



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ECZANELERDE ÇALIŞAN ECZACI VE ECZANE PERSONELİNDE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BURUN TAŞIYICILIĞININ  
SAPTANMASI, SUŞLARIN METİSİLİN DİRENCİ VE MECA GENİ  
YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI**

**Halil BAL**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr.Sulhiye YILDIZ**

**2015-ANKARA**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ECZANELERDE ÇALIŞAN ECZACI VE ECZANE PERSONELİNDE**  
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BURUN TAŞIYICILIĞININ**  
**SAPTANMASI, SUŞLARIN METİSİLİN DİRENCİ VE MECA GENİ**  
**YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI**

**Halil BAL**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr.Sulhiye YILDIZ**

**Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından**  
**ECZ-010 proje numarasıyla desteklenmiştir.**

**2015-ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmasötik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans **Programı**  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans **Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi: 12/08/2015



Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Nurten ALTANLAR

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Meral SAĞIROĞLU

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada eczanelerde çalışan eczacı ve eczane personeline *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığı saptanmış, suşlar metisilin direnci ve mecA geni yönünden araştırılmıştır. Metisilin direncinin belirlenmesinde PCR ile yapılan çalışmalarda mecA geninin belirlenmesinin, fenotipik yöntemlere tercih edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bana yardımını ve desteğini esirgemeyen, yetişmemde bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren tez danışmanım Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Sulhiye YILDIZ'a; bölüm hocalarım Prof. Dr. Nurten ALTANLAR'a, Yrd.Doç.Dr. Müjde ERYILMAZ 'a, tüm Anabilim Dalı personeline,

Desteklerini esirgemeyen Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden değerli hocalarım Prof. Dr.Şahin YILDIRIM'a, Doç.Dr. Ahmet ALİM'e, Bu günlere gelmem için fedakarlık gösteren çok değerli anneme, babama, kardeşime,

Desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşime ve biricik oğluma teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   |          |
|---|----------|
| Kabul ve Onay                                     | i        |
| Önsöz   | ii       |
| İçindekiler                                       | iii      |
| Simgeler ve Kısaltmalar                           | vi       |
| Şekiller  | vii      |
| Çizelgeler  | viii     |
| <b>1.GİRİŞ</b>                                    | <b>1</b> |
| 1.1.Stafilokoklar                                 | 3        |
| 1.2. Sınıflandırma                                | 4        |
| 1.3. Koloni Morfolojileri                         | 5        |
| 1.4.Biyokimyasal Özellikleri                      | 6        |
| 1.5. Virulans ve Patojeniteleri                   | 6        |
| 1.5.1 Kapsül ve Slime Tabakası                    | 7        |
| 1.5.2 Hücre Duvarı                                | 8        |
| 1.5.3. Toksinleri                                 | 11       |
| 1.5.4. Enzimleri                                  | 15       |
| 1.6. Epidemiyoloji                                | 20       |
| 1.7. İnfeksiyonları                               | 22       |
| 1.7.1. Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları        | 23       |
| 1.7.2.Organ İnfeksiyonları                        | 24       |
| 1.7.3.Toksin Aracılı İnfeksiyonlar                | 26       |
| 1.7.4 Bakteriyemi ve Endokardit                   | 27       |
| 1.7.5. Koagülaz Negatif Stafilokok İnfeksiyonları | 27       |

|  |    |
|--|----|
| 1.8. Tanı  | 29 |
| 1.9. <i>S. aureus</i> Suşlarında Antimikrobiyal Direnç | 31 |
| 1.9.1. Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA)      | 32 |
| 1.9.2. Stafilokoklarda Metisilin Direnci Mekanizmaları | 33 |
| 1.9.3. Metisilin Direncinin Belirlenmesi               | 34 |
| <b>2.GEREÇ VE YÖNTEM</b>                               | 38 |
| 2.1. Örneklerin Toplanması                             | 38 |
| 2.2. Örneklerin Ekimi                                  | 38 |
| 2.3. Besiyerleri                                       | 38 |
| 2.4. Besiyerlerinin Hazırlanması                       | 39 |
| 2.5. Kimyasal Malzemeler                               | 41 |
| 2.6. Araçlar   | 41 |
| 2.7. Tampon ve Çözeltiler                              | 42 |
| 2.8.Diğer  | 43 |
| 2.9. Katalaz Testi                                     | 43 |
| 2.10.Koagülaz Testi                                    | 44 |
| 2.11.Disk Difüzyon Yöntemi                             | 44 |
| 2.12.PCR Deneyi  | 46 |
| <b>3.BULGULAR</b>                                      | 49 |
| <b>4.TARTIŞMA</b>                                      | 57 |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                            | 63 |
| <b>ÖZET</b>  | 64 |
| <b>SUMMARY</b>   | 65 |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                       | 66 |
| <b>EKLER</b>   | 72 |
| Ek 1. Gönüllü Bilgilendirme Formu                      | 72 |

|                         |    |
|-------------------------|----|
| Ek 2. Anket Formu       | 73 |
| Ek 3. Etik Kurul Kararı | 74 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>         | 75 |

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>CLSI</b>                         | : Clinical and Laboratory Standards Institute                   |
| <b>DDT</b>                          | : Disk Difüzyon Testi   |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b>              | : Distile su  |
| <b>DNase</b>                        | : Deoksiribonükleaz   |
| <b>fem</b>                          | : Factors essential for the expression of meticillin resistance |
| <b>FOX</b>                          | :Sefoksitin   |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>   | :Hidrojen peroksit  |
| <b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b> | :Dipotasyum fosfat  |
| <b>KKV</b>                          | : Küçük koloni varyantları                                      |
| <b>KNS</b>                          | : Koagulaz Negatif Stafilokoklar                                |
| <b>KOH</b>                          | : Potasyum hidroksit  |
| <b>MHA</b>                          | : Mueller-Hinton agar   |
| <b>mM</b>                           | : Milimolar   |
| <b>MRSA</b>                         | : Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>               |
| <b>MSA</b>                          | : Mannitol salt agar  |
| <b>MSSA</b>                         | : Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>               |
| <b>NAG</b>                          | : N-asetil glukozamin   |
| <b>NAMA</b>                         | : N-asetil muramik asit   |
| <b>nuc</b>                          | : Nukleaz   |
| <b>OX</b>                           | : Oksasilin   |
| <b>PBP2a</b>                        | : Penisilin bağlayan protein 2a                                 |
| <b>PPD</b>                          | : Pozitif Prediktif Değer                                       |
| <b>NPD</b>                          | :Negatif Prediktif Değer  |
| <b>PCR</b>                          | : Polymerase Chain Reaction                                     |
| <b>SCC</b>                          | : Staphylococcal cassette chromosome                            |
| <b>SCCmec</b>                       | : Stafilokoksik kromozomal kaset <i>mec</i>                     |
| <b>SpA</b>                          | : Stafilokoksik protein-A                                       |
| <b>TSST</b>                         | : Toksik Şok Sendromu Toksini                                   |
| <b>µl</b>                           | : Mikrolitre  |



## ŞEKİLLER

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1.1. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısı   | 9  |
| Şekil 1.2. <i>S. aureus</i> 'un peptidoglikan yapısı   | 10 |
| Şekil 2.1. Kanlı Agar Besiyerinde <i>S.aureus</i> görüntüsü  | 40 |
| Şekil 2.2. MSA Besiyerinde <i>S.aureus</i> görüntüsü   | 40 |
| Şekil 2.3. Katalaz pozitif <i>S.aureus</i> görüntüsü   | 44 |
| Şekil 2.4. Koagülaz testi pozitif <i>S.aureus</i> görüntüsü  | 44 |
| Şekil 2.5. Disk Difüzyon Testi Oksasilin ve Sefoksitine duyarlı <i>S.aureus</i>                          | 45 |
| Şekil 2.6. Disk Difüzyon Testi Oksasilin ve Sefoksitine dirençli <i>S.aureus</i>                         | 45 |
| Şekil 2.7. Disk Difüzyon Testi Sefoksitine dirençli <i>S.aureus</i>                                      | 46 |
| Şekil 2.8. Disk Difüzyon Testi Oksasiline dirençli <i>S.aureus</i>                                       | 46 |
| Şekil 3.1. Eczacı ve eczane personelinin dağılımı  | 49 |
| Şekil 3.2. Eczanede çalışan bireylerin cinsiyetlere göre dağılımı  | 50 |
| Şekil 3.3. Eczacılar da <i>S.aureus</i> taşıyıcılık oranlarının cinsiyete göre dağılımı                  | 50 |
| Şekil 3.4. Eczane personelinde <i>S.aureus</i> taşıyıcılığının cinsiyetlere göre dağılımı                | 51 |
| Şekil 3.5. Çalışmadaki yaş dağılımları   | 51 |
| Şekil 3.6. Sigara kullananlarda <i>S.aureus</i> taşıyıcılık oranı  | 52 |
| Şekil 3.7. Son bir yıl içinde hastaneye tedavi amaçlı başvuranların <i>S.aureus</i> taşıyıcılık oranları | 52 |
| Şekil 3.8. Son bir ayda antibiyotik kullananların <i>S.aureus</i> taşıyıcılık oranları                   | 52 |
| Şekil 3.9. Eczacıların yıllara göre çalışma süreleri   | 53 |
| Şekil 3.10. Eczane personelinin yıllara göre çalışma süreleri  | 53 |
| Şekil 3.11. <i>mecA</i> genlerinin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü                               | 54 |

**ÇİZELGELER**

|  |    |
|--|----|
| <b>Çizelge 1.1.</b> <i>S.aureus</i> 'un virulans faktörleri                              | 18 |
| <b>Çizelge 1.2.</b> Toplum kökenli-MRSA ve Hastane kökenli -MRSA arasındaki farklılıklar | 21 |
| <b>Çizelge 1.3.</b> Stafilokokların sebep olduğu infeksiyonlar                           | 23 |
| <b>Çizelge 2.1.</b> <i>mecA1</i> ve <i>mecA2</i> primerlerinin baz dizilişleri           | 47 |

## 1.GİRİŞ

Stafilokoklar insanlarda en sık görülen infeksiyon etkenlerinden biridir. İlaçlara hızlı direnç geliştirmeleri sebebiyle ciddi infeksiyonlara neden olmaktadır. Cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarından, yaşamı tehdit edebilecek çok sayıda klinik duruma yol açabilirler.

Stafilokoklar ilk kez 1878’ de Robert KOCH tarafından tanımlanmış ve 1880’de Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir. Staphylococcus cinsi ‘Micrococcus’ Stamococcus ve ‘Planococcus’ cinsleriyle birlikte ‘Micrococcaceae’ ailesi içerisinde yer almaktadır (Koşum, 2012; Tekin, 2010). Penisilin 1928 yılında Fleming tarafından bulunmadan önce, stafilokoklar tedavisi zor infeksiyonlara neden olmaktadır. 1940 yılında Oxford’da Florey, Chain ve arkadaşları tarafından penicillium kültürlerinden penisilin saflaştırılmasıyla stafilokokların tedavisinde çalışmalar başlamıştır. Penisilin tedavide kullanılmasından kısa bir süre sonra penisiline dirençli stafilokoklar ortaya çıkmıştır. 1960’da penisiline dirençli ilk antimikrobiyal olan metisilin klinik kullanıma girmesine rağmen 1961’de stafilokoklarda metisilin direnci ortaya çıkmıştır. 1970’li yıllardan itibaren metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci oluşmuştur (Koşum, 2012; Tekin, 2010).

Genel olarak tüm stafilokok infeksiyonlarının % 46’sı nozokomiyal olup bu infeksiyonların ortalama %29’u MRSA’ya bağlı olarak gelişmektedir. *S. aureus*’un doğal rezervuarı insanlardır. İnsanlarda başlıca ekolojik yerleşim yeri nazal vestibul olan bu bakteri, % 10- 20’sinde persistan olmak üzere sağlıklı bireylerin %10 – 50’sinde kolonize olmaktadır. MRSA ile kolonize olan hastalarda infeksiyon gelişme riski , kolonize olmayanlara göre 4 kat daha fazladır ( Tekin, 2010).

MRSA kaynağını en sık, hastaneye yeni yatmış infekte veya kolonize hastalar oluşturmaktadır. Bakterinin hastadan hastaya bulaşması, en sık bakteri ile geçici olarak kolonize hastane personelinin elleri aracılığıyla olmaktadır. (Sürücüoğlu ve ark; 2011). Bu nedenle hasta ve sağlık personelinin burun MRSA taşıyıcılığı

açısından taranarak tespit edilmesi MRSA infeksiyonlarının önlenmesinde en kritik basamağı oluşturmaktadır.

*S.aureus* hem toplum kökenli hem de hastane infeksiyonlarının başta gelen etkenlerindedir. Tüm dünyada bu patojenin çeşitli antibiyotiklere gösterdiği dirençteki artış *S. aureus* infeksiyonlarının tedavisinde sorunlara neden olmaktadır. *S. aureus* burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apseli yaralarda ve sivilcelerde yoğun olarak bulunur. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane ortamlarında yaygın olarak bulunurlar. Nazal stafilokoklar taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar.

Metisilin direncinin doğru bir şekilde belirlenmesi uygun antimikrobik ilacın kullanımını sağlamak için gereklidir. Oksasilin; metisilin direncinin belirlenmesinde diğer penisilinaza dirençli penisilinlere göre daha stabil bir molekül olması ve özgülüğü yüksek sonuç vermesi nedeniyle Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sefoksitin antibiyotik diskleri kullanılmaktadır (Yılmaz ve ark; 2001; Aydın ve ark; 2001; Çiftçi ve ark; 2009; CLSI, 2013; Sevgican ve ark; 2009).

Bu çalışmanın amacı hasta ve yakınlarıyla temasta bulunan ve hizmet sunan eczacı ve eczane personelinin *S.aureus* burun taşıyıcılığı ve MRSA oranları hakkında bilgi edinmek, hastanın *S.aureus*'la oluşabilecek infeksiyon riskini açığa çıkarmaktır.

## 1.1.Stafilokoklar

1878’de Robert Koch insan cerahatinde stafilokokları tespit etmiştir. Ogston 1880’de stafilokokların septisemi, yüzeysel süpüratif inflamasyon ve piyemiye neden olabileceğini açıklayarak patojenitelerini vurgulamış ve aynı yıl Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir (Akan, 1993; Tünger ve ark; 2004).

*Staphylococcus* Grekçe *staphyle* (üzüm salkımı) kelimesinden köken alır. Ogston 1882’de bu mikroorganizmaları kendine has kümelenmeler oluşturdukları için; “*Staphylococcus*” olarak isimlendirmiştir (Bannerman, 2003). Rosenbach 1884’te stafilokokların saf kültürünü ilk defa yapmış ve laboratuvar incelemesi sonucunda; beyaz ve sarı renkli koloni oluşturan iki farklı stafilokok tespit etmiştir. Bu kolonilerden beyaz renkli olanlar *Staphylococcus albus*, sarı-portakal rengi olanlar ise *Staphylococcus aureus* olarak adlandırılmıştır. Winslow ve arkadaşları 1920 yılında stafilokok cinsini *Micrococcaceae* familyasına dahil etmiştir (Kloos, 1990; Tünger ve ark; 2004).

Antibiyotik öncesi dünyada *S. aureus* bakterimisine bağlı ölüm hızı ve metastatik infeksiyon hızı %70’in üzerindeydi. 1928 yılında Alexander Fleming tarafından Penisilinin keşfedilip 1941 yılında klinikte kullanılmaya başlanmasıyla stafilokok infeksiyonlarının prognozu dramatik olarak değişmiştir. Fakat 1944 yılına gelindiğinde ilk kez Kirby tarafından penisilinaz üreten stafilokoklar bildirilmiştir. 1960’lı yılların sonunda ise gerek hastanelerden gerek toplumdaki izole edilen suşların %80’den fazlası penisiline dirençli hale gelmiştir (Öztürk ve ark; 2003; Ünal, 2003). 1959 yılında klinik kullanıma sunulan ve penisilinaza dirençli ilk semisentetik antimikrobiyal ajan olan metisiline karşı 1961 yılında ilk dirençli *S. aureus* suşları bildirilmiştir. Direnç gelişimi 1970’li yıllarda sıkça kullanılan antibiyotiklere (klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler, rifampin, aminoglikozidler ve trimetoprim-sulfametoksazol) karşı devam etmiştir. (Ünal ve ark; 2003). 1980’li ve 1990’lı yıllarda çoklu direnç oluşturan MRSA’lar tüm dünyaya yayılmış ve hastanelerde en sık rastlanan nozokomiyal patojenler arasında yerini almıştır (Schmitz ve Jones; 1997).

Elli yıl kadar önce klinisyenler ve mikrobiyologlar, koagülaz negatif stafilokokların sadece klinik örneklerde kontaminasyona yol açan bakteriler; buna karşın *S. aureus*'un tek patojen stafilokok türü olduğunu düşünürken, 1958 yılında septisemili hastalarda elde edilen verilerden yola çıkarak KNS'lerin olası patojenliğine dikkat çekilmiştir. 1970'li yıllarda, KNS'lerin piyojenik infeksiyonlar ile ventriküloatrial şant infeksiyonlarından sorumlu olabileceği saptanmıştır. 1980'li yıllara gelindiğinde KNS ile oluştuğu düşünülen infeksiyonlar giderek artmıştır. KNS'ler 1980'li yılların sonu 1990'lı yılların başlarında tüm patojenler içinde ilk beşte ve hastane kökenli kan izolatları arasında da ilk sırada gelmektedir. Yine NNIS 1995-2001 yılları arasında KNS'lerin nozokomiyal bakteriyemi etkenleri içinde %30 oranı ile ilk sırada yer aldığını bildirmektedir (Gülay, 2003). Son yıllarda intravasküler kateter ve protezler gibi geçici veya kalıcı tıbbi cihazların çeşitli hasta gruplarında (Yoğun bakım hastaları, prematüre yeni doğanlar, kanser ve transplant hastaları gibi bağışık yanıtları yetersiz hastalar) daha sık kullanılmasına bağlı olarak bu fırsatçı patojenlerin klinik önemleri artmıştır (Bannerman, 2003; Gülay ve ark ; 2003).

## 1.2. Sınıflandırma

Stafilokoklar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1986 yılındaki baskısında *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* cinsleri ile birlikte "*Micrococcaceae*" ailesi içinde sınıflandırılmıştır (Bilgehan, 2000; Koneman ve ark; 2006). Moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte daha sonra yapılan DNA-ribozomal RNA hibridizasyonları, 16S rRNA sekans analizleri gibi genetik çalışmalar ve kemotaksonomik araştırmalar (hücre duvarı kompozisyonu, hücresel yağ asitleri gibi) aslında bu mikroorganizmaların birbirlerinden farklı olduklarını göstermiş ve tek bir aile içinde toplanmaması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalar planokoklar ve stafilokokların *Bacillus/Lactobacillus/Streptococcus* grubu üyeleri ile mikrokok ve stomatokokların ise Amycelial aktinomycetes'ler ile yakın filogenetik ilişki içinde olduklarını göstermiştir(Koneman ve ark; 2006). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin yeni baskısında stafilokoklar *Firmicutes*

şubesi, *Bacilli* sınıfında, *Bacillales* takımındaki *Staphylococcaceae* ailesi içinde Genus I olarak sınıflandırılmıştır (Garrity ve Holt; 2000).

Günümüzde *Staphylococcus* genusunda 35 tür ve 17 alt tür belirlenmiştir. (Bannerman, 2003). Stafilokoklar fenotipik özellik ve DNA/DNA açısından dört grupta incelenebilir; *Staphylococcus saprophyticus* grubunda; *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* türleri, *Staphylococcus simulans* grubunda; *S. simulans*, *S. carnosus* türleri, *Staphylococcus sciure* grubunda; *S. sciure*, *S. lentus* türleri *Staphylococcus epidermidis* grubunda; *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* ve *S. saccharolyticus* türleri yer almaktadır.

*S. aureus*, *S. Caseolyticus*, *S. auricularis*, , *S. hyicus*, *S. intermedius* herhangi bir gruba sokulamamış türlerdir. 35 tür saptanmış olmasına karşın insanlardaki stafilokok infeksiyonlarından birinci sırada *S. aureus* izole edilmektedir. Fırsatçı patojenler olan *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* da sıklıkla infeksiyona sebep olurlar. *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *S. cohnii* ve *S. simulans* nadiren fırsatçı infeksiyonlara sebep olmaktadır (Waldvogel, 2000; Bilgehan, 2000).

### 1.3. Koloni Morfolojileri

Optimal üreme ısıları 30°C–37°C olmasına rağmen, 6.5°C-45°C ve pH:7-7.5 arasında iyi ürerler. Aerop ve fakültatif anaerop bakterilerdir. Kanlı agar, triptik soy agar, nutrient agar, beyin kalp infüzyon agar gibi besiyerlerinden 30-37 °C’de 18-24 saat içinde 1-3 mm çapında koloniler izole edilebilir. *S. aureus subsp. Anaerobicus*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. equorum*, *S. vitilis* ve *S. lentus* yavaş ürerler ve kolonileri 24-36 saatte saptanabilir. Kanlı agarda β-hemoliz yapan *S. aureus*’un çikolatamsı besiyerindeki görüntüsünde benzerdir. Gliserol monoasetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde, 37 °C de üretildiğinde karatenoidlerden dolayı pigment oluştururlar (Başustaoğlu, 2009; Ustaçelebi, 1999)

Küçük koloni varyantlarının görülebilmesi için en az 48 saat inkübasyon gerekebilir. KNS kolonileri hafif konveks kabarık, S tipi, parlak, ve genellikle pigmentsizdir.

*S.haemolyticus* kolonileri genellikle *S.epidermidis* ve *S.hominis* kolonilerinden büyüktür. *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus* suşlarının bazılarında  $\beta$ -hemoliz görülebilir (Başustaoğlu, 2009).

#### **1.4.Biyokimyasal Özellikleri**

*S.aureus*'un dışında koagülaz pozitif olan başka türlerde vardır.(*S.intermedius*, *S.lugdunensis*, *S.hyicus*, *S. delphini*, *S. lutrae* ve *S. Schleiferi subsp*) Stafilocoklar'ın glukozu fermentatif olarak parçalayıp, son ürün olarak laktik asit oluşturduğu bilinmektedir. Stafilocoklar bunun yanında başka şekerlere ( laktoz, sukroz, mannoz, trehaloz ve maltozu) de fermentatif etki yaparlar. Bu şekerlerden Mannitol'e etkiyi ise sadece *S. aureus* yapar. Mannitol fermentasyonu ve koagülaz testi *S. aureus*' un ayırımında önemli belirteçlerdendir. (Başustaoğlu, 2009; Ustaçelebi, 1999; Bilgehan, 2000).

Stafilocokların büyük bir kısmı %7.5-10 NaCl 'lü basit besiyerlerinde üreyebilirler. Basitrasin ve lizozime dirençli, furazolidon ve lizostafine duyarlıdırlar. Nitratları nitritlere indirgerler. *S.aureus* ısıya ve kuruluğa dayanıklıdır. Stafilocoklar dezenfektan ve antiseptiklere duyarlıdır. Kuaterner amonyum klorür bileşikleri ile etkin bir şekilde dezenfekte edilebilir ayrıca alkol ve iyot gibi antiseptiklere de oldukça duyarlıdır (Koneman ve ark; 1997; Başustaoğlu, 2009).

