23 (35%) were PVL-positive. 2 (9%) Of these were female strains and 21 (91%) were male strains. 28% of female patients and 36% of men patients were found in PVL-positive. As a result, it can be quite a serious public health problem of *MecA* and PVL positivity that virulence determinant factors in *S. aureus* strains derived from porters, in the light of the data obtained can foreseeable. At this point, we suggest that determinations of *MecA* gene and especially PVL positivity in porters detected *S. aureus* carriage should participate the list of routine laboratory studies.

**Keywords:** *S. aureus*, Panton-Valentine leukocidin, *Mec-A*, MSSA

## KAYNAKLAR

- Arda M (2000). *Temel Mikrobiyoloji*, 284-314.
- Bilgehan H (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı 3. baskı. İzmir. *Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi*, 425-454, 649-712.
- Boubaker K, Diebold P, Blanc DS, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, Troillet N (2004). Panton-Valentine Leukocidin and Staphylococcal Skin Infections in Schoolchildren. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 121-124.
- Boyle-Vavra S, Daum R.S (2007). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton–Valentine leukocidin Laboratory Investigation, 87, 3–9.
- Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM et al (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Antimicrob Chemother*, 56, 1000-1018.
- Carleton HA, Diep BA, Charlebois ED, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F (2004). Community-Adapted Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Population Dynamics of an Expanding Community Reservoir of MRSA. *The Journal of Infectious Diseases*, 190, 1730–1738.
- CDC (2002). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States. *MMWR*, 51, 26, 565-567.
- Cengiz A.T (1999) Staphylococcus. In Ustaçelebi Ş, Cengiz A.T. (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. *Güneş Kitabevi, Ankara*, 339-347.
- Cengiz AT (2004). Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. *Ankara Güneş Kitabevi*, 343-350.
- Centers for Disease Control and Prevention (1999). Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *JAMA*, 282, 1123-1125.
- Chambers HF, DeLeo FR (2009). Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7, 629-641.
- Chang S, Sievert DM, Hageman JC (2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med*, 348, 1342-1347.
- Cheung AI, Projan SJ, Edelstein RE, Fischetti VA (1995). Cloning, expression and nucleotide sequence of a *Staphylococcus aureus* gene (fbpA) encoding a fibrinogen-binding protein. *Infection and Immunity*, 63, 1914-1920.
- Cheung TK, Chu YW, Chu MY, Tsang VY, Lo JY (2008). Panton–Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community in Hong Kong. *Journal of Medical Microbiology*, 57, 1440-1443.
- Chini V, Petinaki E, Foka A, et al (2006). Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. *Clin Microbiol Infect*, 12, 29-34.

Chiu YK, Lo WT, Wang CC (2012). Risk factors and molecular analysis of Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* colonization and infection in children. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 45, 3, 208-213.

Cirit OS (2009). *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarında Pantone-Valentine lökositidin (PVL) varlığının araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun. Uzmanlık Tezi (Danışman: Doç. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban).

Christensen GD, Baldassari L, Simpson WA (1994). Colonization of medical devices by coagulase-negative staphylococci. In: Bisno A, Waldvogel FA (editors). *Infections Associated with Indwelling Medical Devices. 2 nd Ed. Washington DC: ASM Press, USA*, 45–78.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2007). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth informational supplement. *M100-S17. Wayne, PA: CLSI*.

Cunnington A, Brick T, Cooper M et al (2009). Severe invasive Pantone-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* infections in children in London, *UK J. Infect*, 59, 1, 28-36.

Çağatay A.A, Karadeniz A, Karakoç C, Özsüt H, Calangu S, Eraksoy H (2005). Hastanemizde kan kültürlerinde üreyen bakterilerin sıklığı ve duyarlılığı. *XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya* (P08-08).

Çetinkaya Y (2002). Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. *Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları*, 317-334.

Decker CF (2008). Pathogenesis of MRSA Infections. *Dis. Mon*, 54, 774-779.

Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG, Glupczynski Y, Malaviolle X, Vergison A, Struelens MJ (2005). Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Pantone-Valentine leukocidin genes in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 1103–1106.

Deresinki S (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic and therapeutic Odyssey. *Clin Infect Dis*, 40, 562-573.

DeRyke CA, Lodise TP, Rybak MJ, MCKinnon PS (2005). Epidemiology, treatment and outcomes of nosocomial bacteremic *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Chest*, 128, 1414- 1422.

Deurenberg R, Stobberingh EE (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 8, 747-763.