#### **1.5. Virulans ve Patojeniteleri**

Organizmaya giren stafilocoklar yoğun ve karışık bir savunma mekanizması ile karşılaşılırlar. Bu mekanizmada olabilecek herhangi eksiklik ve mikroorganizmanın virülansı stafilocokların infeksiyon riskini ve ağırlığını artırabilir. Bu mikroorganizmaların bakterinin konağa tutunması, anatomik bariyerlerden girişi, fagositik hücrelerin inaktivasyonu, konağın humoral savunmasının bozulması, kapsül yüzey proteinleri, hücre duvar yapıları, enzimleri ve toksinleri rol oynar (Cohen, 1986).



### 1.5.1 Kapsül ve Slime Tabakası

*S. aureus*'un özellikle mukoid koloni oluşturan kökenleri, polisakkarit yapısında bir kapsüle sahiptir. Kapsül yapısı elektron mikroskopik araştırmalar sonucunda, özellikle infekte kalp pilleri, peritonit ve intravenöz kateter infeksiyonlarından izole edilen *S. aureus* kökenlerinde gösterilmiştir. *S. aureus*'un kapsül antijenlerinden iki tanesi kimyasal olarak tanımlanmıştır. "Wilky suşu" olarak isimlendirilen ilk antijen glutamik asit, lizin, alanin ve glisinden oluşmuştur. "Smith suşu" olarak isimlendirilen diğeri ise, 2-amino-2-deoksi-D-glukronik asidin bir polimeridir. Klinik laboratuvarından izole edilen *S. aureus*'ların %90 dan fazlası kapsülsüzdür. Kapsüllü *S. aureus*'ların 11 serolojik serotipi bulunmuş ve klinik izolatlarında 5. ve 8. serotipler en baskın (%70-80) tipler olarak tanımlanmıştır. Bu serotiplerden serotip 8, *S. aureus*'un toksik şok sendromu toksini ile ilişkilidir. Ek olarak özellikle oksasiline dirençli *S. aureus* suşlarında, serotip 5'e ait kapsül polisakkarid yapısının varlığı gösterilmiştir (Branger ve ark; 1990 ; Koneman ve ark; 2006).

Slime maddesi bir ekzopolisakkarit olup amorf kapsül yapısındadır. Bazı koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) tarafından salgılanan, %40 karbonhidrat ve %27 si protein yapısında olan bir maddedir. Bakterilerin plastik ve metal gibi yüzeylere tutunmasını sağlar. Biyofilm ve slime terimleri sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılmaktadır. Slime tabakası hücrel immün yanıtı baskılar, bakteriyi fagositoz ve degranülasyondan korur, kemotaksis ve opsonizasyonu önler ve lenfosit aktivitelerini azaltır. Slime oluşturan bakteriler, oluşturmamaları göre, tedavisi daha güç olan infeksiyonlara neden olur. Slime tabakasının antibiyotiklerin etkisini de önleyici fonksiyonu olduğu bildirilmektedir. Slime maddesini eradike etmek son derece güçtür. Slime oluşturan *S. aureus* ve KNS lar, oldukça inatçı infeksiyonlara yol açarlar. Biyofilm oluşturan bakteriler antimikrobiyal maddelere, yüzey gerilimini değiştiren ajanlara, sıcaklığa, fagositoza, toksik oksijen radikallerine, proteazlar gibi çeşitli enzimlere karşı direnç geliştirirler. Tabakal dizilim sonucu, yüzeyde bulunan bakteriler hem mekanik bir kalkan oluşturarak, hem de katalaz, proteaz, lipaz gibi enzimler sentezleyerek, daha iç yüzeyde bulunan bakterileri antimikrobiyallere ve konak savunmasına karşı korurlar. Antimikrobiyal ajanların bakteriye etki edebilmesi

için biyofilm tabakasına yayılmalar gerekir (Fidan ve ark; 2005; Koneman ve ark; 2006 ).

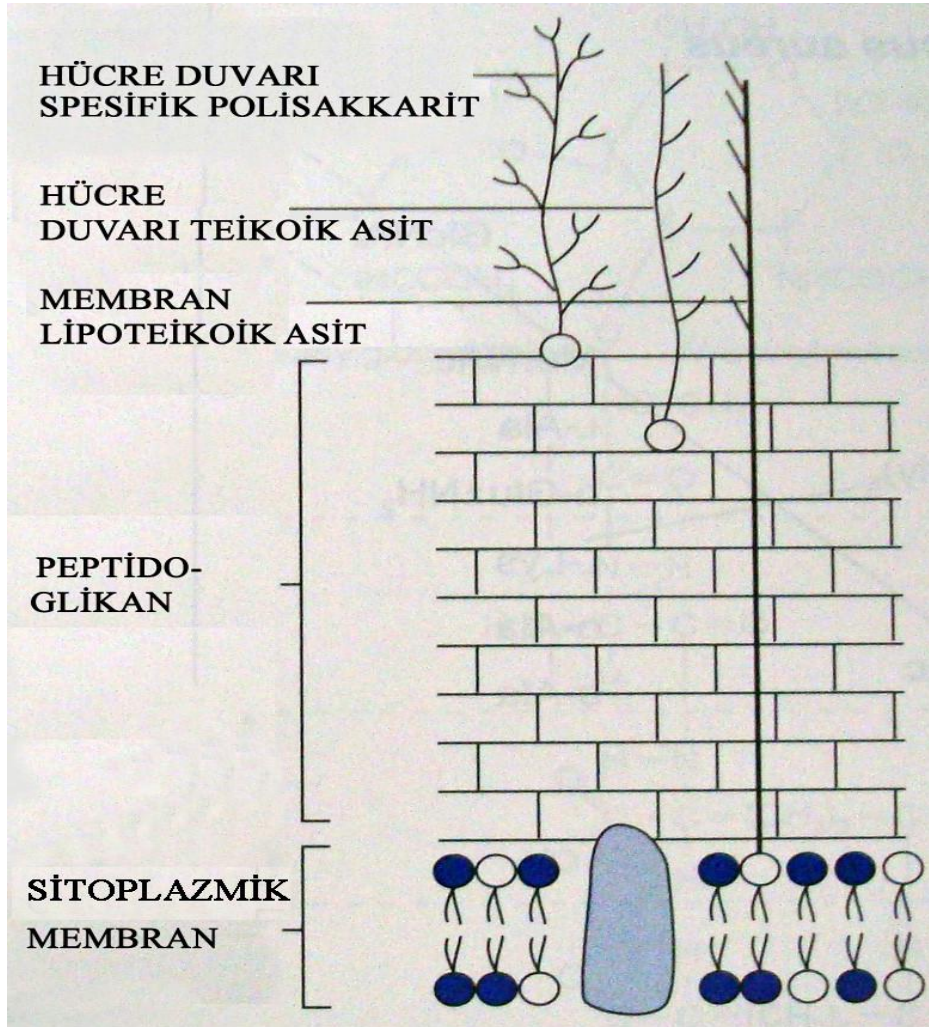
## 1.5.2 Hücre Duvarı

### Peptidoglikan ve Teikoik Asit

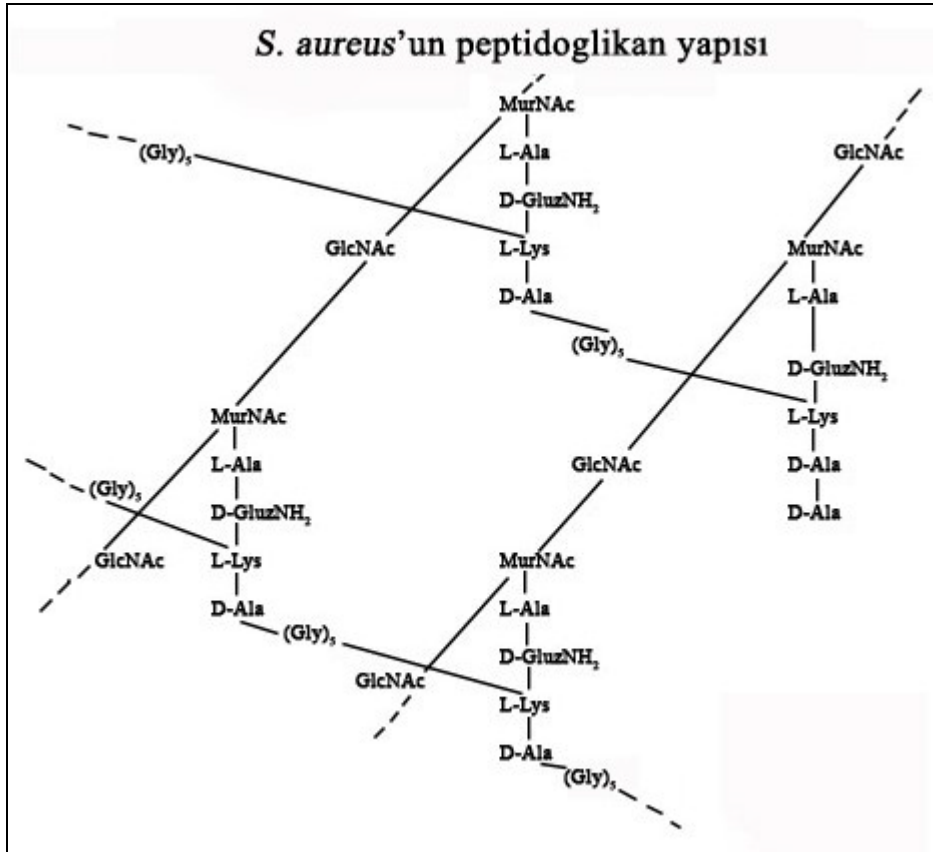
Stafilokokların hücre duvarı; peptidoglikan, teikoik asit ve protein-A olmak üzere üç ana bileşenden oluşur. *S. aureus*'un hücre duvarının esas bileşeni, hücre duvarı ağırlığının yaklaşık %50'sini oluşturan peptidoglikan (murein, mukopeptid, glikopeptid) tabakasıdır. Peptidoglikanın yapısında *N*-asetil-glikozamin (GlcNAc) ve *N*-asetil-muramik asit (MurNAc) bulunmaktadır. Kalınlığı bakteri türüne göre değişiklik gösterebilmekle birlikte, yaklaşık, 10-12 nm civarındadır. Bu yapı bakteriye karakteristik şeklini verdiği gibi, hücreye esneklik ve sağlamlık da kazandırır (Bannerman, 2003; Koneman ve ark ; 2006).

Hücre duvarının bir diğer önemli bileşeni de, hücre duvarı ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturan teikoik asitlerdir. Teikoik asit; ya 5-karbonlu ribitol ya da 3-karbonlu gliserol birimlerden meydana gelmiş bir polimerdir. Bu polimer, ribitol veya gliserol moleküllerin fosfodiester bağları ile bağlanarak ribitol teikoik asiti ya da gliserol teikoik asiti oluşturur. Ribitol teikoik asit hücre duvarına bağlanırken, gliserol teikoik asit hücre membranına bağlanmaktadır. Ribitol teikoik asit peptidoglikan tabakasındaki *N*-asetil-muramik asit (MurNAc) molekülün C6 karbonuna bağlanırken, gliserol teikoik asit hücre zarında bulunan glikolipidlere bağlanır. Teikoik asitler buldukları yerlere göre, hücre duvar ve hücre zarı teikoik asitleri olarak başlıca ikiye ayrılırlar. Hücre duvarı teikoik asitleri, gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakasına bağlanmış olup, temel yapısında poliribitol fosfat (*S. aureus*) veya poligliserol fosfat (*S.epidermidis*) bulunur. Membran teikoik asitleri ise sitoplazmik membranın dış yüzeyinde lokalize olmuştur. Hücre duvar teikoik asitlerine benzer kimyasal yapıya sahip olmakla beraber, gliserol fosfat molekülleri hakim durumdadır. Peptidoglikan ve teikoik asit başka birçok biyolojik aktiviteye daha sahiptir. Bunlar arasında komplemanın aktifleştirilmesi, polimorfonükleer hücrelerin atraksiyonu ve kemotaksis, monositler ve makrofajlar

tarafından interlökin-1 sentezinin ve opsonizasyonda rol oynayan antikorların üretimini stimüle edilmesi sayılabilir. Teikoik asit mukozalarda bulunan spesifik reseptörler aracılığı ile stafilokokların konak hücrelerine tutunmasını da sağlar. Ayrıca hücre duvarının sertliğini ve esnekliğini de destekler (Bannerman, 2003; Koneman ve ark ; 2006 ).



Şekil 1.1. Gram pozitif bakterilerin hücre duvar yapısı



Şekil 1.2. *S. aureus*'un peptidoglikan yapısı (Koneman ve ark ; 2006)

### Stafilokoksik Protein-A (SpA)

Çoğu *S. aureus* suşlarında protein A bulunur. Hücre duvarında bulunan ve gruba özel bir antijen olan protein-A, 1940 yılında Wervey tarafından tanımlanmış önemli bir virulans faktörüdür. Bu yapı peptidoglikan tabakasının en dışında yer alır ve hücre duvarının yaklaşık %7 sini oluşturur. Molekül ağırlığı 42 kDa olan küçük bir proteindir. İki tip SpA tanımlanmıştır. Serbest protein-A ve hücre duvarına bağlı protein-A. Bağlı protein-A, *S. aureus*'un hücre duvarının bir bileşenidir ve büyük bir kısmı peptidoglikan'a kovalen olarak bağlanmıştır. Serbest protein-A ise hücre dışı ortama salınmaktadır. SpA komplemanı aktive ettiği gibi antifagositik, kemotaktik ve immünolojik etkiler de gösterir. *S. aureus*, protein-A aracılığıyla, immünglobulin G1 (IgG1), IgG2 ve IgG4 moleküllerinin Fc (fragment crystallizable [kristalize olabilen fragman]) bölgelerine bağlanarak, bakterilerin antikor aracılığı ile ortadan kaldırılmasını etkin olarak engeller. Hücre dışı protein-A da antikorlar bağlayabilir ve immün kompleksler oluşturarak, kompleman bileşenlerinin fazla miktarda

tüketimine neden olur ve bakteriyi komplemana bağılı vücut savunmasından korur. SpA ayrıca, bakterinin antibiyotiklere karşı duyarlılığını azaltması nedeniyle de, önemli bir patojenite determinantı olarak kabul edilmektedir (Bannerman, 2003; Koneman ve ark ; 2006; Forbes ve ark; 2007).

Antikorların Fc bölgesini bağlayabilme özelliğinden dolayı protein A'dan, streptokoksik ve gonokoksik infeksiyonlar gibi bazı infeksiyonların tanısı amacıyla serolojik testlerde yararlanılmaktadır. Bu testlerde stafilokoksik protein A ile kaplı partiküller, başka antijenlere karşı oluşmuş antikorlar için non-spesifik taşıyıcı olarak kullanılır. Protein-A antikorların Fc bölgeleri ile bağlandığında, özgül bağlanma bölgeleri olan Fab (antijen bağlayan fragman) bölgeleri serbest kalır. İncelenen örneklerde aranan antijen varsa, meydana gelen antijen-antikor kompleksi gözle görülür kümelerin oluşmasına yol açar. Buna koaglutinasyon adı verilir (Bannerman, 2003; Koneman ve ark; 2006; Forbes ve ark; 2007).

### **1.5.3. Toksinleri**

*S. aureus*, çok sayıda toksin üretir. Toksinler konak hücre morfolojisini ve/veya fonksiyonunu etkiler. Toksinler enzimatik aktivite ile veya süperantijen özellikleri nedeniyle sitokin salınımını indüklemeye etkilerini gösterirler.

Toksin yardımıyla yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde bile stafilokoklar üremelerini devam ettirebilirler. (Washington ve ark; 2006).

### **Sitolitik Toksinler**

Stafilokokların toksinleri, deney hayvanlarında öldürücü, eritrositler ve çeşitli hücreler üzerinde sitolitik, nekrotik etkileri olan ekzotoksinlerdir. Organizma bu toksinlere karşı nötralizan antikor oluşturur. Dört çeşit sitolitik toksin vardır. (Cengiz, 1999).

### **Alfa Toksin**

Kraus ve Clairmont tarafından 1900 yılında belirlenmiştir. Alfa toksin *S.aureus* insan suşlarının ana hemolizindir. Dermonekrotik, hemolitik, lizozom parçalayıcı ve doku kültürlerinde sitolitik etkileri vardır. En fazla tavşan eritrositleri üzerine hemolitik aktivite gösterir. İnsan eritrositlerine etki etmez. İnsan makrofajlarına ve trombositlerine litik etki gösterir, monositlere etki etmez. Dolaşım, kas ve böbrek korteksi dokuları toksine karşı duyarlıdır, bu dokularda tahribat yapar (Washington ve ark; 2006; Nedim, 2010; Waldvogel, 2000). Stafilokok infeksiyonlarında doku yıkımında etkili önemli bir mediyatör olduğu düşünülmektedir (Nedim, 2010).

### **Beta Toksin**

Stafilokok'un sfingomyelinazı olan bu toksin 1935'te Glenny ve Stevens tarafından tanımlanmıştır. Koyun eritrositlerine, insan ve tavşan eritrositlerine göre daha etkilidir (Sürücüoğlu ve ark; 2011; Garrity ve Holt; 2000). Duyarlı hücrelerde, hücre yüzeyindeki sfingomyelin miktarının çokluğuna bağlı olarak hücre parçalanmasıyla sonuçlanabilecek düzeyde membran fosfolipidlerinin hidrolizini katalize etmektedir. Bu durum, değişik türlerde bu toksine duyarlılık düzeyinin farklı olabileceğini düşündürmektedir (Washington ve ark; 2006; Nedim, 2010).

### **Gama Toksin**

1938'de Smith ve Price tarafından tanımlanan gama toksine ; İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri duyarlıdır, at ve kuş eritrositleri dirençlidir. Stafilokoklara ile ilgili kemik infeksiyonlarında, bu toksine karşı kanda antikor düzeyinin yüksek bulunması, bu toksinin bu hastalıklarda etkili olduğunu düşündürmektedir (Washington ve ark; 2006; Nedim, 2010; Waldvogel, 2000 ).

### **Delta toksin**

Bu toksini 1947'de Williams ve Harper tanımlamıştır. İnsan, tavşan, koyun ve maymun eritrositlerini eritir. Protein yapısındadır. Eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratar.

Alfa ve delta toksin, insanlarda infeksiyona neden olan *S.aureus* suşlarında en çok bulunan toksinlerdir. *S. aureus* suşlarında bulunma oranları %95'inde bir tanesi, %82'sinde her ikisi birlikte bulunmaktadır (Washington ve ark; 2006; Tünger ve ark; 2004 ; Waldvogel, 2000).

### **Lökosidin**

Bu toksin polimorf nüveli lökositler ve makrofajlara litik etki gösterir. Toksin elektroforetik olarak farklı F (Fast) ve S (Slow) olarak iki protein yapısından oluşmuştur. F (Fast) ve S (Slow) iyi antijen yapısındadır. Her birinden ayrı toksoid yapı oluşturulur. Hücre zarında potasyum ve diğer katyonlara karşı geçirgenliği artırıcı gözeneklerin açılmasını sağlayarak etkili olurlar (Cengiz, 1999; Washington ve ark; 2006).

### **Panton-Valentine Lökosidin**

İnsan ve tavşan lökositleri ile makrofajlar üzerinde etkili olan bir toksindir. PV-lökosidin, iki protein komponentinden yapılmış olup, her ikisi de antijeniktir. Bu komponentler sinerjistik etki ile lökositlerin hücre membranına etki ederek degranülasyona neden olurlar ve hücre erimesine sebep olarak lökosidal aktiviteyi gerçekleştirirler (Washington ve ark; 2006; Nedim, 2010). Panton-Valentine lökosidin şiddetli akciğer ve cilt infeksiyonları ile ilişkili bir sitotoksindir (Nedim ,2010).

### **Enterotoksinler**

Isıya dirençlidir. 100°C'ye 30 dakika dayanabilirler. polipeptit yapısındadırlar. Özellikle yüksek CO<sub>2</sub>'li atmosfer ortamında karbonhidratlı ve proteinli

besiyerlerinde üreyen stafilokoklar tarafından oluştururlar. Enterotoksinin A, B, C1,C2, D, E ve F şeklinde yedi immünolojik tipi vardır. *S. aureus* kökenlerinin %35-50'sinin bu toksinleri oluşturabildikleri saptanmıştır. A ve D besin zehirlenmelerinde, B ise hastane infeksiyonlarında çok karşılaşılan bir toksindir. İshal oluşturmaları barsak lümeninden su absorpsiyonunun engellenmesi ve mukozadan barsak boşluğuna sıvı boşalmasının artması yoluyla olur (Waldvogel, 2000; Bilgehan 2000).

### **Eksfoliyatif Toksin (Eksfoliyatin)**

Epidermolitik toksin diye de bilinir. Stafilokok infeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumludur. Antijenik ve biyokimyasal özellikleri bakıldığında en az iki farklı eksfoliyatin bulunduğu görülmüştür. A tipi kromozomal, B tipi plazmide bağlı olan genlerce oluşturulur (Nedim, 2010; Bilgehan, 2000). Bu toksinler sitoliz ya da inflamasyonla ilişkili değildir ve hasta epidermiste ne stafilokok ne de lökosit bulunmaz. Epidermis toksine maruz kaldıktan sonra koruyucu antikorlar gelişmekte ve toksin etki ortadan kalkmaktadır (Nedim, 2010).

### **Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)**

Toksik şok sendromuna ekzotoksin C ve enterotoksin F olarak isimlendirilen iki proteinin yol açtığı düşünülmekteydi ancak daha sonra yapılan araştırmalarda bu iki toksinin aynı olduğu anlaşılmış ve toksik şok sendromu toksini-1 olarak yeniden isimlendirilmiştir (Washington ve ark; 2006).

Bu grupta bulunan stafilokokların büyük bir bölümü faj-1 grubundan 29 ve 52 tiplerindedir. TSST-1, T lenfositleri aktive ederek yoğun sitokin salınımına neden olur. Sıklıkla menstrasyon dönemindeki vajinal tampon kullanan kadınlarda görülür. TSST-1 mukozal bariyerlerden penetre olabilmekte ve bu nedenle vajina ya da yara gibi bir ortamda lokalize olduğu halde sistemik etki ile TSS tablosuna yol açabilmektedir. Hastalık ateş, diyare, kusma, deri döküntüleri, hipotansiyon ve multi organ yetmezliği ile seyretmektedir. Bu özgül toksini salgılayan *S. aureus* suşlarının



hastane kaynaklı olabileceği bildirilmektedir (Cengiz, 1999; Nedim, 2010; Tünger ve ark; 2004; Bilgehan, 2006).

#### 1.5.4. Enzimleri

##### **Katalaz**

Tüm stafilokoklar katalaz enzimi üretirler. Katalaz, hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırır. Dolayısıyla, toksik hidrojen peroksit ve serbest radikallerini inaktive ederek mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarına karşı korur. Eritrositlerde de katalaz enzimi bulunduğundan dolayı, test kan içermeyen besiyerlerinde üretilmiş bakterilerde yapılır (Bannerman, 2003; Koneman ve ark; 2006; Forbes ve ark ; 2007).

##### **Koagülaz**

Ekstrasellüler bir proenzimdir. Coagulase-Reacting factor (CRF) ile reaksiyona girerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır. Koagülaz testi *S. aureus* için standart bir belirleyicidir. *S. aureus* suşları bağlı koagülaz (clumping factor =kümeleş tirici faktör) ve serbest koagülaz olmak üzere iki tip koagülaz enzimi üretir.

Bunlar immünolojik olarak farklı olduğu gibi, etki mekanizmaları da farklıdır. Hücre duvarında bulunan bağlı koagülaz direkt olarak fibrinojeni çözülemeyen fibrine dönüş türür. Bunun sonucunda hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu meydana gelir ve stafilokokların kümeleşmelerine yol açar. Serbest koagülaz da bir globülin plazma faktörü CRF ile reaksiyona girerek trombin benzeri bir faktör (stafilotrombin) oluş turmak sureti ile yine stafilokokların kümeleşmesine yol açar. Bu faktör fibrinojenin, çözülemeyen fibrine dönüşümünü katalizler (Koneman ve ark; 2006; Forbes ve ark; 2007).

Koagülaz *S. aureus* için bir virulans faktörüdür. Fibrin tabakası Koagülaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşur, bu tabaka stafilokokları fagositoza karşı korur, patojenitesini artırır. Stafilokoksik absenin etrafında bir fibrin tabakasının oluşmasını sağlayarak infeksiyonu lokalize edebilir ve organizmalar fagositozdan, immün

sistemin diğ er hücrese l ve hü moral savun ma mekanizmalarından koruyabilir (Bannerman, 2003; Koneman ve ark; 2006; Forbes ve ark; 2007).

### **Hiyaluronidaz**

*S. aureus* suşlarının %90'ı hiyaluronidaz üretir. Bu enzim bağ dokusunun matriksinde bulunan mukopolisakkarid yapısındaki hiyaluronik asidleri hidrolize eder ve mikroorganizmanın kolayca yayılmasını sağlar (Franklin, 1998; Koneman ve ark ; 2006, Iwatsuki ve ark; 2006).

### **Fibrinolizin**

Stafilokinaz adı da verilen bu enzim tüm *S. aureus* suşları tarafından oluşturulur ve fibrin pıhtılarını çözer. Fibrin kılıflarının yıkımı enfeksiyonun dokularda daha kolay yayılmasına yol açar. Stafilokokların oluşturduğu kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni aktive ederek plazmin oluşturur. Fibrinolitik etki bu madde aracılığıyla oluşur. Stafilokinaz *sak* geni tarafından kodlanır. Enzimin üretimi bazı suşlarda bir faj genomunun kontrolü altındayken, diğ er suşlarda kromozomal genler tarafından kontrol edilir. Stafilokinaz ayrıca IgG'yi ve kompleman C3b bileşenini parçalayarak bakteriyi fagositoya karşı korur (Bokarewa ve ark; 2006).

### **Lipaz**

Tüm *S. aureus* suşları ve KNS' ların %30 undan fazlası çeşitli lipazlar oluşturur. Bu enzimler stafilokokların vücudun sebace bölgelerinde yaşayabilmeleri için gereklidir. Lipidleri hidrolize ederek stafilokokların cilt ve cilt altı dokularda yayılmasını kolaylaştırır. Ayrıca yüzeysel cilt enfeksiyonlarının gelişmesinde önemli rol oynadıkları düşünölmektedir (Murray ve ark; 2005).

## **DNaz**

DNaz ve ısıya dayanıklı stafilokoksik nükleaz (Termonuclease [TNase]), endo ve ekzo nükleolitik aktivite gösteren enzimler olarak sentezlenir. Her ikisi de DNA ve RNA'yı nükleotidlere parçalar. DNaz *S. aureus* 'ların %90'dan fazlasında bulunan, hücre dışı bir enzimdir. Bu nedenle DNaz testi, laboratuvarında *S. aureus* suşlarının ayrıca tanısında kullanılabilir. *S. aureus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius* ve *S. Hyicus* suşlarının çoğu DNaz oluştururken, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. carnosus* çok zayıf DNaz aktivitesine sahiptirler. Test, ticari olarak mevcuttur (DNaz test agar, metil yeşili içeren DNaz test agar, toluidin mavisi içeren DNaz test agar) ve sonuçlar 35°C de 13-24 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilir (Bannerman, 2003; Forbes ve ark; 2007).

## **Isıya-Dayanıklı Nükleaz (Heat-Stable Nuclease)**

TNaz nükleaz (*nuc*) geni tarafından kodlanır, DNA'yı nükleotidlere parçalar. *S.aureus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius* ve *S. hyicus* suşlarının çoğu TNaz oluştururken, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. carnosus* çok zayıf TNaz aktivitesine sahiptirler. *S.aureus* TNaz aktivitesini diğerlerinden ayırt etmek için (*nuc* geni) PZR ve seroinhibitör testleri kullanılır. Bu amaçla DNaz test besiyerleri (DNaz test agar, toluidin mavisi içeren DNaz test agar) kullanılarak üzerinde 3 mm çapında bir delik açılır ve test edilen organizmanın sıvı besiyerinde üretilen kültürü, 15 dakika kaynatılarak deliğe aktarılır ve sonuç 35°C de 4 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirilir (Bannerman, 2003).

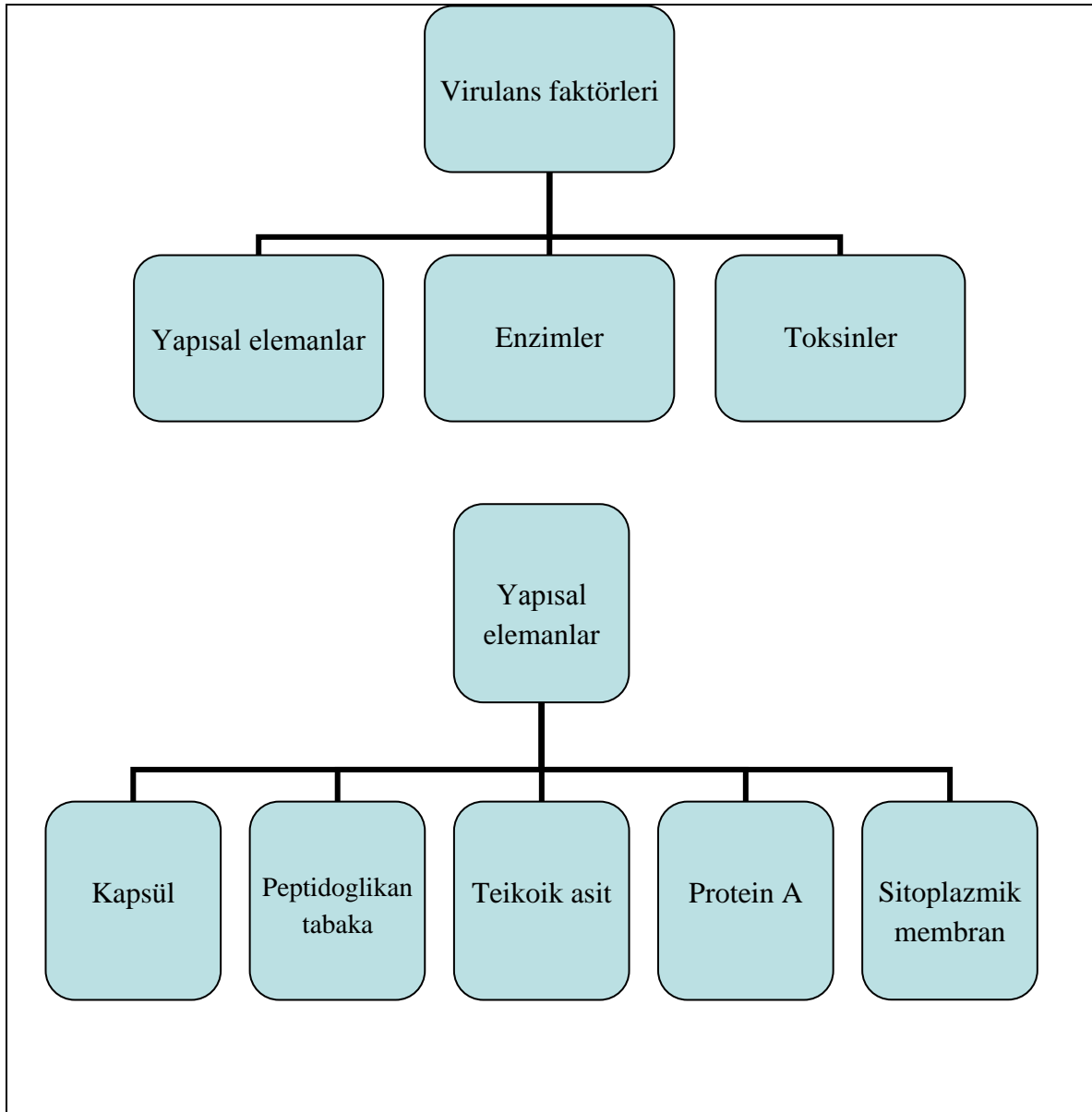
## **Fosfatidilinozitol-Spesifik Fosfolipaz C**

*S. aureus* suşları fosfatidilinozitol (PI)-spesifik fosfolipaz C (PI-PLC) sentezleyerek, ökaryotik hücrelerin fosfolipid inositol içeren zarlarını hidrolize eder ve bozulmalarına neden olur. PI-PLC özellikle erişkin tip solunum zorluğu sendromu (ARDS) ve yaygın damar içi koagülopatisi (DIC) bulunan hastalardan izole edilen suşlarda bulunan bir enzimdir (Daugherty ve Low; 1993; Koneman ve ark; 2006).

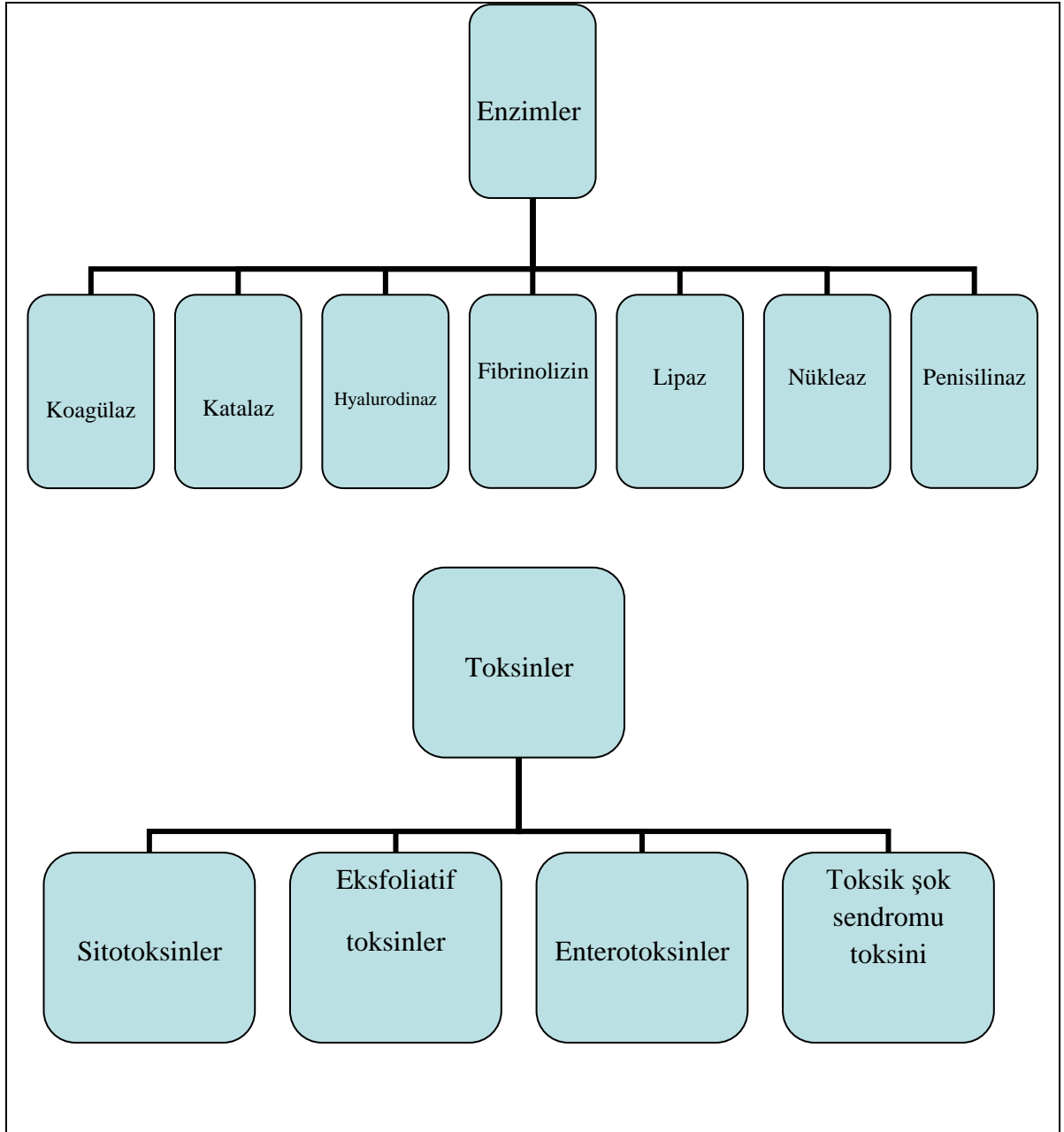
## Beta Laktamaz

Bu enzimi sentezleyen suşlar, özellikle penisilin ve sefalosporinler gibi beta laktam halkası bulunan hücre duvarı inhibitörlerine karşı dirençlidirler. Bu suşlarda aynı zamanda eritromisin ve tetrasiklin gibi çok sayıda antibakteriyel ajanlara karşı direnç de sık görülür. Bu enzimler plazmid kontrolünde sentezlendiklerinden dolayı, konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla bakteriler arasında yayılım oldukça yaygındır (Koneman ve ark; 2006).

Çizelge 1.1. *S.aureus*'un virulans faktörleri



Çizelge 1.1. S.aureus'un virulans faktörleri devamı



## 1.6. Epidemiyoloji

Stafilokoklar doğada yaygın olarak bulunur. Kuş ve memelilerin daha çok deri ve deri ile ilişkili bezlerinde bazende orofarinks, gastrointestinal ve ürogenital mukozada kolonize olurlar (Bannerman, 2003). Yeni doğmuş bebeklerde göbek çevresi, perianal bölge, deri ve bazende gastrointestinal sistemde kolonize olur.

İlerleyen yaşlarda ise *S. aureus*'un en önemli kolonizasyon bölgesi burun deliklerine yakın burun mukozası ön kısmıdır (Dündar ve ark; 2002). Buradan öksürük ve aksırık damlacıkları aracılığıyla yayılarak taşıyıcı kimselerin derisine ve başka bireylerin deri ve üst solunum yollarına bulaşır (Dokuzoğuz, 2004). Burun taşıyıcılığında kolonize olan mikroorganizma sayısı  $10^2$ - $10^3$  kadar olabilir ve aynı kişide birden fazla suş aynı anda bulunabilir. Sağlıklı insanlarda kolonizasyon oranı %10-20'si kalıcı olmak üzere %30-50 arasında değişmektedir. Toplumun %20'sinde ise hiçbir zaman taşıyıcılık görülmemektedir (Usluer, 2004). Hastane personeline ise %50-90'lara kadar ulaşabilmektedir. Stafilokoklar direkt temasla veya kontamine araç ve gereçlerle de yayılabilir. Bu yüzden tıbbi personel diğer hastalara stafilokokların bulaşmasını önlemek için ellerini yıkamaya özen göstermelidir (Dokuzoğuz, 2004). Tip 1 diyabetli hastalar, intra venöz uyuşturucu kullananlar hemodiyaliz ve cerrahi hastaları, atopik dermatitler, kazanılmış immün yetmezlikli (AIDS) hastalar ve IL-2 tedavisi görenlerde kolonizasyon oranı genel popülasyona göre çok daha yüksektir.

Stafilokoklar yüksek sıcaklığa, dezenfektanlara ve antiseptik solüsyonlara duyarlıdır. Ancak kuru yüzeyler üzerinde uzun süre canlı kalabilirler (Dündar ve ark; 2002; Waldvogel, 2000). Stafilokok infeksiyonları dünyanın her yerinde çok yaygın bir şekilde görülmektedir. Genellikle mevsimsel farklılık göstermez. Ancak istisnai durum besin zehirlenmeleridir. Bu tablo yaz aylarında daha sık görülmektedir. (Mahon, 2007)

Çizelge 1.2. Toplum Kökenli -MRSA ve Hastane Kökenli -MRSA arasındaki farklılıklar

|   | <b>Toplum kökenli</b>   | <b>Hastane kökenli</b>  |
|---|---|---|
| <b>Risk grubu</b>                                 | <b>Huzur evi, öğrenci yurdu, kreş vb. Toplu ortamlarda bulunan veya çalışan; taşıyıcılık olasılığı yüksek olan kişilerle temas.</b> | <b>-Hastanede yatarak tedavi olmuş hastalar,<br/>-Hastane kökenli -MRSA taşıyıcısı olabilecek kişilerle direk ya da dolaylı temas,<br/>-Böbrek yetmezliği olup tedavi görenler, şeker hastaları vb.</b> |
| <b>Genel infeksiyon bölgesi</b>                   | <b>Deri ve yumuşak doku</b>   | <b>Solunum ,üriner sistemi,katater aracılı infeksiyonlar ve sepsis</b>  |
| <b>SCCmec</b>                                     | <b>4(yaygın genotip),5,7</b>  | <b>1,2,3</b>  |
| <b>Panton-Valentin lökositidin Varlığı</b>        | <b>Genellikle mevcut</b>  | <b>Nadir</b>  |
| <b>Non beta laktam antibiyotiklere duyarlılık</b> | <b>Genellikle duyarlı</b>   | <b>Genellikle dirençli</b>  |

## 1.7. İnfeksiyonları

*S.aureus* diğer stafilokoklar arasında en önemli patojendir (Koneman ve ark; 2006; Tünger ve ark; 2005). *S.aureus* infeksiyonlarının oluşmasında çeşitli predispozan faktörler vardır. Bunların başında fagositer sistem yetersizlikleri bulunmaktadır. Hastaneye yatış, tanı yada tedavi amaçlı kullanılan yabancı cisimler, deri yaralanmaları ve başta influenza olmak üzere viral infeksiyonlar *S.aureus* infeksiyon sıklığını artırır. Diabetik hastalarda *S.aureus* infeksiyonları için önemli bir risk grubudur (Usluer, 2004).

### ***S. aureus*'un Oluşturduğu İnfeksiyonlar;**

- Deri ve yumuşak doku infeksiyonları
- Bakteriyemi ve endokarditler
- Organ infeksiyonları
- Toksin kaynaklı infeksiyonlar

Son yıllara kadar izole edildiğinde kültür kontaminant olarak kabul edilen KNS'lerin birçok çalışma ile ciddi oranda infeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir.

KNS'ler hastane kaynaklı infeksiyonlarda önemli oranlarda izole edilirken, toplumdan edinilmiş infeksiyonlarda da sık karşılaşılır hale gelmiştir. (Branger ve ark; 1990) KNS'lerin etken olduğu infeksiyonların çoğu kateter veya yabancı cisim ile ilişkilidir. Doğal kapak endokarditi ve peritoneal diyaliz kateter infeksiyonları dışında *S. epidermidis* infeksiyonlarının büyük kısmı hastane kökenli iken *S. saprophyticus* infeksiyonları ise genellikle toplum kaynaklıdır (Dündar ve ark; 2002).



Çizelge 1.3. Stafilokokların sebep olduğu infeksiyonlar

| <b><i>S.aureus</i>'un neden olduğu İnfeksiyonlar</b>   | <b>Koagülaz negatif stafilokok İnfeksiyonları</b>   |
|--|---|
| Deri ve yumuşak doku infeksiyonları <ul style="list-style-type: none"> <li>• Karbonkül</li> <li>• İmpetigo</li> <li>• Follikülit</li> <li>• Fronkül</li> </ul> Organ infeksiyonları <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pnömoni</li> <li>• Ampiyem</li> <li>• Osteomyelit</li> <li>• Septik artrit</li> </ul> Toksin aracılı infeksiyonlar <ul style="list-style-type: none"> <li>• Haşlanmış deri sendromu</li> <li>• Besin zehirlenmesi</li> <li>• Toksik şok sendromu</li> </ul> Bakteriyemi ve endokartid | Endokardit <ul style="list-style-type: none"> <li>Katater ve şant infeksiyonları</li> <li>Üriner sistem infeksiyonları</li> </ul> |

### 1.7.1. Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

#### İmpetigo

Dermisi tutan yüzeysel deri infeksiyonudur. En sık yaz aylarında ve çocuklarda görülür. Stafilokoklar en sık rastlanan etkenlerdir. Ancak %10 oranında *Streptococcus pyogenes*'de etken olabilmektedir. Yüz ve bacaklar gibi vücudun açıkta kalan kısımlarında, deri yada mukoza bütünlüğünün bozulması sonucunda meydana gelir. Son derece bulaşıcıdır ve yayılımı direkt temas yoluyla olmaktadır. Lezyon kırmızı bir makülle başlar, eritemli veziküle dönüşür. Vezikül yırtılarak, etrafı eritemli, deriden 1 cm kabarık, sarı, ıslak krut ortaya çıkar. Skar bırakmadan iyileşir. Sistemik semptom bulunmaz tedavi vermeden kendiliğinden iyileşebilir.

Ancak yayılımını ve nüksü engellemek için antibiyotik tedavisi verilmelidir (Usluer, 2004).

### **Folikülit**

Kıl folikülü ve apokrin bölgeyi içine alan iyi seyirli piyodermilerdir. Ortası endüre çevresi ağırlı ve hiperemik lezyonla karakterizedir. Sistemik semptom bulunmaz. Tedavide lokal antiseptikler yeterlidir (Usluer, 2004).

### **Fronkül**

Folikülitin daha derin inflamatuvar nodüle dönüşümüyle fronkül meydana gelir. Yaygın bir infeksiyondur. Vücudun kıl dokusundan zengin olan yüz, boyun, koltuk altı ve kalça bölgesi gibi bölgelerinde oluşur. ağırlı kırmızı bir nodülle başlar. Hızla genişleyerek, 1-2 cm çapında, ortası endüre lezyona döner. Spontan rüptür sonucunda yada cerrahi insizyon ile drene olur. Özgül tedavisi yoktur spontan apsem drenajı veya cerrahi eksizyon ile iyileşir (Usluer, 2004).

### **Karbonkül**

Birçok kıl folikülünü bir arada tutan özellikle boyunda deri altı dokulara ilerleyen, daha sonra birden fazla sinüsle dışarı açılan, ağırlı, daha büyük lezyonlardır (Dündar ve ark; 2002). Hipertrofik skar dokusu bırakarak iyileşir. Genellikle sistemik semptomlar ve bakteriyemiyle birlikte bulunur. Tedavide oral antibiyotikle beraber intranazal antistafilokokal pomadlar kullanılmalıdır (Usluer, 2004).

## **1.7.2.Organ İnfeksiyonları**

### **Pnömoni**

Toplumdan kazanılmış *S. aureus* pnömonisi en sık viral alt solunun yolu infeksiyonlarından sonra görülür. Genellikle influenza infeksiyonundan birkaç gün sonra başlar. İnfluenza epidemilerinin olduğu dönemlerde sıklığı artar. Hastane kökenli *S. aureus* pnömonisi entübasyon yada aspirasyon sonucu meydana gelir ve

%10 oranında ampiyem gelişir. İnfekte trombotik emboli yada triküspiddeki jetasyonlara bağlı olarak hematojen yolla *S. aureus* pnömonisi gelişebilir. Tedavide semisentetik penisilinler veya glikopeptitler iki hafta süreyle kullanılmalıdır (Usluer, 2004).