Diep BA, Otto M (2008). The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. *Trends Microbiol*, 16, 8, 361-369.

Diep B, Sensabaugh GF, Somboona NS, Carleton HA, Perdreau-Remington F (2004). Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Pantone-Valentine leukocidin. *J Clin Microbiol*, 42, 2080-2084.

- Editorial (2005). MRSA how politicians are missing the point. *Lancet*, 365, 273–275.
- Frazer B.W, Lynn J, Charlebois E.D (2005). High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in emergency department skin and soft tissue infections. *Ann Emerg Med*, 45, 311–320.
- Freney J, Brun Y, Bes M. (1988). *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov. two species from human clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38, 168–172.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (2007). *Staphylococcus*, *micrococcus* and similar organisms. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. St. Louis, Missouri. *Mosby Elsevier*, 12, 254-263.
- Fritz H. Kayser, Kurt A. Bienz, Johannes Eckert, Rolf M (2002). Zinkernag Medizinische Mikrobiologie. *Verstehen - Lernen - Nachschlagen*, 220-226.
- Genestier AL, Michallet MC, Prevost G et al (2005). *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *J Clin Invest*, 115, 3117-3127.
- Gerberding JL, Chambers HF, Scheld WM, Craig WA, Hughes JM (2001). Community-Onset Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Emerging Infections 5*. ASM Press. Washington, D.C, 85-93.
- Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (2000). Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. *Sim Matbaası, Ankara*, 14, 522.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC (1997). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob Chemother*, 40, 135-136.
- Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM (2005). *Staphylococcus aureus* Isolates Carrying Panton-Valentine Leucocidin Genes in England and Wales: Frequency, Characterization, and Association with Clinical Disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 2384–2390.
- Hsu L, Y.T, H. Koh, A. Kurup, J. Low, M. P (2005). Chlebicki, and B. H. Tan. High incidence of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in a tertiary care public hospital in Singapore. *Clin. Infect. Dis*, 40, 486–489.
- Jevons M. (1961). “Celbenin”-resistant staphylococci. *Br. Med. J*, 1, 124–125.
- Jones RN, Niluis AM, Akinlade BK, Deshpande LM, Notario GF (2007). Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from a 2005 Clinical Trial of Uncomplicated Skin and Skin Structure Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 3381–3384.
- Karahan ZC, Tekeli A, Adaleti R, Koyuncu E, Dolapci I, Akan OA (2008). Investigation of Panton-Valentine leukocidin Genes and SCCmec Types in Clinical *Staphylococcus aureus* Isolates from Turkey. *Microbial Drug Resistance*, 14, 203-210.
- Kılıç A, Güçlü AU, Senses Z, Bedir O, Aydoğan H, Basustaoglu AC (2008). Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) characterization and Panton-

- Valentine leukocidin gene occurrence for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94, 607–614.
- Kollef MH, Micek ST (2005). *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Chest*, 128, 3, 1093-1097.
- Krzywanek K, Luger C, Sammer B, Stumvoll S, Stammler M, Metz-Gercek S, Mittermayer H (2007). PVL-positive MRSA in Austria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 26, 931–935.
- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al (1999). Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*, 29, 1128-1132.
- Livermore D.M (1995).  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microb Rev*, 8, 557- 584.
- Ma XX, Ito T, Chongtrakool P, Hiramatsu K (2006). Molecular epidemiology of Japanese hospital MRSA 1979-85.-Predominance of Pantone-Valentine leukocidin positive clones. *J. Clin. Microbiol*, 44, 4515-4527.
- McClure J, Conly J, Lau V, et al (2006). 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*, 44, 1141-1144.
- McDonald RR, Antonishyn NA, Hansen T et al (2005). Development of a triplex real-time PCR assay for detection of Pantone-Valentine leukocidin toxin genes in clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 43, 6147-6149.
- McDougal L.K, Steward C.D, Kilgore G.E, Chaitram J.M, McAllister S.K, Tenover F.C (2003). Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J. Clin. Microbiol*, 41, 5113–5120.
- Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ et al (2006). Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N. Engl J. Med*, 355, 7, 666-674.
- Munckhof W. J, G. R. Nimmo, J. Carney, J. M. Schooneveldt, F. Huygens, J. Inman-Bamber, E. Tong, A. Morton and P. Giffard (2008). Me-VOL. 48, 2010 Pantone-Valentine leukocidin in MSSA 3473 Downloaded from <http://jcm.asm.org/> on January 15, 2014 by guest. Methicillin-susceptible, non-multiresistant methicillin-resistant and multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a clinical, epidemiological and microbiological comparative study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 27, 355–364.
- Murray P.R, Rosenthal K.S, Pfaller M.A (2005). *Staphylococcus and Related Organisms in Medical Microbiology, Fifth Edition. Elsevier Mosby*, 221-236.
- Muttaiyah S, Coombs G, Pandey S (2010). Incidence, risk factors and outcomes of Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infections in Auckland, New Zealand. *J Clin Microbiol*, 48, 10, 3470-3474.