### **Ampiyem**

Plevral en sık rastlanılan nedeni *S. aureus*'dur. *S. aureus* pnömonisi yada apsesine sekonder olarak meydana gelebilir. Başlangıçtaki hastalık (pnömoni, apse vb.) bulgularına ek olarak göğüs ağrısı, ateş, nefes almada zorluk, taşikardi ve plevral efüzyon bulunur. Tanı plevral sıvısının bakteriyolojik muayenesi ile konulur. Akciğer grafisi, tomografi ve ultrasonografi tanıda yardımcı olur. Tedavide ampiyem drene edilmeli ve antistafilokokal antibiyotikler kullanılmalıdır (Usluer, 2004).

### **Osteomyelit**

Akut osteomyelitin en sık rastlanan nedenidir. En sık 12 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Yenidoğanda daha çok umbilikal infeksiyon sonrası hematojen yayılımla özellikle alt ekstremitelerde gelişir. Yüksek ateş ve uzun kemiklerin metafiz bölgesinde ağrı ile ortaya çıkar. Erişkinlerde *S. aureus*'un hematojen yolla yayılımı sonucunda vertabralarda osteomyelit sıklıdır. Ortopedik cerrahi yada tramaya sekonder olarakta *S. aureus* osteomyeliti gelişebilmektedir. *S. aureus* osteomyelitlerinde prognoz iyi olup tam iyileşme %90 civarındadır. Beta lakamazlara dirençli semisentetik penisilin yada vankomisin ile 4 hafta tedavi edilmelidir (Usluer, 2004).

### **Septik Artrit**

Puberte öncesinde gelişen septik artritlerde en sık rastlanılan etken *S. aureus*'tur. Erişkinlerde ise septisemi komplikasyonu olarak yada romatoid artrite sekonder gelişir. Tutulan eklem şiş, sıcak ve ağrılıdır. Kalça, diz, omuz, el bileği ve parmak eklemlerinde görülür. Tanı eklem aspirasyonu ile konulur. Yayımda polimorfonükleer lökositler ve gram pozitif koklar görülür. Tedavi osteomyelitte olduğu gibidir (Usluer, 2004).

### 1.7.3. Toksin Aracılı İnfeksiyonlar

#### Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu

Genellikle 0-2 yaş gurubunda görülür. Eksfoliyatif toksin salgılayan *S. aureus* tarafından oluşturulur. (Eksfoliyatif toksin A ve B) Hastalık büyük büller ve epidermiste geniş katlar halinde ayrılmayla karakterizedir. Büllerden mikroorganizma izole edilebilir.

Mukozal tutulum yoktur. Sağlam görünen deri hafif bir sürtünme ile soyulur. Buna Nikolsky belirtisi denir. Ciddi sıvı ve elektrolit kaybı sonucu hipovolemi ve sepsis oluşabilir. Tedavide beta-laktamazlara dirençli beta-laktam antibiyotikler parenteral olarak kullanılmalı ve sıvı-elektrolit kaybı yerine konmalıdır (Dündar ve ark; 2002; Usluer, 2004).

#### Stafilokokal Besin Zehirlenmesi

Genellikle salgınlar şeklinde görülür. *S.aureus* ile kontamine gıdalarda bakteri tarafından salgılanan enterotoksinlere bağlı olarak ortaya çıkar. Toksinler ısıya dirençli olup kaynatmakla yada pişirmekle inaktive olmaz. Besin zehirlenmelerinin en sık rastlanan nedenlerinden olup sıklığı %30 civarındadır. Etken yemeği hazırlayan kişiden izole edilir. Sütü tatlılar, etli yiyecekler, patates salataları, ve dondurma en sık rastlanılan besinlerdir. Besinler görünüş ve koku olarak normaldir. İnkübasyon süresi 2-6 saattir. Akut sekresyon artışı, bulantı ve kusmayla başlar. Kramp tarzında karın ağrısı ve ishalle devam eder. Ateş ve nörolojik bulgu yoktur. Prognoz iyi olup tüm semptomlar 8 saatte düzelir. Tedavide sıvı-elektrolit kaybının yerine konulması esastır. Antibiyotik tedavisi gerekmez (Dündar ve ark; 2002; Usluer, 2004).

#### Toksik Şok Sendromu

1980'li yıllarda yüksek emicilik özelliği olan tampon kullanan kadınlarda menstrüasyon sırasında oluşan bir hastalık olarak dikkati çekmiştir.Daha sonraları tampon dışında vajinal infeksiyonlar, kontraseptif araç kullanımı,düşükler, cerrahi

yara infeksiyonları ve osteomyelitler sonrasında da görülebildiği fark edilmiştir. Olguların %50'sinde TŞST-1 üreten *S. aureus* suşları sorumlu iken diğer %50'sinde enterotoksin B ve C'nin sorumlu olduğu anlaşılmıştır. Şiddetli miyalji, ateş, kusma ve ishal en belirgin semptomlardır. Tedavide hızlı sıvı- elektrolit ve kolloid replasmanı çok önemlidir. Penisilinaza dirençli antistafilokokal penisilinlerle 8-10 günlük IV tedavi yapılmalıdır (Dündar ve ark; 2002).

#### **1.7.4. Bakteriyemi ve Endokardit**

Toplumdan kazanılmış stafilokokal bakteriyemi genellikle sellülit, osteomyelit, endokardit ve pnömoni gibi bir odakta kaynaklanırken, hastane kökenli stafilokokal bakteriyemi daha çok kateterlerden ve diğer invaziv girişimlerden kaynaklanmaktadır. Stafilokokal bakteriyemilerin %86'dan fazlası nozokomiyal kökenlidir (Dündar ve ark; 2002). Mortalite özellikle hastane kökenli infeksiyonlarda yüksek olup %80'lerin üzerine çıkabilmektedir. Diyabetik hastalar stafilokokal infeksiyonlar için önemli risk grubudur (Usluer, 2004). Değişik vücut bölgelerine yayılarak osteomyelit, septik artrit, menenjit, infektif endokardit, septik şok, dissemine intravasküler koagülasyon ve diğer tüm viseral organlarda stafilokokal infeksiyonlar ortaya çıkabilir (Tünger ve ark; 2004; 2005). *S. aureus*'un etken olduğu endokarditler akut başlar ve hızlı ilerler. En çok mitral kapağı tutar. Aort kapağı tutulumunda prognoz daha kötüdür. Hastaların çoğunda altta yatan başka bir kapak hastalığı yoktur. Mitral veya aort kapak tutulumlarında metastatik infeksiyonlar çok yaygındır ve mortalite %40'lara ulaşır. İntravenöz ilaç alışkanlığı olanlar, yaşlılar, protez kapağı olanlar ve hastanede yatan hastalarda *S. aureus* endokarditi görülme olasılığı daha fazladır (Bannerman, 2003; Dündar ve ark; 2002; Tünger ve ark; 2005).

#### **1.7.5. Koagülaz Negatif Stafilokok İnfeksiyonları**

##### **Endokardit**

KNS'lere bağlı doğal kapak endokarditi çok nadirdir (endokarditlerin %5'i). Protez kapak endokarditlerin ise en sık nedenidirler. Cerrahiden sonraki 2-12 ay arasında

görülen protez kapak endokarditlerinin %60-80'inden *S.epidermidis* sorumludur. Diğer KNS 'ler ve özellikle *S. lugdunensis*'in etken olduğu endokarditlerde bildirilmektedir. *S. lugdunensis* kapak destruksiyonuna yol açarak normal kapaktada endokardit yapabilmektedir. *S. lugdunensis*'in neden olduğu endokarditler diğer KNS endokarditlerinden daha ağır seyreder. Doğal kapak endokarditleri genellikle toplum kaynaklı olup antibiyotiklerle daha kolay tedavi edilebilirken, protez kapak infeksiyonları çoğunlukla hastane kaynaklıdır ve birçok antibiyotiğe dirençlidir. Tedavide hem cerrahi olarak protez kapağın değiştirilmesi hem de antibiyotikler kullanılır (Aydın, 2004).

### **Katater ve Şant İnfeksiyonları**

Katater ve şant infeksiyonlarının %50'sinden fazlasına KNS'ler neden olur. En sık etken *S. epidermidis*'dir. *S. epidermidis*'in özellikle katater, şant, plastik protez gibi yabancı cisimlerin bulunduğu ortama ilgileri büyüktür. Bu cisimlerin etrafına organizma tarafından kaplanan fibronektin, fibrinojen, vitronektin gibi proteinler stafilokokların kolayca yapıştığı konak proteinleridir. Bu şekilde yabancı cisimlerin etrafına yayılarak bir biyofilm oluşturan *S. epidermidis*'ler oluşturdukları glikokaliks kapsül niteliğindeki bir maddenin içerisinde kalarak antibiyotiklerden ve organizmanın bağışıklık sisteminden korunurlar (Bannerman, 2003; Koneman ve ark; 2006).

### **Üriner Sistem İnfeksiyonları**

*S. saprophyticus* özellikle sağlıklı kadınlarda komplike olmayan akut üriner sistem infeksiyonu etkenleri arasında *E. coli*'den sonra ikinci sırayı almaktadır (Waldvoger, 2000). Hastanede yatan hastalarda idrardan izole edilen tüm bakteriler içinde KNS'ler %5'ten daha düşük oranlardadır ve en sık etken *S.epidermidis*'dir. Tedavi organizmanın antibiyotik duyarlılıklarına göre yapılmalıdır (Aydın, 2004).

## 1.8. Tanı

### Direkt Gram Boyama

Stafilokoklar, klinik örneklerin direkt gram boyamasında 0,5-1,5 µm çapında, gram-pozitif veya gram-değişken koklar şeklinde görülürler. Tekli, ikili, kısa zincirler halinde veya küme yapmış formda PMNL'lerin içinde veya dışında görülebilirler. Stafilokoklar besiyerinden hazırlanan preparatta, küme-üzüm salkımı yapmış gram pozitif koklar şeklinde görülür. Fakat klinik örnekte tek hücre veya küçük gruplar halinde görünüm daha yaygındır (Koneman ve ark; 1997; Mahon; 2007).

### Kültür

Stafilokoklar rutin besiyerlerinde özellikle koyun kanlı agarda kolaylıkla ürerler. Eğer örnekler kontamine ise Mannitol salt agar (MSA), Columbia kolitsin nalidiksik-asit besiyeri (CNA) veya Feniletıl alkol agar (PEA) gibi selektif besiyerlerine ekim yapılabilir. Mannitol salt agar *S. aureus*' un selektif izolasyonu için uygun bir besiyeridir (Mahon, 2007).

### Katalaz Testi

Stafilokok ve mikrokoklar katalaz testi ile streptokok, enterokok ve streptokok benzeri bakterilerden ayrılırlar. Katalaz testi lam üzerinde %3 hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile uygulanır. Hızlı ve kuvvetli balonlanma  $H_2O_2$ 'nin su ve oksijene dönüşümünün göstergesidir. Kan içermeyen besiyerinden yapılması tercih edilmelidir. Çünkü kırmızı kan hücreleri zayıf pozitif katalaz reaksiyonuna neden olabilirler. Stafilokokların nadir suşları katalaz negatif olabileğİ gibi bazı enterokoklar da pseudokatalaz üreterek  $H_2O_2$  ile zayıf tepkimeye girebilirler (Koneman ve ark; 1997; Bilgehan, 2004).

### Mikrokok ve Stafilokokların Ayrımı

Klinik örneklerde sık karşılaşılan bu iki katalaz pozitif türün ayırımı için birçok yöntem bulunmaktadır. Glukoz fermentasyonu, lizostafin-furazolidon-basitrasine

duyarlılık, eritromisin varlığında gliserolden asit üretimi ve modifiye oksidaz testi ile iki tür arasında ayırım yapılır. *Staphylococcus* türleri lizostafin ve furazolidona duyarlı, basitrasine dirençlidir. Ayrıca glukozu fermente ederler, eritromisin varlığında asit üretirler ve *S.sciuri*, *S.lentus* ve *S.vitulinus* dışındaki tüm stafilokoklarda modifiye oksidaz testi negatiftir (Koneman ve ark; 1997).

### **Diğer Tanımlama Yöntemleri**

Stafilokok türlerinin tanımlanmasında bir çok ticari kit tanımlama sistemleri ve otomatize sistemler geliştirilmiştir. Bu testler türlerin ayırımını % 70-90 doğruluk oranıyla tesbit etmektedir. Ancak bazı sistemler için güvenilirlik üretici firmanın önerdiği ek testlere dayanır. Bu testler; koagulaz saptanması, “clumping” faktor veya ornitin dekarboksilaz aktivitesi, novobiosin direnci gibi testlerdir (Başustaoğlu, 2009).

Günümüzde mevcut tanımlama sistemlerine örnek olarak RAPIDEC Staph,API STAPH, VITEK, ID32 STAPH, Sceptor Gram-Pozitif MIC/ID panel,STAF-sistem 18-R, MicroScan Pos ID panel, Crystal, BD Phoenix, GP MicroPlate test peneli, MIDI Sherlock tanımlama sistemleri sayılabilir (Koneman ve ark; 1997; Başustaoğlu, 2009 ).

### **Moleküler Testler**

Bazen *S.aureus* izolatları koagülaz ve diğer biyokimyasal testlerde şüpheli sonuçlar verebilir ya da metisilin/oksasilin duyarlılık testlerinin sonuçları şüpheli olabilir. Bu durumlarda alternatif metotlarla tanının doğrulanmasına ihtiyaç duyulur. Metisilin/oksasilin duyarlılığını belirleyen hızlı moleküler testler ile aynı anda *S.aureus*'a özgül hedeflerin tespiti MRSA izolatlarının hızlı tanısına olanak verir (Brown ve ark; 2005).

*S.aureus*'un tanısı için kullanılan moleküler yöntemlerin çoğu PCR temellidir. Nükleaz (*nuc*), koagulaz (*coa*), protein A (*spa*), *femA* ve *femB*, *Sa442*, 16 S rRNA ve yüzey ilişkili fibrinojen bağlayan protein genleri gibi türe özgü bölgeleri amplifiye eden birçok primer geliştirilmiştir (Brown ve ark; 2005).



Bu ve diğ er alternatif moleküler metotlar, son yıllarda tanı ve duyarlılık testlerini kombine ederek geliştirilmiş ve rutin laboratuvarların kullanımına sunulmuştur. MRSA epidemilerinin araştırılması, kolonizasyonun belirlenmesi, infeksiyon kaynağının tesbit edilmesi gibi nedenler ve taksonomik analizler için de moleküler tiplendirmeler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu yöntemler ek maliyet gerektirmektedir. Bu yüzden diğ er yöntemlerle şüpheli sonuçlar alındığında doğrulama amaçlı yapılması önerilmektedir (Koneman ve ark;1997; Ünal, 2008; Brown ve ark; 2005).

### **1.9. *S. aureus* Suşlarında Antimikrobiyal Direnç**

Penisilin 1928 yılında Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş, 1940 yılında klinik kullanıma girmesiyle, stafilokoksik infeksiyonların tedavisinde başarıyla kullanılmaya başlanmıştır. 1944 yılında *S. aureus*' ların %94 ü penisiline karşı duyarlıyken, penisilinaz genlerinin bakteriler arasında yayılması sonucu 1950' li yıllarda hızla direnç gelişmeye başlamıştır. 1960'dan itibaren penisilinaza dirençli penisilinler (oksasilin, nafsilin, metisilin, dikloksasilin ve kloksasilin) kullanılmaya başlanmış ve direnç sorunu geçici olarak ortadan kaldırılmıştır. Ancak bir yıl sonra MRSA suşları ortaya çıkmıştır. Bu suşlar çoğu zaman çoklu antibiyotik direnci göstermektedir. 1970' li yıllardan itibaren MRSA suşları, yaygın olarak kullanılan birçok antimikrobiyal ajanlara ( $\beta$  -laktam antibiyotiklerin yanı sıra kinolonlar, klindamisin, makrolid grubu antibiyotikler, kloramfenikol, tetrasiklinler, aminoglikozidler, trimetoprim/sulfametoksazol, rifampisin) karşı dirençli hale gelmeye başlamıştır (Çokça ve ark; 1998; Chang ve ark; 2003; Lowy, 2003;Delialioğ lu ve ark; 2005;Wikler ve ark; 2007; Janapatı ve ark;, 2007).

Glikopeptitlerin ilk temsilcisi olan vankomisin 1956 yılında kullanıma girmiş ve uzun yıllar dirençli suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde başarıyla kullanılmıştır. Ancak, ilk kez 1997 yılında Japonya' dan, vankomisine ve teikoplanine orta düzeyde dirençli bir *S. aureus* (VISA) suşu bildirilmiştir. (Wikler ve ark; 2007) “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)”, VISA için vankomisin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerini litrede 8-16 mg

olarak tanımlamıştır (Janapatı ve ark; 2007). VISA suşlarının standart disk diffüzyon, broth mikrodilüsyon, agar dilüsyon ve E-test yöntemiyle tespit edilebileceği kabul edilmiştir. ABD’inde, *vanA* geni içeren ilk vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) suşu 2002 yılında bildirilmiştir. Makrolid, linkozamid, streptogramin (MLS) türevi antimikrobikler, makrosiklik lakton halkasından ibaret ortak bir yapıya ve benzer etki mekanizmalarına sahip oldukları için, aynı grupta incelenirler ve MLS grubu olarak isimlendirilirler. Bu grup antimikrobikler bakteri ribozomunun 50 S alt birimine bağlanarak, protein sentezinin elangasyon safhasında peptidil tRNA molekülünün ribozomdan ayrılmasını indükler ve bakteriyel protein sentezini inhibe ederler. Eritromisin klinik kullanıma girmesinden bir yıl sonra ABD, Japonya ve Avrupa’ dan eritromisine karşı direnç bildirilmiştir (Çokça ve ark; 1998; Chang ve ark; 2003; Lowy, 2003; Delialioğlu ve ark; 2005; Wikler ve ark; 2007; Janapatı, ve ark; 2007).

### **1.9.1. Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA)**

Stafilokoklarda metisilin direnci ilk kez 1961’ de, metisilin klinik kullanıma girmesinden kısa süre sonra İngiltere’ de bildirilmiştir. (Shukla, 2005) Hemen ardından Japonya, Avrupa, Avustralya’ya yayılmış ve Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) ilk dirençli olgu 1968 de bildirilmiştir. 1970’ lerin sonunda MRSA suşları klindamisin, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklin, rifampisin, aminoglikozidler gibi çok sayıda antibakteriyel ajana karşı direnç kazanmaya başlamıştır. 1980’ li yıllardan sonra MRSA suşları tüm dünyada hastane infeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralardaki yerini almıştır. MRSA’ lar önceleri önemli bir nozokomiyal patojen olarak kabul edilirken, takip eden yıllarda, toplumda MRSA infeksiyonlarının görülme sıklığındaki artış dikkat çekmiştir. Bugün, hastane kaynaklı *S. aureus*’ ların yaklaşık %40’nda, toplum kaynaklı *S. aureus*’ ların ise yaklaşık %8-20 ‘sinde metisilin direnci saptanmaktadır (Shukla, 2005).

### 1.9.2. Stafilokoklarda Metisilin Direnci Mekanizmaları

Metisiline karşı direnç gelişimi üç şekilde olmaktadır:

1) İntrensek (kromozomal) metisilin direnci: Bu tip direnç en sık rastlanan dirençtir ve yeni bir penisilin bağlayan protein (PBP2a) sentezi ile oluşur. PBP' ler bakteri hücre membranında bulunan  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin bağlandığı hedef proteinlerdir. Bu proteinler bakteriyel hücre duvarının sentezi sırasında peptidoglikan ağına birleşmesinde terminal çapraz bağlanma reaksiyonunu katalizleyen enzimlerdir. Hücre duvarı inhibitörleri de bu proteinlere bağlanarak bakteriyel hücre duvarı sentezini bozarlar. PBP2a'nın  $\beta$ -laktam antibiyotiklere afinitesi diğer PBP'lerden (PBP1, PBP2, PBP3, PBP4) daha düşüktür. Bu nedenle antibiyotik bakteriye yeteri kadar bağlanamaz ve etkinliği azalır (Ünal, 1996; Lowy, 2003; Chongtrakool ve ark; 2006 ).

Molekül ağırlığı 78 kDa olan PBP2a, 2,1 kb'lık DNA segmentine lokalize olan *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gen indüklenebilir bir genidir ve transdüksiyon yoluyla dirençli suşlardan duyarlı suşlara aktarılabilir. Bakteride metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için *mecA* geninin eksprese olması gerekir. Ancak bu ekspresyon her bakteride aynı şekilde olmamaktadır. Bu nedenle *mecA* geni taşıdığı halde metisiline değişik düzeylerde dirençli, hatta duyarlı *S. aureus* suşları bildirilmektedir. Metisilin direnci için *mecA* geninin varlığı mutlaka gereklidir, ancak yeterli değildir. MRSA' larda *mecA* geninin ekspresyonunu etkileyerek fenotipi belirleyen bazı regülasyon mekanizmaları vardır. İntrensek metisilin direnci fenotipik olarak homojen veya heterojen direnç olmak üzere iki şekilde görülebilir. Homojen dirençte koloniyi oluşturan tüm bakteriler *mecA* genini taşırlar. Hepsinde *mecA* geni eksprese olmuştur ve yüksek düzeyde direnç gelişimine yol açar. Direnç gelişimi, ortamın pH'sı , sıcaklığı , tuz konsantrasyonu, inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerden etkilenmez. Ancak klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen stafilokokların az bir kısmında homojen metisilin direnci görülmektedir (Ünal, 1996; Lowy, 2003; Chongtrakool ve ark ; 2006 ).

Uygulamalarda çok sık görülen heterojen direncin çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle tespit edilmesi güçtür. Bu tip dirençte, koloni oluşturan tüm bakteriler *mecA* geni taşımalarına rağmen, direnç ancak  $10^6$  yada  $10^8$  bakteriden birinde tespit edilebilmektedir. Bu durum muhtemelen *mecA* geninin fonksiyonunu kontrol ettiği düşünülen metisilin direncinin ekspresyonu için esansiyel faktör (*femA*) , faktör X veya *mecR*, *mecI* gibi kontrol genlerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Ünal, 1996; Lowy, 2003; Chongtrakool ve ark;2006 ).

2) Beta laktamaz üretimi: Beta laktamaz üretimi metisilin molekülündeki beta laktam halkasını kısmen parçalayarak metisilin direncine yol açar. Beta laktam antibiyotiklerin beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmesi, bu tür direnç gelişimini engeller (Ünal, 1996; Lowy, 2003).

3) Mevcut PBP' lerde beta laktam antibiyotik afinitesinde azalma: Beta laktamaz sentezlemeyen, aynı zamanda *mecA* geni de taşımasına rağmen metisiline dirençli stafilokoklar tespit edilmiştir. İnceleme sonucunda, bu bakterilerin PBP'lerinin  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı düşük afiniteli oldukları belirlenmiştir (Ünal, 1996; Lowy, 2003; Chongtrakool ve ark; 2006 ; Kılıç, 2008).

### 1.9.3. Metisilin Direncinin Belirlenmesi

#### Disk Difüzyon Yöntemi

**Oksasilin Disk Difüzyon Yöntemi:** MRSA izolatlarını saptamak için 1  $\mu$ g oksasilin diski kullanılır. Bakteri süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlanır ve Mueller-Hinton agar (MHA)'a ekim yapılarak 35 °C'de 24 saat inkübe edilir. CLSI önerilerine göre İnhibisyon zon çapı  $\geq 13$  mm ise duyarlı, 11-12 mm ise orta duyarlı,  $\leq 10$  mm ise dirençli olarak kabul edilir (CLSI, 2009).

**Sefoksitin Disk Difüzyon Yöntemi:** 30  $\mu$ g sefoksitin diski kullanılmaktadır. Aynı şekilde bakteri süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlanır ve Mueller-Hinton agar (MHA)'a ekim yapılarak 35 °C'de 24 saat inkübe edilir. CLSI tarafından

belirlenen direnç sınır değerlerine göre İnhibisyon zon capı  $\geq 22$  mm ise duyarlı,  $\leq 21$  mm ise dirençli olarak kabul edilir (CLSI, 2009).

### **Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi**

Bu yöntemde %2 NaCl içeren katyon katkılı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (CAMHB) kullanılır. İnokulum miktarı  $5 \times 10^5$  cfu/ ml olmalıdır ve  $35^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyon önerilir. Antibiyotik olarak oksasilin tercih edilmektedir. MiK değeri  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$  ise duyarlı,  $\geq 4$   $\mu\text{g/ml}$  ise dirençli olarak kabul edilir (CLSI, 2009).

### **Agar Tarama Yöntemi**

Bu yöntemde, 6  $\mu\text{g/mL}$  oksasilin ve %4 NaCl içeren MHA kullanılır.0.5 McFarland bulanıklığa ayarlanmış olan bakteri süspansiyonundan ekim yapılarak 24 saat  $35^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilir. Herhangi bir koloni üremesi halinde test edilen suş metisiline dirençli olarak kabul edilir. Testin duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksektir (CLSI, 2009).

### **E-test Yöntemi**

Prensip olarak E-test yöntemi (AB Biodisk, Solna, İsveç) mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerine benzer. Antimikrobiyal duyarlılığı test etmek için ince plastik test stripleri kullanılır. Striplerin alt yüzeyinde antimikrobiyal konsantrasyonlar kademeli olarak bulunur. Üst yüzeyi ise konsantrasyon indeksi veya ölçek ile işaretlenmiştir. Disk difüzyon testine benzer şekilde agara bakteri inokule edilir ve stripler yerleştirilir. Bir gece inkübe edilir ve strip etrafındaki elips şeklindeki İnhibisyon zonu incelenir. Elipsin e-test sribini kestiği nokta MİK olarak belirlenir (Mahon, 2007).

### **Lateks aglütinasyon Yöntemi**

Lateks aglütinasyon testleri PBP2a'nın lateks ile kaplanmış monoklonal antikorlar ile reaksiyon vermesi esasına dayanır. Kısa bir sürede sonuç verir. Koloni

süspansiyonundan PBP2a ekstraksiyonu yapıldıktan sonra lateksle kaplanmış olan monoklonal antikolarla aglutinasyon tesbit edilir (Sancak, 2007).

### **Kromojenik Besiyerleri**

MRSA saptanması için birçok kromojenik besiyeri bulunmaktadır. Kromojenik besiyerleri hem seçici hemde ayırt edici besiyerleridir. İçerisindeki ayıraçlar sayesinde farklı koloni renkleri oluşturarak tür ayrımı yapılmasına olanak sağlarlar. Bir kısmında seçici antibiyotik olarak sefoksitin bulunurken bir kısmında oksasilin bulunmaktadır. Ancak oksasilin kolay bozulabildiği ve sefamisinler PBP2a'yı daha iyi indüklediği için sefoksitin içeren besiyerleri daha çok kullanılmaktadır. Besiyerine ekim yapıldıktan 24 saat sonra MRSA kolonileri renkli görünümü ile kolaylıkla ayırt edilebilir. Özgüllüğü yüksektir bu yüzden 24 saatte doğrulama yapılmasına gerek yoktur. İnkübasyon 48 saate uzatılırsa özgüllük düşer, ayrıca MRSA saptanmasına katkısı da çok azdır (Gülay, 2009).

### **Moleküler Yöntemler**

MRSA saptanmasında bir çok PCR tabanlı testler tanımlanmıştır. Bu testler PBP2a'yı kodlayan *mecA* geni ile *S.aureus*' a özgü *nuc*, *coa*, *sa442*, *femA*, *femB* gibi genleri tesbit eden multipleks PCR testleridir. Metisilin direncinin doğrulanması , *S.aureus*'un KKV'larının tanımlanması ve kan kültürlerinden MRSA saptanması amacıyla rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaktadır (Gülay, 2009).

Günümüzde doğrudan sürüntü örneklerinden MRSA saptanmasına imkan sağlayan gerçek zamanlı PCR testleri de tanımlanmıştır. Bu testler klasik PCR yöntemine göre daha hızlı ve daha az kontaminasyon riski taşımaktadır. FDA onaylı iki gerçek zamanlı PCR testi bulunmaktadır; GeneOhm MRSA (Becton Dickinson) ve GeneXpert (Cepheid). Bu testlerde *mecA*'yı taşıyan *SCCmec* elemanının çevresindeki *S.aureus*'a özgü diziler hedeflenmektedir. Cepheid GeneXpert *SCCmec* insersiyon bölgesi olan *AttBSc*c bölgesini, GenOhm MRSA ise *SCCmec*'in 3' ucundaki *orfX* bölgesini saptamaktadır. Bu testlerden GeneXpert, özel eğitilmiş bir teknisyen olmaksızın herhangi bir laboratuvarında uygulanabilirken, GeneOhm MRSA

ancak eğitimli teknisyenlerce uygulanabilecek bir testtir. Ayrıca GeneOhmMRSA yönteminde *S.aureus orf X* ile bazı *Staphylococcus epidermidis orf X* bölgelerinde benzerlik olması nedeniyle yalancı pozitif sonuçlar olabilir. Her iki testin maliyeti de yüksektir. GenoType MRSA Direct (Hain Life Science, Nehren, Almanya) diğer bir ticari moleküler yöntemdir. Bu test hedef olarak *SCCmec I-IV*'un amplifiye edildiği bir revers hibridizasyon testidir. Sonuçlar 6-7 saatte çıkmaktadır (Gülay, 2009; Ünal, 2007).

Bu yöntemlerin dışında PNA-FISH ve EvigeneMRSA yöntemleri de bulunmaktadır. PNA-FISH(floresan in situ hibridizasyon) (AdvanDx) KNS/*S.aureus* ayırımı yapılabilen türe özgü ribozomal RNA dizilerine tutunan floresan işaretli peptid nükleik asit problemlerinin kullanıldığı bir yöntemdir. Kan kültüründe üreme saptandıktan ve gram boyalı preparatlarda gram-pozitif kok görüldükten sonra uygulanabilen bir yöntemdir. Ayrıca EvigeneMRSA (AdvanDx) ile kuyucuklara kaplanmış problemler ve sinyal amplifikasyon yöntemi ile kısa sürede sonuç alınabilmektedir. ELISA formatında MRSA saptanmasına olanak sağlamaktadır (Gülay, 2009).

## 2.GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmaya Ankara'daki eczanelerde çalışan 300 eczacı ve eczane personeli dahil edildi. Çalışmamıza alınan kişilere gönüllü bilgilendirme formu verilerek yaş, cinsiyet, son bir yılda hastaneye tedavi amaçlı başvurma, son bir ay içerisinde antibiyotik kullanma, şeker hastası olma, kaç yıldır eczane personeli olarak çalıştıkları şeklinde sorular sorularak bilgiler alındı.

Eczacı ve eczane personelinin her iki burun deliğinden eküvyon yardımıyla alınan örnekler Stuart Transport Besiyerine aktarıldı. Toplamda iki örnek alındı. Örneklerin birisi kültür için kullanılırken diğeri PCR deneyi için -20 °C'ye kaldırıldı.

\*İstatistiksel analiz için bağımsız iki grup arası farkların testi (Independent Samples "t" test) kullanıldı.

### 2.2. Örneklerin Ekimi

Kültür için alınan örnekler % 5 koyun kanlı agar besiyerine ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 1-2 mm çaplı, düzgün yüzeyli, mat beyaz-sarı kolonilerden Gram boyama yapılarak Gram pozitif küme yapan kok şeklindeki bakterilerin kolonileri incelemeye alındı. Oksidaz, katalaz, koagülaz ve DNaz testleri uygulandı. Oksidaz negatif, katalaz pozitif, DNaz pozitif olan kökenler *S. aureus* olarak tanımlandı. *S. aureus* izolatları Oksasilin DDT ve sefoksitin DDT yapılarına kadar saklandı.

### 2.3. Besiyerleri

Stuart Transport Taşıma Besiyeri (Merck)

Blood Agar Base (Oxoid)

Mannitol Salt Agar (Merck)



Mueller-Hinton Agar (Merck)

Trypton Soy Broth (Merck)

Tryptic Soy Agar (Merck)

## 2.4. Besiyerlerinin Hazırlanması

### Stuart Transport Medium

#### **Content of dehydrated culture media**

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| Sodium glycerophosphate | 10g    |
| Sodium thioglycollate   | 0.5g   |
| Cysteine hydrochloride  | 0.5g   |
| Calcium chloride        | 0.1g   |
| Methylene blue          | 0.001g |
| Agar                    | 5.0g   |
| pH                      | 7.4    |

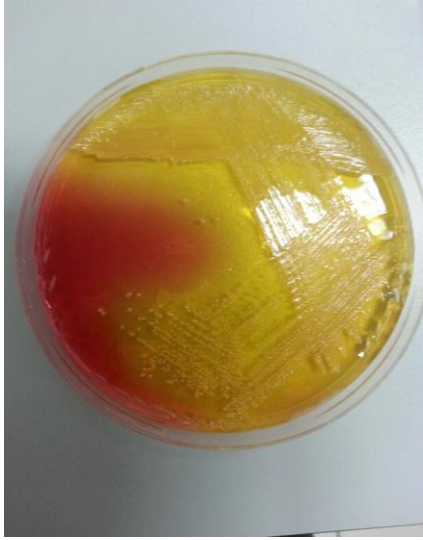
Dehidrate besiyerine 16g/l olacak şekilde distile su ilave edildi ve su banyosunda eritildi. pH 7.4'e ayarlandı. Tüplere bölünerek otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

### Mannitol Salt Agar (MSA)

#### **Content of dehydrated culture media**

|                                |         |
|--------------------------------|---------|
| Pancreatic digest of casein    | 5 g     |
| Peptic digest of animal tissue | 5 g     |
| Beef extract                   | 1 g     |
| D-Mannitol                     | 10 g    |
| Agar                           | 15 g    |
| Sodium chloride (NaCl)         | 75 g    |
| Phenol red                     | 0,025 g |

Dehidrate besiyeri 111g/l olacak şekilde erlen içerinde su banyosunda eritildi. pH 7.4'e ayarlandı. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Uygun sıcaklıkta steril petri kutularına döküldü.



Şekil 2.2. MSA Besiyerinde *S.aureus* görüntüsü

### **Kanlı Agar (Blood Agar Base)**

Dehidrate besiyeri 40g/l olacak şekilde erlen içerisinde su banyosunda eritildi. pH 7.3'e ayarlandı , 121°Cde 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutularak içerisine %5 defibrine steril koyun kanı ilave edilip , karıştırılarak uygun sıcaklıkta petri kutularına dökülmüştür.



Şekil 2.1. Kanlı Agar Besiyerinde *S.aureus* görüntüsü

### **Mueller-Hinton Agar (MHA)**

Dehidrate besiyeri 38 g/l olacak şekilde erlen içerisinde su banyosunda eritildi. pH 7.3'e ayarlandı, 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Uygun sıcaklıkta petri kutularına döküldü.

### **Tryptic Soy Agar**

Dehidrate besiyeri 40g/l olacak şekilde erlen içerisinde su banyosunda eritildi. pH 7.3'e ayarlandı. 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Uygun sıcaklıkta petri kutularına döküldü.

## **2.5. Kimyasal Malzemeler**

Hidroklorik Asit (SIGMA, 96208)

Alkol (MERCK, 1.00986)

Etidyum Bromid (AMRESCO, 0492-5G)

Tavşan Koagülaz Plasması (BBL, 240658)

Hidrojen Peroksit (MERCK, 386790)

Potasyum Hidroksit (KOH),

*Taq* DNA Polimeraz (FERMENTAS, EP0402)

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içeren 10X *Taq* Tampon (FERMENTAS, EP0402)

25 mM MgCl<sub>2</sub> (FERMENTAS, EP0402)

dNTP Karışımı , 2mM (FERMENTAS, R0242)

O RangeRuler 50 bp DNA Ladder (FERMENTAS, SM0613) MassRuler DNA

Ladder Mix (80-10,000 bp) (FERMENTAS, SM0403) 6X Orange DNA Loading

Dye (FERMENTAS, R0631)

## **2.6. Araçlar**

Elektroforez Tankı (THERMO, AMERİKA)

Elektroforez Güç Kaynağı (EC250-09, AMERİKA)

Termal Döngü Cihazı (TECHNE DB2A, İNGİLTERE)

Mikrodalga Fırın (BEKO, TÜRKİYE)  
 Mikrosantrifüj (HERMLE, ALMANYA)  
 Otomatik Pipetler (EPPENDORF, ALMANYA)  
 UV Transilluminatör (VILBER-LOURMAT TFX-20.M, FRANSA)  
 Fotoğraf Makinesi (CANON POWER SHOT G5, KANADA)  
 Vortex (VELP SCIENTIFICA, İTALYA)  
 Soğutmalı Santrifüj (HERMLE Z233 MK-2, ALMANYA)  
 Işık Mikroskobu (ZEISS, ALMANYA)  
 pH Metre (HANNA, PORTEKİZ)  
 Etüv (HERAUS, ALMANYA)  
 Pipetör (GREİNER, ALMANYA)  
 Otomatik Pipetler (TRANSFERPETTE, ALMANYA)  
 Hassas Terazî (SARTORIUS, ALMANYA)  
 Class II Güvenlik Kabini (TECHNOMER, TÜRKİYE)  
 Spektrofotometre (HITACHI, JAPONYA)  
 Steril PZR Tüpü 0,2 ml (AXYGEN, AMERİKA)  
 Steril Filtreli Pipet Ucu 10 µl, 200 µl, 1000 µl (CORNING, MEKSİKA)

## 2.7. Tampon ve Çözeltiler

### **Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) %10**

100 g SDS, 800 ml distile suya eklendi. İyice çözülmesi için 68°C'deki su banyosunda bekletildi. Sonra hacim 1000 ml'ye tamamlandı. 1N HCl ile pH=7,2 ye ayarlandı.

### **Etidyum Bromür (10 mg/ml stok)**

10 mg etidyum bromürün 1 ml distile suda, manyetik çalkalayıcı üzerinde bir kaç saat karıştırılarak çözünmesi ile hazırlandı. Renkli şişeye kondu ve şişenin etrafı alüminyum kağıt ile kapatılarak oda sıcaklığında saklandı. Hazırlanan bu çözeltiden her 100 ml agaroz jele 5 µl etidyum bromür eklenerek (0,5 µg/ml) agaroz jelde

yürütülen DNA'lar işaretlendi. Etidyum bromürün buharlaşmasını engellemek için agaroz iyice çözüldükten sonra, sıcaklığı 60°C'ye gelince etidyum bromür eklendi. Jel eldiven ve maske ile hazırlandı.

### **Agaroz Jel (%3)**

|                     |        |
|---------------------|--------|
| Agar.....           | 5,4 g  |
| 0,5×TBE.....        | 180 ml |
| Etidyum Bromür..... | 9 µl   |

### **Agaroz Jel (%2)**

|                     |        |
|---------------------|--------|
| Agar .....          | 3,6 g  |
| 0,5×TBE .....       | 180 ml |
| Etidyum Bromür..... | .9 µl  |

## **2.8. Diğer**

### **Kontrol Suşları**

Kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* tespiti için ATCC 25923 ve metisilin direncinin tespiti için ATCC 43300 suşları kullanıldı. PCR için Negatif kontrol olarak MSSA ATCC 95045, pozitif kontrol olarak MRSA ATCC 43300 suşları kullanılmıştır.

### **Antimikrobiyal Diskler**

Sefoksitin (30 µg), (BBL, 231590)

Oksasilin Diski (1 µg), (BD BBL, 231319)

## **2.9. Katalaz Testi**

Kanlı agar besiyerinde üretilen *S.aureus* kolonileri besiyeri yüzeyinden, besiyerine dokunulmadan eküvyon yardımıyla dikkatlice alınarak bir lam üzerine bırakıldı. Üzerine bir iki damla %3'luk hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) damlatılıp bir kürdan ile karıştırıldı. Gaz kabarcıklarının oluşması pozitif reaksiyonu gösterdi. Stafilokoklar

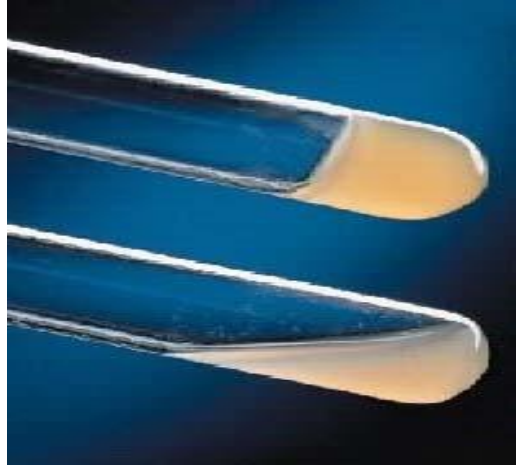
katalaz pozitif reaksiyon vermeleriyle streptokoklardan ayırt edildi. Kontrol suş olarak ATCC 25923 kullanıldı (Bilgehan, 2004).



Şekil 2.3. Katalaz pozitif *S. aureus* görüntüsü

### 2.10. Koagülaz Testi

Gram pozitif mavi-mor ve katalaz testi pozitif sonuç veren kolonilere koagülaz testi yapıldı. Kanlı agar besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonrasında üremiş bir koloni, öze ile alınıp plazma içerisinde ezilerek emülsifiye edildi. Tüpler 37°C'ye kaldırıldı. 2., 4., ve 24. saatlerde pıhtı oluşumu kontrol edildi. pıhtı oluşturmayan suşlar koagülaz negatif kabul edildi. Kontrol suş olarak ATCC 25923 kullanıldı (Bilgehan, 2004).



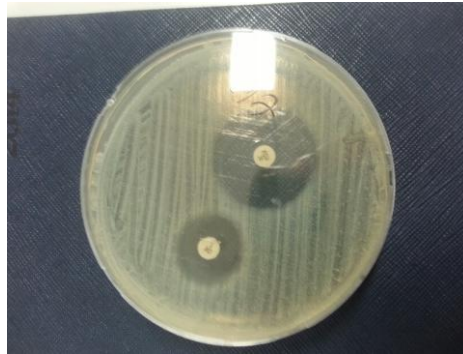
Şekil 2.4. Koagülaz testi pozitif *S. aureus* görüntüsü. (üstte pozitif, altta negatif sonuç)

### 2.11. Disk Difüzyon Yöntemi

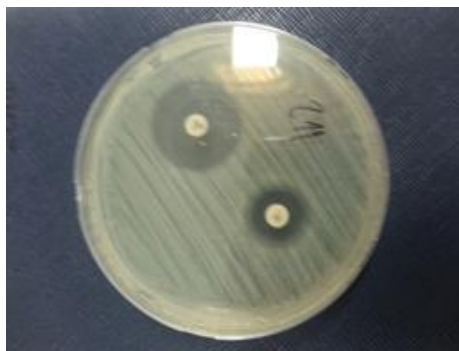
Çalışmada kanlı agardan izole edilen *S. aureus* suşlarında metisilin direncinin tespit edilmesi için oksasilin ve sefoksitin duyarlılıkları kuru disk difüzyon yöntemi olan

Kirby-Bauer yöntemi ile gerçekleştirildi. CLSI önerileri doğrultusunda bakteri süspansiyonu 24 saatlik bakteri kültüründen % 0.9'luk NaCl içinde 0.5 McFarland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) bulanıklığına eşit olacak şekilde, direkt koloni süspansiyonu yöntemi ile hazırlandı ve 4 mm kalınlığındaki Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine eküvyon yardımıyla yayıldı. Mueller-Hinton agar besiyeri (HIMEDIA, Hindistan) toz besiyeri olarak temin edildi ve CLSI önerileri doğrultusunda 4 mm kalınlığında hazırlandı. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra oksasilin (1 $\mu$ g) (Oxoid, Birlesik Krallık) ve sefoksitin (30  $\mu$ g) (Oxoid, Birlesik Krallık) diskleri yerleştirildi (CLSI, 2009).

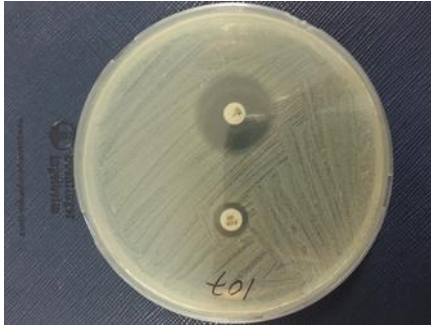
Mueller-Hinton agar besiyerinde 35  $^{\circ}$ C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra disklerin zon çapları ölçüldü. Disk difüzyon testlerinin değerlendirilmesinde CLSI önerilerine göre oksasilin için inhibisyon zon çapı  $\geq 13$  mm ise duyarlı, 11-12 mm ise orta duyarlı,  $\leq 10$  mm ise dirençli olarak kabul edildi. Sefoksitin için ise inhibisyon zon çapı  $\geq 22$  mm ise duyarlı,  $\leq 21$  mm ise dirençli olarak kabul edildi (CLSI; 2009). Kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) ve *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) kullanıldı.



Şekil 2.5. Disk Difüzyon Testi Oksasillin ve Sefoksitine duyarlı *S.aureus*

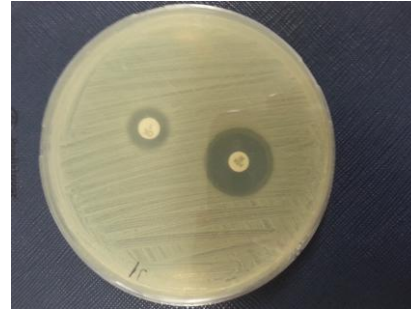


Şekil 2.6. Disk Difüzyon Testi Oksasillin ve Sefoksitine dirençli *S.aureus*



Şekil 2.7.

Şekil 2.7. Disk Difüzyon Testi Sefoksitine dirençli *S.aureus*



Şekil 2.8.