- Nathwani D, Morgan M, Masterton RG, Dryden M, Cookson BD, French G, Lewis D (2008). Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 976–994.
- Osiyemi O, Dickinson G (2000). Gram-positive pneumonia. *Curr Infect Dis Rep*, 2, 207-214.
- Otter JA, French GL (2008). The emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a London teaching hospital, 2000–2006. *Clin Microbiol Infect*, 14, 670–676.
- Öksüz L, Gürler N, Güner S, Bal Kayacan Ç (2008). Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında Panton-Valentine lökositidin (PVL) varlığının araştırılması: Ön çalışma. Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi. *Ankem Derg*, 22, Ek1, 23.
- Özkul H, Öktem MA, Gülay Z (2007). Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında Panton-Valentine lökositidin (PVL) varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bült*, 41, 357- 362.
- Peacock S (2005). *Staphylococcus aureus*. In: Gillespie S.H, Hawkey P.M. Principles and Practice of Clinical Bacteriology John Wiley & Sons, England, Second Edition, 73-98.
- Prevost G, Cribier B, Couppie P, et al (1995). Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect Immun*, 63, 4121-4129.
- Salgado CD, Farr BM, Calfee DP (2003). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* a metaanalysis of prevalence and risk factors. *Clin Infect Dis*, 36, 131-139.
- Salliot C, Zeller V, Peuchal X, et al (2006). Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* infections: report of 4 French cases. *J Infect Dis*, 38, 192-234.
- Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG et al (2006). Emergence of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis*, 42, 647-656.
- Skinner D, Keefer CS (1941). Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*. *Arch Intern Med*, 68, 851-875.
- Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR et al (1999). Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med*, 340, 493-501.
- Tammy L, Bannerman ve Sharon J. Peacock (2007). *Staphylococcus*, *micrococcus* ve diğer katalaz pozitif koklar, *Manual of Clinical Microbiology*, 390-402.
- Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (2002). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. *Nobel Tıp Kitabevi*, 3. baskı İstanbul, 2, 1507-1516.
- Turnridge J.D, Bell J.M (2000). Methicillin-resistant *Staphylococcal aureus* evolution in Australia over 35 years, *Microb Drug Resist*, 6, 3, 223-229.
- Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J (2003). Community-acquired methicillin-



resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: Worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*, 9, 8, 978-984.

Vorobieva V, T. Bazhukova, A. M. Hanssen, D. A. Caugant, N. Semenova, B.C. Haldorsen, G.S. Simonsen and A. Sundsfjord (2008). Clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from the Arkhangelsk region, Russia: antimicrobial susceptibility, molecular epidemiology and distribution of Panton-Valentine leukocidin genes. *APMIS*, 116, 877–887.

Waldvogel FA (2000). *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York. *Churchill Livingstone*, 2069-2092. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P (2006). *Woods: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6. baski, Lippincott Williams & Wilkins, UK*, 624-671.

WHO Workshop on the Containment of Antimicrobial Resistance in Europe (2004). *Communicable Disease Surveillance And Response Department Of Essential Drugs And Medicines Policy*, 1-25.

Yu. F, Z. Chen, C. Liu, X. Zhang, X. Lin, S. Chi, T. Zhou, Z. Chen, and X. Chen (2008). Prevalence of *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes among isolates from hospitalised patients in China. *Clin. Microbiol. Infect*, 14, 381–384.

## ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Trabzon'da doğdum. İlkokulu Fatih İlköğretim Okulu'nda, ortaokuklu Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu'nda, liseyi Trabzon Atatürk Sağlık Meslek Lisesi'nde okudum.2005 yılında Kars 2 Nolu Sağlık Ocağı'nda Laboratuvar Teknisyeni olarak göreve başladım.2006 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım.2010 yılında mezun oldum.2011 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen yüksek lisans yapmaktayım. Evliyim ve 2 kız çocuk annesiyim.