Şekil 2.8. Disk Difüzyon Testi oksasiline dirençli *S.aureus*

## 2.12. PCR (Polymerase chain reaction) Deneyi

### DNA İzolasyonu

Bu amaçla, %5 lik koyun kanlı agarda saf kültür olarak elde edilen *S. aureus* suşları 500 µl distile suda süspanse edilmiş , 11,000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiş , süpernatant atıldıktan sonra üzerine 100 µl erime solüsyonu (20 mM Tris-HCl, 140 mM NaCl, 5 mM EDTA [pH 8,0]) ve 250 g (2,5 Ü) lizostafin ilave edilmiştir. Örnekler 37°C de 4 saat inkübasyona bırakılmış , sonra 200 µl distile su ilave edilmiş ve 95°C de 5 dakika su banyosunda bekletilerek hücreler patlatılmıştır. Üzerine 300 µl fenol: kloroform: izoamil alkol (25: 24: 1) karışımı ilave edilerek 10 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra örnekler 10 dakika buz içerisinde bekletilmiş ve 11,000 rpm ve 4°C de 10 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatant pipet yardımı ile alınarak yeni bir tüpe aktarılmış ve üzerine 500 µl kloroform eklenmiştir. Tüpler tekrar 10 dakika vortekslenmiş , tekrar 10 dakika buz içerisinde bekletilmiş ve 11,000 rpm ve 4°C de 10 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatant pipet yardımı ile alınarak yeni bir tüpe aktarılmış , üzerine 1,000 µl %99'luk etil alkol ve 50 µl sodyum asetat ilave edilmiş ve bir gece -20 °C'de bekletilmiştir. Sonra 11,000 rpm de, 4°C de 5 dakika santrifüjlenmiş, alkol dökülerek üzerine 1,000 µl %70'lik etil alkol ilave edilerek bir kez daha yıkanmıştır. Sonra tekrar 11,000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiş , süpernatant dökülmüş , tüpler kurutulduktan sonra üzerine 100 µl distile su veya TE tampon (10 mM Tris-HCl [pH 8,0], 1 mM EDTA [pH 8,0])



konularak 37°C de 10 dakika inkübe edilmiştir. Böylece DNA izolasyonu tamamlanmıştır(Okamoto ve ark; 1996).

### ***mecA* Geni Tayini**

*mecA* geninin amplifikasyonu amacıyla, *mecA1* ve *mecA2* primerleri kullanılarak, Araj ve ark. ( 1999) tarafından tanımlanan ve Johnsson ve ark. ( 2004) tarafından modifiye edilen PZR yöntemi kullanılmıştır. Bu primerler ile yapılan PCR sonucunda 310 baz çiftlik ürün oluşmaktadır.

Çizelge 2.1. *mecA1* ve *mecA2* primerlerinin baz dizilişleri

| <b>Primer</b>                                  | <b>Amplikon<br/>büyüklüğü (bp)</b> |
|--|------------------------------------|
| <i>mecA1</i> (5 -GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3 ) | 310bp                              |
| <i>mecA2</i> (5 -CCAATCCACATTGTTTCGGTCTAA-3 )  | 310bp                              |

### **Çalışma Prosedürü**

*mecA* geninin amplifikasyonu amacıyla, DNA örneklerinden 30 ng alınarak kalıp DNA olarak PCR karışımına eklenmiştir (Araj ve ark; 1999). PZR karışımını hazırlamak için 10X PCR tamponuna 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 M dNTP, her bir primerden 50 şer pmol, 2 Ü *Taq* DNA polimeraz enzimi ve önceden hesaplanarak belirlenen miktarda distile su, son hacim 50 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. Örnekler termal döngü cihazında ilk denatürasyon için 94°C'de 5 dakika bekletildikten sonra, her bir döngü sırasıyla 94°C de 30 saniye, 55 ° Cde 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye olacak şekilde, 30 döngü çalışılmıştır. Son olarak örnekler 72 ° C'de 10 dakika bekletilerek PCR sonlandırılmıştır (Araj ve ark; 1999).

**PZR protokolu Master mix (MIX) N**

dH<sub>2</sub>O ×N

Tampon 10X (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>×N

dNTP 200 M×N

MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM×N

Primer F (*mecA1*) 50 pmol×N

Primer R (*mecA2*) 50 pmol×N

Taq polimeraz 2 Ü×N

DNA 30 ng ×N

---

TV = 50 µl ×N

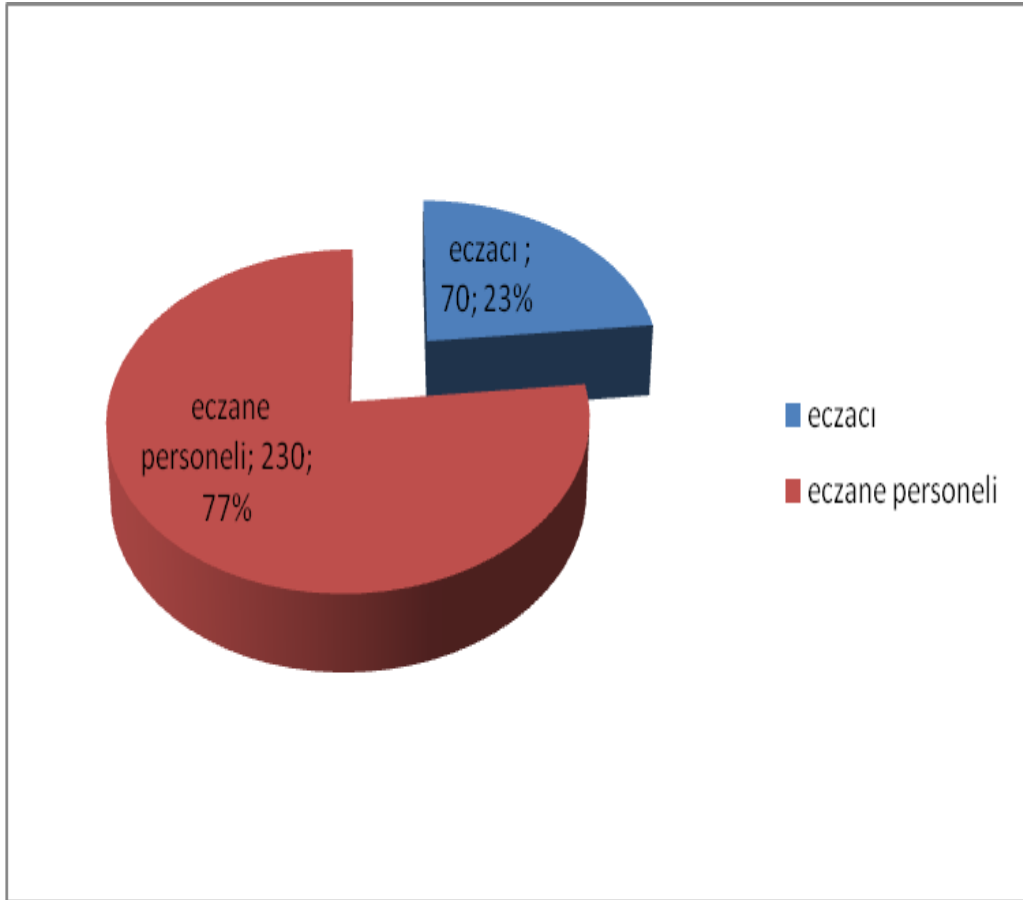
Negatif kontrol olarak MSSA ATCC 95045 , pozitif kontrol olarak MRSA ATCC 43300 suşları kullanılmıştır.

**PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde saptanması**

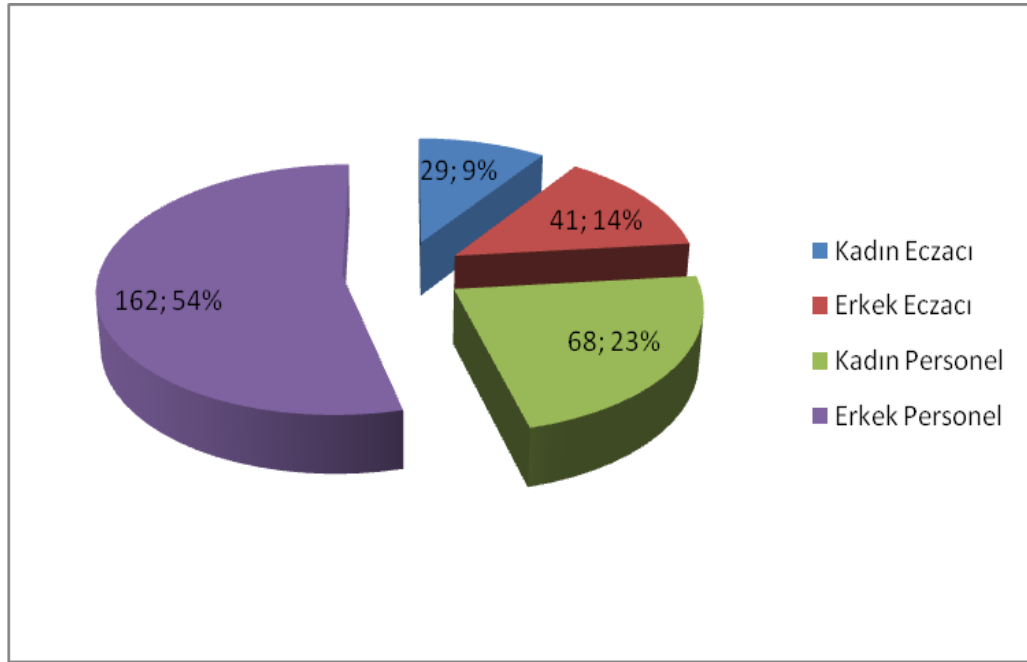
*mecA* ürünün saptanması amacıyla 10 µl PCR ürünü, 2 µl yükleme solüsyonu (6X Orange DNA Loading Dye) ile süspansiyon edilerek, 0,5X TBE tampon ile hazırlanan %2'lik agarozda jel elektroforezi yapılmıştır. Agaroz jelde yürütülen ampikon 0,5g/ml etidyum bromür ile işaretlenmiş ve 60 dakika 80 Volt elektrik akımına tabi tutulduktan sonra, UV transilluminatör ile değerlendirilmiştir (85,86). PCR ürününün büyüklüğü moleküler büyüklük belirteci (Orange Ruler 50 bp DNA Ladder) bantlar ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır.

### 3.BULGULAR

Çalışmamıza 9.6.2014 - 8.9.2014 tarihleri arasında eczacı ve eczane personelinden oluşan 300 gönüllü birey dahil edilmiştir. Gönüllü bireylerin 70'i eczacı, eczacıların 41'i erkek, 29'u kadın; 230 eczane personelinin 162'si erkek, 68'i kadın bireylerden oluşmaktadır. Şekil 3.1' de eczacı ve eczane personelinin dağılımı gösterilmiştir.

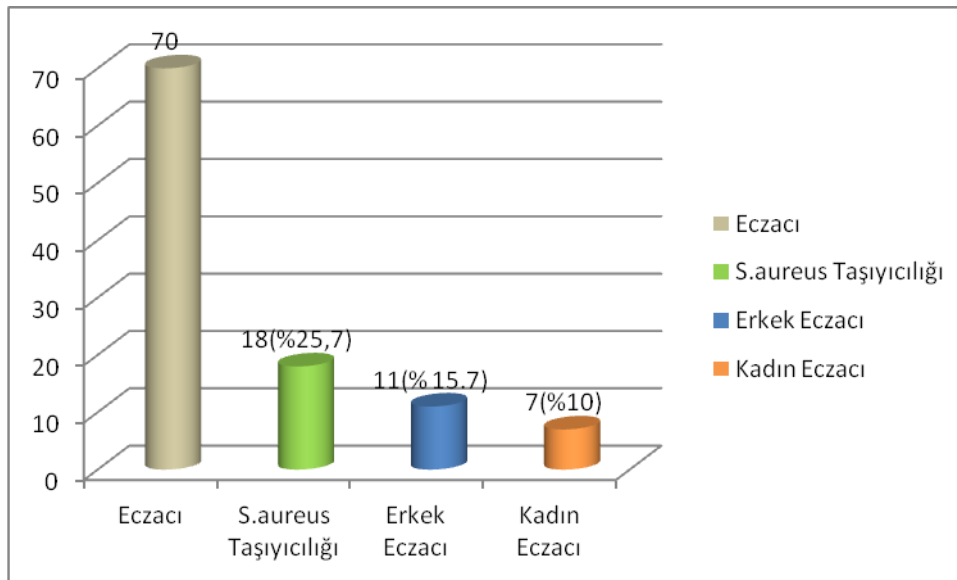


Şekil 3.1. Eczacı ve eczane personelinin dağılımı



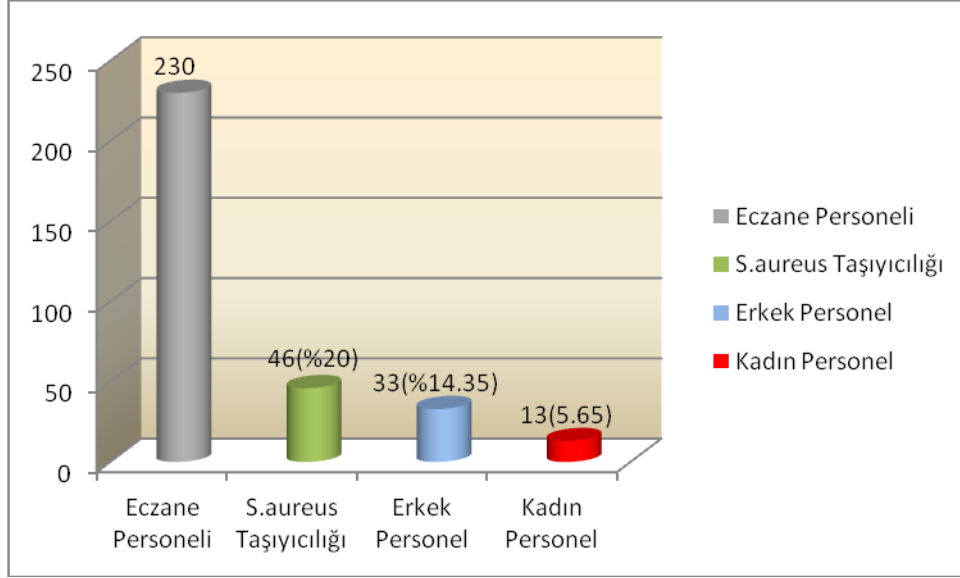
Şekil 3.2. Eczanede çalışan bireylerin cinsiyetlere göre dağılımı

Çalışmamıza katılan erkek eczacılarda *S.aureus* taşıyıcılık oranı daha yüksek bulunmuştur. Eczacılara ait *S.aureus* taşıyıcılık oranları Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

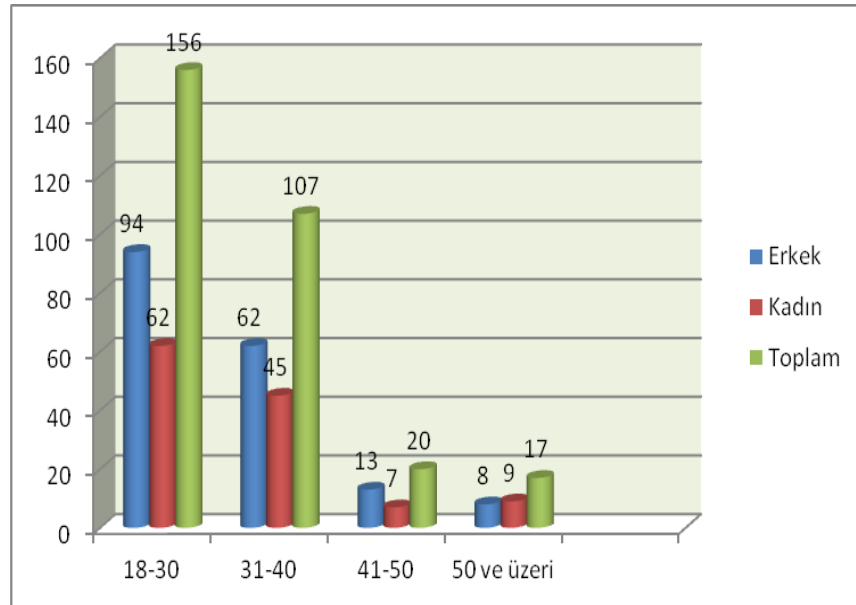


Şekil 3.3. Eczacılarda *S.aureus* taşıyıcılık oranlarının cinsiyete göre dağılımı

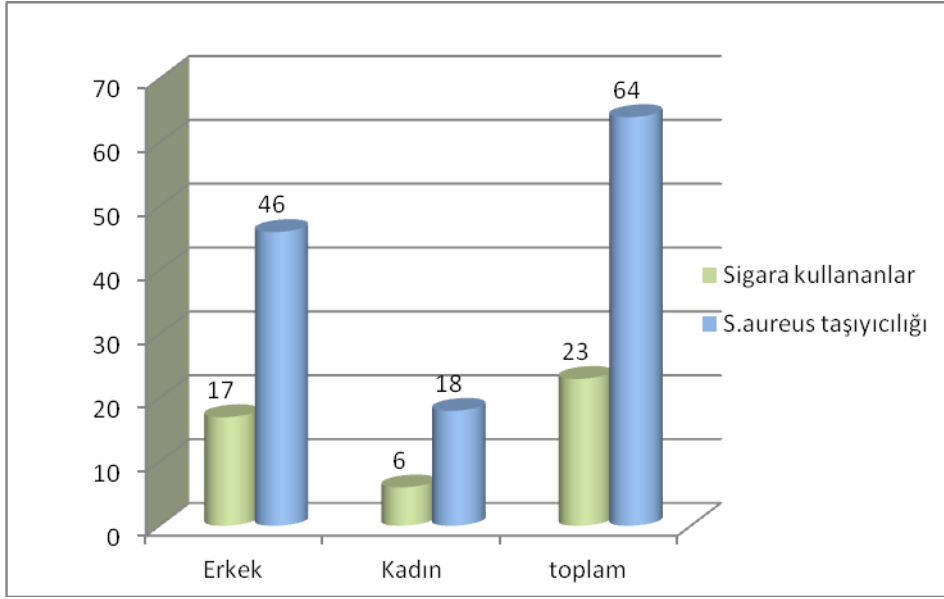
Eczane personelinde, erkeklerde *S.aureus* taşıyıcılık oranı kadınlara oranla yüksek bulunmuştur. Şekil 3.4’de eczane personelinde *S.aureus* taşıyıcılık oranları gösterilmiştir.



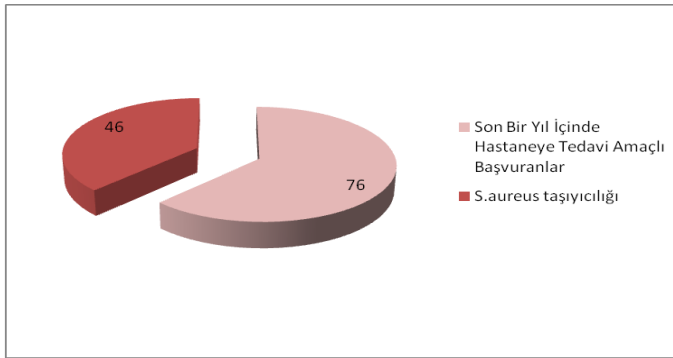
Şekil 3.4. Eczane personelinde *S.aureus* taşıyıcılığının cinsiyetlere göre dağılımı



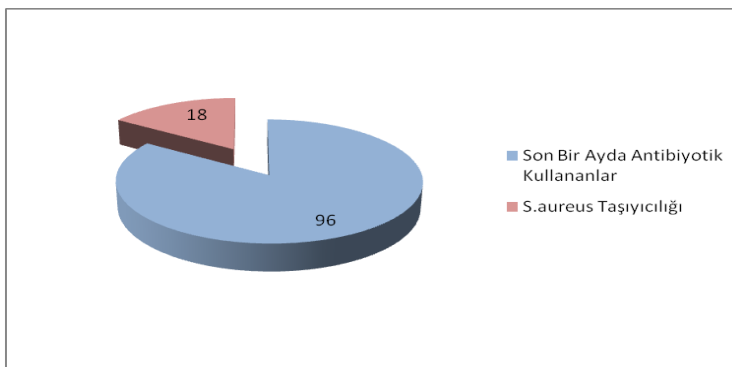
Şekil 3.5. Çalışmadaki yaş dağılımları



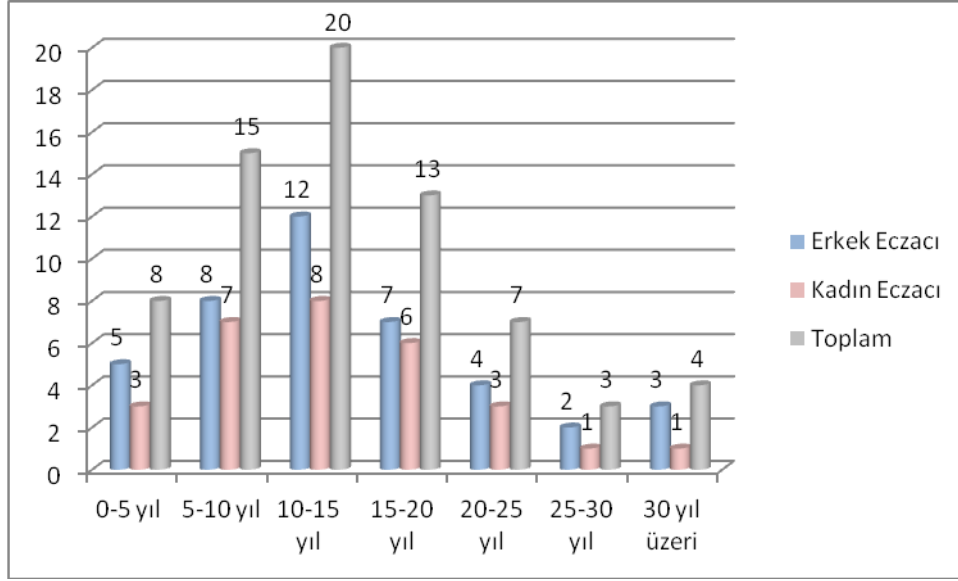
Şekil 3.6. Sigara kullananlarda *S.aureus* taşıyıcılık oranı



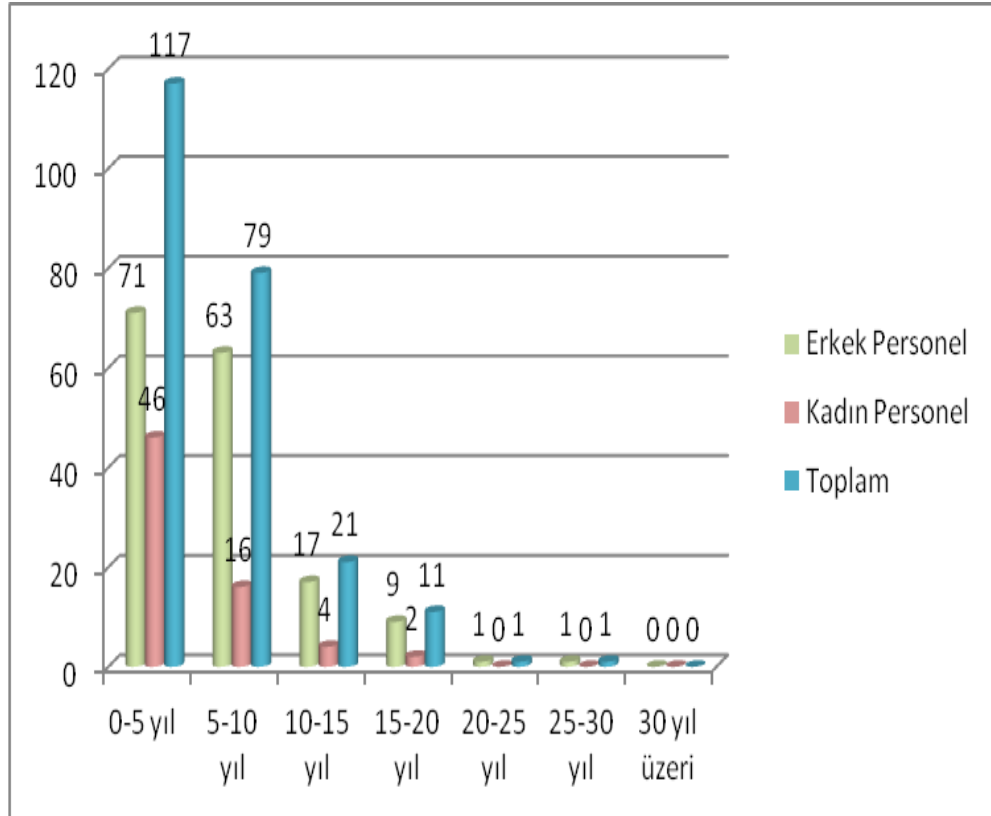
Şekil 3.7. Son bir yıl içinde hastaneye tedavi amaçlı başvuranların *S.aureus* taşıyıcılık oranları



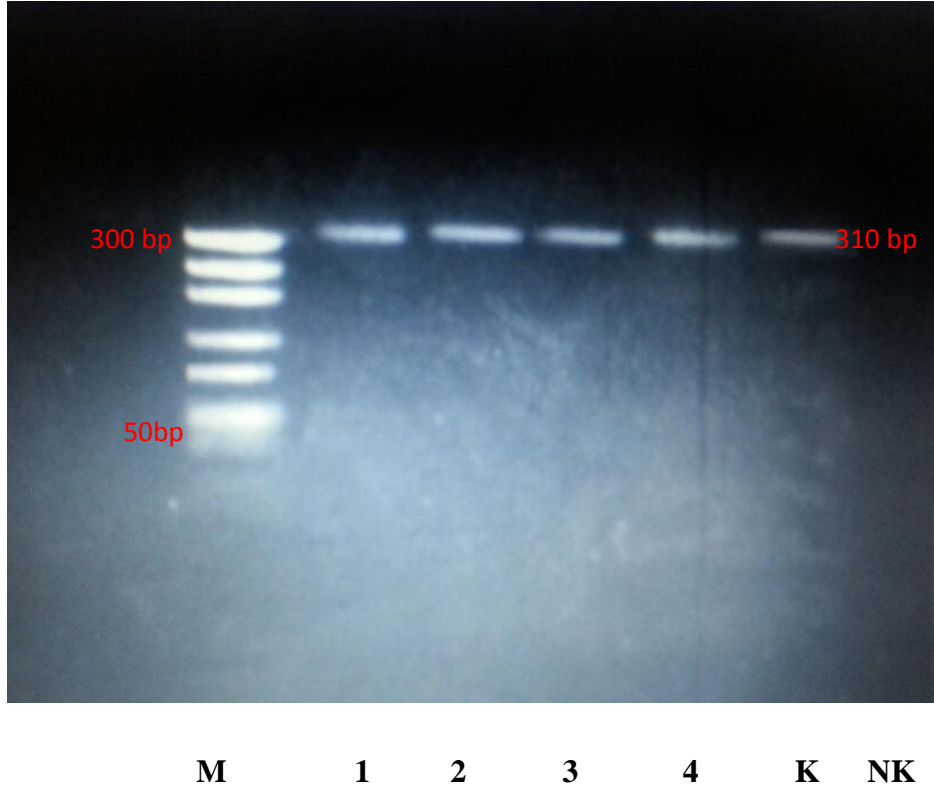
Şekil 3.8. Son bir ayda antibiyotik kullananların *S.aureus* taşıyıcılık oranları



Şekil 3.9. Eczacıların yıllara göre çalışma süreleri



Şekil 3.10. Eczane personelinin yıllara göre çalışma süreleri



Şekil 3.11. *mecA* genlerinin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü

**M:** Moleküler büyüklük belirteci, **1,2,3,4** MRSA suşları, **K:** Kontrol suşu, **NK:** Negatif kontrol) Moleküler büyüklük belirtecinde her bir bant 50 bp'dir. 1,2,3,4 MRSA örnekleri 310 bp olarak doğrulanmıştır.

Yaptığımız çalışmada 70 eczacının 41'i (%58.6) erkek , 29'u (%41.4) kadın, 230 eczane personelinin 162'si (70.4) erkek, 68'i (29.56) kadın bireylerden oluşmaktaydı.

Çalışmamızda 300 kişiden 64 (%21.3) *S.aureus* izole edildi. 64 *S.aureus* izolatının metisilin direnci Disk Difüzyon yöntemiyle oksasilin ve sefoksitin diskleri ile test edildi. Test sonuçlarına göre; sefoksitin DDT'de 3, hem oksasilin hemde sefoksitin DDT'de 1 olmak üzere Bu suşlardan 4 (%1.33)'ü MRSA olarak belirlendi. Böylece test edilen 64 suştan 4 tanesi (%1.33) MRSA olarak belirlendi. Bu 4 suşun 3'ü erkek eczane personelinden, 1'i kadın eczane personelinden izole edilmiştir. Bu 4 suşun MRSA açısından doğrulanması için, PCR yöntemiyle *mecA* geni yönünden araştırılması yapılmış ve hepsinin *mecA* geni yönünden pozitif olduğu bulunmuştur.



Pozitiflerin az sayıda olması ve 64 suşun tamamının PCR yöntemiyle çalışılmaması nedeniyle DDT'leri karşılaştırılmadığı için duyarlılık ve özgüllük yorumlanamamıştır.

Eczacı erkeklerin 11'inde (%15.7), eczacı kadınların 7'sinde (%10) toplamda 18 (%25.7), *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edildi. Erkek ve kadın eczacılar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Eczane personelinin; erkeklerinin 33'ünde (%14.3), kadınların 13'ünde (%5.6 ) *S.aureus* taşıyıcılığı tesbit edilmiştir. Erkek ve kadın eczane personeli arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Eczacılar ve eczane personelindeki *S.aureus* taşıyıcılık oranları sırasıyla %25.7, %20 olarak bulundu. Bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmamıza katılan bireylerin gönüllü bilgilendirme formunda son bir ayda antibiyotik kullanma, son bir yılda tedavi amacıyla hastaneye başvurma, şeker hastası olma, sigara kullanma ve eczanede çalıştığı sürelerle ilgili soruları cevaplamaları istendi.

Yaş aralığı 18-57 olan çalışmamıza göre; 18-30 yaş aralığında 156 kişiden 33(%21)'ü, 41-57 yaş aralığındaki 37 kişiden 5(%13.5)'inde *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edildi. Bu iki grup arasında anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ). 31-40 yaş aralığında 107 kişiden 26 (%24)'sı *S.aureus* taşıyıcısı olarak bulundu. 18-30 ve 31-40 yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). 31-40 ve 41-57 yaş grupları arasında da anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). MRSA olarak tespit edilen suşların ise 31-40 yaş grubunda olduğu görüldü.

*S.aureus* taşıyıcılığı tespit edilen 64 bireyin 23'nün (%35.9), sigara kullandığı tespit edildi. Sigara içenler ile içmeyenler arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

*S.aureus* taşıyıcısı bireylerden 46'sının (%71.8) son bir yıl içinde tedavi için hastaneye başvurduğu öğrenildi. Bu grup ile hastaneye başvurmayanlar arasında ki fark anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

*S.aureus* taşıyıcısı olan bireylerin 18'inin (%28) son bir ay içerisinde antibiyotik kullandığı tespit edildi. Antibiyotik kullanmayanlarla, kullananlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Şeker hastası olan 8 kişiden 4'ünde (%50), şeker hastası olmayan 232 kişinin 60 (%21)'inde *S.aureus* taşıyıcılığı belirlendi. Şeker hastaları ve şeker hastası olmayan grup arasında ki fark anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Bu farkın şeker hastası olan bireylerin sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4. TARTIŞMA

Son yıllarda önemli morbidite ve mortalite nedeni olan MRSA'ların metisilin direncinin etkili bir şekilde tespiti, direnç gelişiminin ve yayılmasının önlenmesinde kritik öneme sahiptir. Metisilin direnci homojen veya heterojen olmak üzere iki farklı şekilde ifade edilmektedir. Homojen dirençte bakteri topluluğundaki tüm hücreler yüksek konsantrasyonlarda metisilin varlığında üreyerek yüksek düzeyde direnç gösterirken, heterojen dirençte tüm hücreler *mecA* geni taşımasına rağmen direnç sadece bir kısmında açığa çıkmaktadır. NaCl veya sukrozlu besiyeri, düşük derecede inkübasyon ile heterojen dirençli suşlar homojen dirençli hale gelebilirler. Heterojen dirençli suşların klinik mikrobiyoloji laboratuvarında doğru şekilde saptanmasında güçlükler yaşanmaktadır. Metisilin direncinin belirlenmesinde *mecA* geninin PCR ile araştırılması son derece önemlidir. Bu yöntemin klinik mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanması pahalıdır, eğitilmiş personel ve özel ekipman gerektirmektedir. Bu yüzden *S.aureus* suşlarında metisilin direncinin belirlenmesinde değişik yöntemler kullanılmaktadır (Gülay ve ark; 2003).

Disk difüzyon testi (DDT) klinik mikrobiyolojide en sık kullanılan yöntemdir. Oksasilin, metisilin direncinin belirlenmesinde diğer penisilinlere göre daha stabil bir molekül olması ve özgüllüğü yüksek sonuç vermesi nedeniyle *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* tarafından uzun yıllar önerilmiştir. Son yıllarda metisilin direncinin tesbitinde sefoksitin disk difüzyon yöntemi de kullanılmaktadır (CLSI; 2009).

Cauwelier ve arkadaşları (2004)'deki çalışmalarında; 155 *S.aureus* izolatında PCR'ı altın standart olarak kabul ederek yaptıkları çalışmalarında oksasilin ve sefoksitin Disk Difüzyon Yöntemi'nin duyarlılık, PPD ve NPD'ini araştırmışlardır. 82'si MSSA, 73'ü MRSA olan izolatları DDT farklı inkübasyon derecelerinde (30 °C ve 35 °C) uygulanmıştır. Oksasilin DDT'inin 30 °C ve 35 °C'lerdeki duyarlılık, PPD ve NPD'i sırasıyla % 91.7, %100 ve %93.9; %83.5, %100 ve %87 olarak rapor edilmiştir. Sefoksitin DDT'inin 30 °C ve 35 °C'lerdeki duyarlılık ve özgüllüğü

sırasıyla %100, %100; %99, %100 olarak rapor edilmiştir. Araştırmacılar Sefoksitin DDT'inin oksasilin DDT'e göre daha uygun olduğunu ve heterojen dirençli MRSA izolatlarının DDT ile sıklıkla yanlış tesbit edildiğini belirtmişlerdir .

2009 yılında yayımlanan bir çalışmada BD Phoenix sistemiyle metisiline dirençli olarak tanımlanan 100 *S.aureus* ve 100 KNS olmak üzere toplam 200 stafilokok izolatu değerlendirilmiştir. PCR ile *mecA* geni araştırılmış; *S.aureus* izolatlarının 98'inde, KNS'ların ise 94'ünde *mecA* geni tesbit edilmiştir. Bu izolatlar oksasilin DDT ve sefoksitin DDT ile değerlendirilmiştir. *S.aureus* izolatları için Oksasilin DDT ve Sefoksitin DDT'inin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %98.9, %100; %100, %100 olarak rapor edilmiştir. KNS'lar için oksasilin DDT ve sefoksitin DDT'inin duyarlılık ve özgüllükleri ise sırasıyla; %100,%50; %100, %100 olarak rapor edilmiştir (Sevgican ve ark; 2009).

Çoban ve arkadaşları 2007 yılında yayımlanan çalışmalarında sefoksitin disk difüzyon yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü araştırmışlar. Altın standart olarak PBP2a varlığını tesbit eden lateks aglütinasyon yöntemini kabul etmişler ve lateks aglütinasyon yöntemiyle pozitif olarak saptanan 64 *S.aureus* suşuna DDT uygulamışlardır. Sefoksitin DDT'nin duyarlılık ve özgüllüğünü % 100 olarak tesbit etmişlerdir .

Atay ve arkadaşları (2004) yılında yayımlanan çalışmalarında *mecA* gen pozitif suşlarda DDT'inin duyarlılığını %100, özgüllüğünü %90 olarak tespit etmişlerdir.

Telli ve arkadaşları Kayseri'de yaptıkları çalışmalarında 300 *S.aureus* suşunun metisilin direncini farklı yöntemlerle tespit etmişlerdir. PCR ile *mecA* gen tespiti altın standart kabul edilerek oksasilin DDT, sefoksitin DDT, lateks aglütinasyon ve oksasilin agar tarama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri araştırılmıştır. Oksasilin ve sefoksitin DDT'inin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla % 98.8, %99.1 ve % 98.3, %99.1 olarak tespit etmişlerdir.

Akçam ve arkadaşları (2009) yılında yayımlanan çalışmalarında toplam 60 MRSA izolatını değerlendirmişler. PCR ile tüm izolatların *mecA* ve *femA* geni pozitif olarak rapor edilmiş ve sefoksitin DDT ile tüm izolatların metisilin direnci doğru bir şekilde tespit edilmiştir.

Sancak ve arkadaşları (2003) yılında yayımlanan çalışmalarında 248 *S.aureus*, 158 KNS olmak üzere toplam 406 suşun metisilin direncini tesbit etmek için DDT'ini PCR yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Oksasilinin *S.aureus* suşları için duyarlılık ve özgülüğü %100, KNS için duyarlılığı %100, özgülüğü ise % 79 olarak tesbit etmişlerdir.

Çalışmamızda 64 *S.aureus* izolatının metisilin direnci DDT yöntemiyle oksasilin ve sefoksitin diskleri ile test edildi. Test sonuçlarına göre; sefoksitin DDT'de 3, hem oksasilin hemde sefoksitin DDT'de 1 olmak üzere Bu suşlardan 4 (%1.33)'ü MRSA olarak belirlendi.Böylece test edilen 64 suştan 4 tanesi (%1.33) MRSA olarak belirlendi. Bu 4 suşun 3'ü erkek eczane personelinden, 1'i kadın eczane personelinden izole edilmiştir. Bu 4 suşun MRSA açısından doğrulanması için, PCR yöntemiyle *mecA* geni yönünden araştırılması yapılmış ve hepsinin *mecA* geni yönünden pozitif olduğu bulunmuştur. Pozitiflerin az sayıda olması ve 64 suşun tamamının PCR yöntemiyle çalışılmaması nedeniyle DDT'leri karşılaştırılmadığı için duyarlılık ve özgülük yorumlanamamıştır.

*S. aureus* taşıyıcılığı ile meslek grupları arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Sağlık kurumlarında çalışanlarda *S. aureus* taşıyıcılığı diğer meslek gruplarında çalışanlara göre daha yüksek oranlarda bildirilmektedir. Bu oranın hastaneyle ilişkili kişiler için %50'nin üzerinde olduğu çalışmalar vardır (Kurutepe ve ark; 2007).

Yapılan başka bir çalışmada toplam 500 sağlık çalışanından alınan burun sürüntülerinin 69 (%13.8)'unda *S.aureus*, bunların 9 (%1.8)'unda da MRSA tespit edilmiştir. Meslek dağılımına göre burunda *S.aureus* taşıyıcılığı en fazla yardımcı sağlık personelinde tespit edilirken, çalıştıkları birimlere göre değerlendirildiğinde en fazla oran ameliyathane çalışanlarında rapor edilmiştir (Naz ve ark; 2006).

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde (1999) yılında Poyraz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada hastane personelinde *S.aureus* taşıyıcılığı % 26.5, kontrol grubunda ise %14 olarak kaydedilmiştir. Yine Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde acil servisinde Yılmaz ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yapılan çalışmada bu oran hastane personelinde % 25, kontrol grubunda %17.5 olarak bildirilmiştir.

Kampf ve ark. (2003) Almanya’da üç hastanede toplam 447 sağlık personelinde nazal *S. aureus* kolonizasyonunu %33.8 (151/447) olarak bildirmiştir.

Öncül ve ark. (2002) İstanbul da 495 sağlık personelinde nazal *S. aureus* kolonizasyon oranlarını doktorlarda %10.6 (15/141), hemşirelerde %16.6 (35/211) ve diğer sağlık personelinde %19.6 (28/143) olmak üzere, toplam %15.8 (78/495) olarak bildirilmiştir.

Oğuzkaya ve ark. (2008) Erciyes’ de 136 sağlık personelinde nazal kolonizasyon oranlarını doktorlarda %11.8 (2/17), hemşirelerde %12.5 (4/32) ve diğer sağlık personelinde %14.8 (12/81) olmak üzere, toplam %13.2 (18/136) bildirmektedir.

Demirdal ve ark. (2006) Afyon’da 189 sağlık personelinde nazal kolonizasyon oranlarını doktorlarda %30 (33/110), hemşirelerde %33.9 (20/59) ve diğer sağlık personelinde %30 (6/20) olmak üzere, toplam %31.2 (59/189) olarak bildirmişlerdir.

Erdenizmenli ve ark. (2004) ise, hastanelerde çalışan 102 sağlıklı bireyde *S. aureus* taşıyıcılığını %8.8 (9/102) olarak bildirmiştir.

Çalışmamızda eczacılar ve eczane personelindeki *S.aureus* taşıyıcılık oranları sırasıyla %25.7, %20 olarak bulunmuştur. Bu iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sağlık çalışanı olan eczacılarda ve eczane personelinde saptanan taşıyıcılık oranları diğer araştırmacıların sağlık personeli ile yaptığı çalışmalarla uyumludur.

Sağlık çalışanlarında ve toplum kaynaklı taşıyıcılıkta bazı risk faktörlerinin taşıyıcılık oranını artırdığı bilinmektedir.

Erdoğan ve arkadaşlarının. (2011) 715 kişiyle yaptığı çalışmada; 73 (%10.2) *S.aureus* kolonizasyonu ve 3 (%0.2) metisilin direnci saptamıştır. Araştırılan risk faktörleri arasında sadece sigara içiciliği veya sigara içilen ortamda bulunma ile *S.aureus* kolonizasyonu arasında negatif bir ilişki saptamıştır.

*S. aureus* taşıyıcılığının hemodiyaliz uygulanan hastalarda %30.1-84.4, insüline bağımlı diyabeti bulunan hastalarda %24.1-76.4, insüline bağımlı olmayan diyabeti bulunan hastalarda %11,1-35,0, HIV enfeksiyonu bulunan hastalarda %26.9-54.7, kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda %14.3-33.3, cilt enfeksiyonu bulunan hastalarda % 42.-100, intravenöz uyuşturucu bağımlılarında %33.8-61.4 ve sağlık kurumlarında çalışanlarda %16.8-56,1 arasında değiştiğini bildirmiştir (Kluytmans ve ark; 2005).

Çalışmamızda; şeker hastası olan 8 kişiden 4'ünde (%50), şeker hastası olmayan 232 kişinin 60'ında (%21) *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edildi. İki grup arasındaki fark anlamlı bulundu.

Leman ve ark. (2004) son bir yıl içinde antibiyotik kullanımı ile MRSA taşıyıcılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bildirirken, Kenner ve ark. (2003) TK MRSA izole edilen kişilerde, anlamlı bir risk faktörü tespit edememişlerdir.

Karapsias ve arkadaşları (2008) yılında 959 kişi üzerinde yaptıkları araştırmada, son iki ay içinde antibiyotik kullanan 57 kişiden 1 (%1,7)'inde, kortikosteroid kullanan 10 kişiden birinde (%10,0), son bir yıl içerisinde hastanede yatış öyküsü bulunan 115 kişiden üçünde (%2,6) ve sigara kullanan 458 kişiden ikisinde (%0,4) MRSA tespit etmişler; kortikosteroid kullanımı ve son bir yıl içinde hastanede yatış öyküsü ile MRSA taşıyıcılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edilen 64 bireyin 23'nün (%35.9), sigara kullandığı tespit edildi. Sigara içenler ile içmeyenler arasındaki fark anlamlı bulundu. *S.aureus* taşıyıcısı bireylerden 46'sının (%71.8) son bir yıl içinde tedavi için hastaneye başvurduğu öğrenildi. Bu grup ile hastaneye başvurmamayanlar arasındaki fark anlamlı bulundu. *S.aureus* taşıyıcısı olan bireylerin 18'inin (%28) son bir ay içerisinde antibiyotik kullandığı tespit edildi. Bu durum antibiyotik kullanmayanlarla anlamlı bir fark oluşturmamıştır.

Kuehnert ve ark. (2006) ABD'nde TK-MRSA taşıyıcılık oranlarını 1-19 yaş grubunda %0.6 (28/4772), 20-59 yaş grubunda %0.6 (19/3290), ve 60 yaş üstü grubunda %2.2 (34/1560); Fluegge ve ark. (2006) Almanya da 5-7 yaş grubunda %0,05 (1/1895); Oğuzkaya ve ark. (2008) 5-7 yaş grubunda %5.6 (2/36), Soysal ve ark. (2006) 0-16 yaş grubunda %0.1 (1/1000) olarak bildirmişlerdir.

Yaş aralığı 18-57 olan çalışmamıza göre; 18-30 yaş aralığında 156 kişiden 33(%21)'ü, 41-57 yaş aralığındaki 37 kişiden 5 (%13.5)'inde *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edildi. Bu iki grup arasında anlamlı fark görülmedi. 31-40 yaş aralığında 107 kişiden 26 (%24)'sı *S.aureus* taşıyıcısı olarak bulundu. 18-30 ve 31-40 yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. 31-40 ve 41-57 yaş grupları arasında da anlamlı fark bulunmamıştır. MRSA olarak tespit edilen suşların ise 31-40 yaş grubunda olduğu görüldü.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nazal stafilokoklar taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar. Gıda işletmelerinde, hastane ortamlarında , huzur evlerinde ve çalışanlarında sıklıkla *S. aureus* taşıyıcılığı görülmektedir.

Çalışmamızda eczacı ve eczane personeli *S. aureus* burun taşıyıcılığı yönünden araştırılmıştır. Eczacılarda *S. aureus* taşıyıcılık oranları eczane personeline göre daha yüksek bulunmuştur. MRSA taşıyıcılığı ise eczane personeline tespit edilmiştir. *S.aureus* taşıyıcılığının ortaya çıkması halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır.

Çalışmamızda risk faktörlerine bakıldığında; sigara kullananların, son bir yıl içerisinde tedavi amaçlı hastaneye başvurularının, son bir ayda antibiyotik kullananların, uzun yıllar eczanede çalışanların, taşıyıcılık oranları yüksek bulunmuştur. *S.aureus* taşıyıcılığının azaltılmasında; bilinçli antibiyotik kullanımı, el yıkama alışkanlığının kazandırılması, uygun antiseptik ve dezenfektanların kullanılması, büyük önem taşımaktadır.

Sonuçlarımıza bakıldığında *S.aureus* taşıyıcılığı, daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur. Sonuçlarımızın hastane kökenli *S.aureus* taşıyıcılık oranlarına yakın olmasının, eczacı ve eczane personelinin hastane ve eczane ortamında hastayla irtibat halinde olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sağlık Bakanlığı İşçi Sağlığı Birimi uygulamalarında; Sıhhi müesselerde çalışanların bulaşıcı hastalık taşıyıcılığı yönünden her üç ayda bir muayene olma ve sıhhi rapor alma mecburiyeti vardır.

*S.aureus* taşıyıcılığı bakımından ise yılda bir kez çalışanlardan boğaz ve burun kültürü alınması gerekmektedir. Eczacı ve eczane personeli de sağlık çalışanları kapsamında olduğundan, çalışanların yılda bir kez portör muayenesine girmesi ve *S.aureus* taşıyıcılığı tespit edilen bireylerin tedavi olması gerektiğini düşünmekteyiz.

## ÖZET

### **Eczanelerde Çalışan Eczacı ve Eczane Personelinde *Staphylococcus aureus* Burun Taşıyıcılığının Saptanması, Suşların Metisilin Direnci ve mecA Geni Yönünden Araştırılması**

Bu çalışmanın amacı eczanede çalışan eczacı ve eczane personelinde *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığının saptanması, suşların metisilin direnci ve mecA geni yönünden araştırılmasıdır. İzolatların metisilin direncinin belirlenmesinde PCR ile mecA geninin belirlenmesi altın standart kabul edilmiştir.

Çalışmaya Ankara'daki eczanelerde çalışan 300 eczacı ve eczane personeli dahil edildi. Çalışmamıza alınan kişilere gönüllü bilgilendirme formu verilerek yaş, cinsiyet, son bir yılda hastaneye tedavi amaçlı başvurma, son bir ay içerisinde antibiyotik kullanma, kaç yıldır eczane personeli olarak çalıştıkları şeklinde sorular sorularak bilgiler alındı.

Eczacı ve eczane personelinin her iki burun deliğinden steril eküvyon ile iki örnek alındı. Örneklerin birisi kültür, diğeri PCR deneyinde kullanıldı. Çalışma sonucunda 300 kişiden 64'ünde (%21,3) *S.aureus* tespit edildi. Bu izolatların 4'ü (%1,33) MRSA olarak bulundu. Metisilin direncinin belirlenmesinde PCR ile mecA geni altın standart olarak kabul edildi.

Çalışmamızda oksasilin DDT ve sefoksitin DDT'nin PCR ile yapılan çalışma ile paralel sonuç göstermiştir. MRSA izolatlarının hızlı ve güvenilir bir şekilde elde edilmesi için; MRSA tespitinde altın standart olarak PCR ile mecA geni aranmasını ve rutin laboratuvar uygulamalarında kullanılmasını düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Disk Difüzyon Testi, MRSA, PCR, *S.aureus*

## SUMMARY

### **Detection of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Among Pharmacists and Pharmacy Staff Working in Privately Owned Pharmacies, Methicillin Resistance and *mecA* Gene Presence of the Isolated Strains.**

The aim of this study pharmacists employed in pharmacies and pharmacy staff to determine the nasal carriage of *Staphylococcus aureus*, is investigated for the *mecA* gene of methicillin resistance and strains. The determination of methicillin resistance of the isolates to determine the *mecA* gene by PCR as the gold standard. The study pharmacists and pharmacy staff in the pharmacy, including 300 who work in Ankara.

In our study, those who received the volunteer disclosure form given to age, gender, preferences, in the last year to apply for hospital antibiotic use within one month of the last treatment purposes, how many years working as pharmacy staff by asking questions in the form of received information.

Two specimens for culture and PCR experiment were collected from the each nostril of pharmacists and pharmacy staff with sterile cotton swabs. As a result of the study of 300 people in 64% (%21.3) *S. aureus* was detected. This isolates 4 (%1.33) were MRSA. The determination of methicillin resistance of the isolates to determine the *mecA* gene by PCR as the gold standard.

In our study, oxacillin and cefoxitin disk diffusion disk test and show the result in parallel with the study. MRSA isolates by PCR and rapid to be achieved in a reliable manner; the *MecA* gene as the gold standard for the detection of MRSA by PCR to search for and we conclude that routine laboratory applications.

**Keywords:** Disk Diffusion Test, MRSA, PCR, *S.aureus*

## KAYNAKLAR

- AKAN, E. (1993). *Staphylococcus*. Tıbbi Mikrobiyoloji. 2.Baskı, Saray Yayınları İzmir. p.: 1-18.
- AKCAM F.Z, BOSGELMEZ-TONAZ G, KAYA O, TİĞLİ A, TURE E, HOSOĞLU (2009) S.Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*, and comparison of *mecA* with *femA*, *femB*, *femX* positivities. *Microbiological research*, **164**:400-403,.
- ARAJ, G.F., TALHOUK, R.S., SIMAAN, C.J., MAASAD, M.J. (1999). Discrepancies Between *mecA* PCR and Conventional Tests Used for Detection of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **11**: 47-52.
- ATAY T, GÜLAY Z. (2004) Comparison of Latex Agglutination Test With Disk Diffusion, *mecA* PCR and VITEK For The Detection of Methicillin Resistant *S.aureus* Isolates. *ANKEM Dergisi*, **18**(4): 205-208.
- AYDIN, N., GÜLTEKİN, B., EYİĞÖR, M., GÜREL, M., (2001) *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* **2**(3) : 21 – 26;
- AYDIN, K. (2004) Koagülaz Negatif Stafilokokların neden olduğu infeksiyonlar ve tedavi seçenekleri USLUER, G., ULUSOY, S., ÜNAL, S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara s.: 105-119.
- BANNERMAN, T.L. (2003). *Staphylococcus*, *Micrococcus* and Other Catalase Positive Cocci that Grow Aerobically. In: Manual of Clinical Microbiology. 8th Ed. murray, P.R., Baron, E.J., PFALLER, M.A., JORGENSEN, J.H., YOLKEN, R.H., Washington, DC: ASM Press, p.: 384-404.
- BAŞUSTAOĞLU, A. (2009) Manual of Clinical Microbiology: Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık, Ankara, s.: 390-404
- BİLGEHAN, H. (2000) Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, s.: 237-271
- BİLGEHAN, H. (2004) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, s.: 495-506
- BOKAREWA, M.I., JIN, T., TARKOWSKI, A. (2006). *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **38**: 504-509.
- BRANGER, C., GOULLET, P., BOUTONNIER, A., FOURNIER, J.M. (1990). Correlation between Esterase Electrophoretic Types and Capsular Polysaccharide Types 5 and 8 among Methicillin- Susceptible and Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, **28**: 150-151.
- BROWN, D.F.J., EDWARDS, D.I., MORISON, D., RIDGWAY, G.L., TAWNER, K.J., WREN, M.W.D. (2005) Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Antimicrob Chemother.*, **56**: 1000-1018 ,
- CAUWELIER, B., GORDTS, B., DESCHEEMAECKER, P., VAN LANDUYT, H. (2004) Evaluation of a Disk Difüsiyon Method Cefoxitin (30µg) for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **23**:389-392
- CENGİZ, AT. (1999) . *Staphylococcus*. içinde USTAÇELEBİ, Ş., MUTLU, G., DEMİR, T., CENGİZ, T., TÜMBAY, E., METE, Ö, editörler Temel ve Klinik Mikrobiyoloji . Ankara: Güneş Kitabevi;. s.:339-346.

- CHANG, S., SIEVERT, D.M., HAGEMAN, J.C., BOULTON, M.L., TENOVER, F.C., DOWNES, F.P., SHAH, S., RUDRIK, J.T., PUPP, G.R., BROWN, W.J., CARDO, D., FRIDKIN, S.K. (2003). Infection with Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Containing the vanA Resistance Gene. *The New England Journal of Medicine*, **348**: 1342-1347.
- CHONGTRAKOOL, P., ITO, T., MA, X.X., KONDO, Y., TRAKULSOMBOON, S., TIENSASITORN, C., JAMKLANG, M., CHAVALIT, T., SONG, J.H., HIRAMATSU, K. (2006). Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in 11 Asian Countries: a Proposal for a New Nomenclature for SCCmec Elements. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**: 1001- 1012.
- CLSI, Pennsylvania, PA January (2013 / M100-S23), Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 23th Informational Supplement
- CLSI/NCCLS Document M100-S19 (2009) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing-Nineteenth Informational Supplement.. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.
- COHEN, ML. (1986) *Staphylococcus aureus*: Biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *J Pediatr* **108**: 796-799.
- ÇELİK, İ., CİHANGİROĞLU, M., SEVİM, E., ÇABALAK, M., AKBULUT, A., (2005) Sağlık Çalışanlarının Burunlarından İzole Edilen Koagülaz Pozitif ve Negatif Stafilokoklarda Metisilin Direnci ve Slime Pozitifliği. *Fırat Tıp Dergisi*, **10**(3):123-126,.
- ÇİFTÇİ, İ.H., ALTINDİŞ, M., ÇETİNKAYA, Z., AŞIK, G., AKTEPE, O. C.(2009): *Kocatepe Tıp Dergisi The Medical Journal of Kocatepe* **10** : 17-20
- ÇOBAN, A.Y., DARKA, Ö., TAŞDELEN FİŞKİN , N., AKSAKAL- TANYEL, E. ,ÇETİNKAYA-ŞENSOY, E., HEPSEY, S.A. (2007) *S.aureus* izolatlarında Metisilin Direncinin Tesbiti İçin Sefoksitin Disk Difüzyon Yönteminin Kullanımı. *Mikrobiyoloji Bülteni*, **41**: 109-113,.
- ÇOKÇA, F., ARMAN, D., ALTAY, G. (1998). Vankomisin ile Rifampisin, Amikasin, Siprofloksasin ve mipenem Kombinasyonlarının *Staphylococcus aureus* Suşlarına in Vitro Sinerjik Etkisi. *Klinik Dergisi*, **11**: 109-111.
- DAUGHERTY, S., LOW, M.G. (1993). Cloning, Expression, and Mutagenesis of Phosphatidylinositol-Specific Phospholipase C from *Staphylococcus aureus*: a Potential Staphylococcal Virulence Factor. *Infection and Immunity*, **61**: 5078-5089.
- DELİALİOĞLU, N., ASLAN, G., ÖZTÜRK, C., BAK , V., SEN, S., EMEKDAŞ, G. (2005). Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococci* Isolated from Clinical Samples. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **58**: 104-106.
- DEMİRDAL, T., DEMİRTÜRK, N., ALTINDİŞ, M. (2006). Hastane Personelinde Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı . *Klinik Dergisi*, **19**: 25-27.
- DOKUZOĞUZ, B. (2004) Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a Bağlı Hastane İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi ve Kontrolü. USLUER, G., ULUSOY, S., ÜNAL, S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara
- DÜNDAR, V., ÖZTÜRK, DÜNDAR D.(2002) Stafilokok İnfeksiyonları. In TOPÇU, AW., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. p.:1507-1516.
- ERDENİZMENLİ, M., YAPAR, N., SENER, S.S., ÖZDEMİR, S., YÜCE, A. (2004). Investigation of Colonization with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **57**: 172-175.

- ERDOĞAN, H., ARSLAN, H. (2011) Otel personelinin Burun ve Boğaz Kültüründe *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının Araştırılması *Klimik Dergisi*, **24**(2): 90-3
- FİDAN, I., YÜKSEL, S., GÜREL K, F.Ç. (2005). Koagülaz Negatif Stafilokok Suşlarında Biyofilm Oluşumu ve Siprofloksasinin Biyofilm Üzerine Etkisi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **35**: 149-152.
- FORBES, B.A., SAHM, D.F., WEISSFELD. A.S. (2007). Laboratory Methods and Strategies For Antimicrobial Susceptibility Testing: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed. USA: Mosby, p.: 187-214.
- FLUEGGE, K., ADAMS, B., VOLKSBECK, U.L., SERR, A., HENNEKE, P., BERNER, R. (2006). Low Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a Southwestern Region of Germany. *European Journal of Pediatrics*, **165**: 688-690.
- FRANKLIN, D.L. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine*, **339**: 520-532.
- GARRITY, G., HOLT, JG. (2000) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology:an overview of the road map to the manual. New York: Bergey's Manual Trust,.
- GÜLAY, Z.(2009) Çoklu Dirençli Hastane İnfeksiyonu Etkenlerinin Kontrolünde Hızlı Tanı Testleri. *ANKEM Dergisi*, **23**(Ek 2): s.: 193-200
- GÜLAY, Z. LEBLEBİCİOĞLU, H., USLUER, G., ULUSOY, S., (eds.) (2003). Koagülaz-negatif Stafilokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi p.: 73-102.
- IWATSUKI, K., YAMASAKI, O., MORIZANE, S., OONO, T. (2006). Staphylococcal Cutaneous Infections: Invasion, Evasion and Aggression. *Journal of Dermatological Science*, **42**: 203- 214.
- JANAPATL, R.P., YAN, J.J., HUANG, A.H., CHEN, H.M., WU, H.M., WU, J.J. (2007). Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolates Causing Bacteremia at a University Hospital in Southern Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **58**: 203-209.
- JOHANSSON, D., MOLLING, P., STRALIN, K., SODERQUIST, B. (2004). Detection of Pantone- Valentine leukocidin Gene in *Staphylococcus aureus* by LightCycler PCR: Clinical and Epidemiological Aspects. *Clinical Microbiology and Infection*, **10**: 884-889.
- KAMPF, G., ADENA, S., RUDEN, H., WEIST, K. (2003). Inducibility and Potential Role of mecA- Gene-Positive Oxacillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* from Colonized Healthcare Workers as a Source for Nosocomial Infections. *Journal of Hospital Infection*, **54**: 124-129.
- KARAPSIAS, S., PIPERAKI, E.T., SPILIOPOULOU, I., KATSANIS, G., TSELENI-KOTSOVILI, A. (2008). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Among Healthy Employees of the Hellenic Air Force. *Euro Surveillance*, **13**: 18999. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18999>.
- KENNER, J., O CONNOR, T., PANTANIDA, N., FISHBAIN, J., EBERLY, B., VISCONTI, H., UYEHARA, C., HOSPENTHAL, D. (2003). Rates of Carriage of Methicillin-Resistant and Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, **24**: 439-444.
- KILIÇ, A. (2008). Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*'un Moleküler Epidemiyolojisi. 5. Ulusal Moleküler ve Tan sal Mikrobiyoloji Kongresi. 24-28 Haziran 2008, Ankara. Kongre Kitabı , PNL6, 85-90.
- KLOOS, W.E.(1990) *Systematic and The Natural History of Staphylococci. J Applied Bacteriol* ; **69**: 25-37.

- KLUYTMANS, J.A., WERTHEIM, H.F. (2005). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Prevention of Nosocomial Infections. *Infection*, **33**: 3-8.
- KONEMAN, E. ALEN, S. JANDA, W. SCHRECKENBERGER, P. WINN,W. (1997) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Ed. Chapter: The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism, Lippincott Williams &Wilkins; Philadelphia,p.: 539-576
- KONEMAN, E.W., WINN, W.C., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., PROCOP, G.W., SCHRECKENBERGER, P.C., WOODS, G.L. (2006). Staphylococci and Related Gram- Positive Cocci. In: Koneman' s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins.p.: 624-662
- KOŞUM, S. (2012) Uzmanlık Tezi Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Sağlık Çalışanlarında *S.aureus* ve MRSA Taşıyıcılığının Saptanması ve MRSA tanı Yöntemlerinin Karşılaştırılması
- KUEHNERT, M.J., KRUSZON-MORAN, D., HILL, H.A., MCQUILLAN, G., MCALLISTER, S.K., FOSHEIM, G., MCDUGAL, L.K., CHAITRAM, J., JENSEN, B., FRIDKIN, S.K., KILLGORE, G., TENOVER, F.C. (2006). Prevalance of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in the United States, 2001-2002. *Journal of Infectious Diseases*, **193**: 169-171.
- KURUTEPE S., SÜRÜCÜOĞLU S., GAZİ H., TEKER A., ÖZBAKKALOĞLU B.(2007) Metisiline Dirençli ve Duyarlı *Staphylococcus aureus* Suslarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *İnfeksiyon Dergisi(Turkish Journal of Infection)* **21**(4):187-191.
- LEMAN, R., ALVARADO-RAMY, F., POCOCK, S., BARG, N., KELLUM, M., MCALLISTER, S., CHEEK, J., KUEHNERT, M. (2004). Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an American Indian Population. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, **25**: 121-125.
- LOWY, F.D. (2003). Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation*, **111**: 1265-1273.
- MAHON, C R. (2007) Textbook of Diagnostic Microbiology, 3 th ed. Chapter 13:Antimicrobial Susceptibility Testing, p.: 319-381
- MULVEY, M.R., CHUI, L., ISMAIL, J., LOUIE, L., MURPHY, C., CHANG, N., ALFA, M. (2001). Development of a Canadian Standardized Protocol for Subtyping Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**: 3481-3485.
- MURRAY, P.R., ROSENTHAL, K.S., KOBAYASHI, G.S., PFALLER, M.A. (2005). *Staphylococcus* and Related Organisms. In: Medical Microbiology. 5th Ed. USA: Mosby, p.: 175-189.& p.: 221-236
- NAZ, H., ÇEVİK, F.Ç., AYKIN, N., (2006) Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi Personelinde Burunda *S.aureus* Taşıyıcılığı. *ANKEM Derg.*,**20**(3):141-144,
- NEDİM, S. (2010) Stafilokoklar ve benzer Gram-pozitif koklar. İçinde Başustaoğlu AC, editör. Tıbbi Mikrobiyoloji Ankara: Atlas Kitapçılık 6. Baskı,;
- OĞUZKAYA-ARTAN, M., GÜLGÜN, M., BAYKAN, Z., TOK, D. (2008) Hastane Çalışanlarında *Staphylococcus aureus* Burun Taşıyıcılığı ve Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması . *İnfeksiyon Dergisi*, **22**: 87-90.
- OKAMOTO, R., OKUBO, T., INOUE, M. (1996). Detection of Genes Regulating Lactamase Production in *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **40**: 2550-2554.
- ÖNCÜL, O., ERDEMOĞLU, A., ÖZSOY, M.F., ALTUNAY, H., ERTEM, Z., ÇAVUŞLU, F. (2002). Hastane Personelinde Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı . *Klinik Dergisi*, **15**: 74-77.

- ÖZTÜRK R. (2003) Penisilinler. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. LEBLEBİCİOĞLU, H., USLUER, G., ULUSOY, S. (eds.), Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. s.: 223-237.
- POYRAZ, Ö., ÖZTOP, Y., TEKAİT, H. (1999) Hastane personeli ve genel toplumda *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığı oranı ve çeşitli antibakteriyellere direnç. *C.Ü.Tıp Fakültesi Derg.*, **21**,253-260,.
- SANCAK, B. (2007) *Staphylococcus aureus* 'ta Metisilin ve Vankomisin Direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **38**:127-134,
- SANCAK, B., ERCİS, S., HASÇELİK, G. (2003) Stafilokoklarda Metisilin Direncinin Saptanmasında Disk Difüzyon Yönteminin Değeri ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, **37**; 109-115,
- SCHMITZ, FJ., JONES, ME. (1997) Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? *Int J Antimicrob Agents.*; **9**: 1-19.
- SEVGİCAN, E., SINIRTAŞ, M., ÖZAKIN, C.,GEDİKOĞLU, S.(2009). *Staphylococcus* türlerinde metisilin direncinin farklı yöntemlerle saptanması *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*; **23** (2): 63-68
- SOYSAL, A., SAHİN, H., YAGCI, A., BARLAN, I., BAK R, M. (2006). The Low Rate of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Turkish Children. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **59**: 195-196.
- SHUKLA, S.K. (2005). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and its Emerging Virulence. *Clinical Medicine and Research*, **3**: 57-60.
- SÜRÜCÜOĞLU, S., SAKARYA, M., GAZİ, H., ECEMİŞ, T., KURUTEPE, S.,(2011) Riskli hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinde hızlı tanı testlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen Den Biyol Derg.*, **68** (3): 115-21.
- TEKİN, A. (2010). Trakya Üniversitesi Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi Sağlık Çalışanlarında Metisiline Dirençli *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Taşıyıcılık Oranlarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi)
- TELLİ M, SÜMERKAN B, ESEL D. *Staphylococcus aureus* ' ta Metisilin Direncinin Belirlenmesinde Sefoksitin Disk, Oksasilin Disk, Oksasilin Agar Tarama ve PBP2a Lateks Testlerinin Karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection )*, **20**(2); 93-96, 2006.
- TÜNGER A., ULUSOY, S., USLUER, G., ÜNAL, S. (2004). *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. p.: 9-38.
- TÜNGER, A., ÇAVUŞOĞLU, C., KORKMAZ, M. (2005) Stafilokoklar ve Benzer Bakteriler. *Asya Mikrobiyoloji.*; s.:72-81.
- USLUER, G. (2004) *Staphylococcus aureus*'un Neden Olduğu İnfeksiyonlar. İçinde : USLUER G, ULUSOY S, ÜNAL S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara: s.: 39-52
- USTAÇELEBİ, Ş. (1999) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara, s.:339-346
- ÜNAL, S. (1996). Stafilokoklarda Metisilin Direnç Mekanizmaları ve Metisilin Direnç Tespit Yöntemleri. *Flora Dergisi*, **1**: 14-17.
- ÜNAL, S. (2004) *Staphylococcus aureus* : Direnç mekanizmaları. İçinde. ULUSOY S, USLUER G, ÜNAL S, editörler. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları . Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; s.: 23-38
- ÜNAL, S.(2008) Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s.:3- 36.



- ÜNAL, S. (2007). Stafilokoklarda Metisilin ve Enterokoklarda Vankomisin Direncinin Belirlenmesi. *ANKEM Dergisi*, **21(Ek 2)**: 166-170,
- 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 p.: 2069- 2092.
- WASHINGTON, CW., ALLEN, SD., JANDA, WM., KONEMAN, EW., PROCOP, GV., SCHRECKENBERGER,PC., WOODS, GL. (2006) Gram-positive cocci. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology , 6th ed, Chapter 12. USA: Lippincott Williams and Wilkins; p.: 623-671.
- WIKLER, M.A., COCKERILL, F.R., CRAIG, W.A., DUDLEY, M.N. (2007). Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility. Clinical and Laboratory Standarts Institute. 17th Ed. Informational Supplement, **27**: 44-51.
- YILMAZ, K., ALAGÖZLÜ, H., ELALDI, N., KULAK, B. (2001) Acil Servis Personeline *S.aureus* Nazal Taşıyıcılık Oranı. *C.Ü.Tıp Fakültesi Derg.*, **23(4)**: 175-178,

## EKLER

### Ek1

|                             |  |              |
|-----------------------------|--|--------------|
| <i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>  |  | <i>Tarih</i> |
| <i>Adres :</i>              |  |              |
| <i>Alınan Numune Örneği</i> | <i>Burun sürüntüsü</i>   |              |
| <i>Gönüllü Durumu</i>       | <input type="checkbox"/> <i>Eczacı</i><br><input type="checkbox"/> <i>Eczane personeli</i> | <i>Yaş:</i>  |

|                         |  |              |
|-------------------------|--|--------------|
| <i>Tanık Adı Soyadı</i> |  | <i>Tarih</i> |
| <i>Adres :</i>          |  |              |

|                                |  |              |
|--------------------------------|--|--------------|
| <i>Araştırmacı Adı Soyadı:</i> |  | <i>Tarih</i> |
| <i>Adres:</i>                  |  |              |

**Ek 2**

|  |
|--|
| Yaş :  |
| Cinsiyet : (erkek/kadın)   |
| Diyabetiniz var mı ? (evet/hayır)  |
| Son 1 ayda antibiyotik kullandınız mı? (evet/hayır)                              |
| Son 1 yılda hastaneye tedavi amaçlı başvuru veya yatışınız oldu mu? (evet/hayır) |
| Sigara kullanıyor musunuz? (evet/hayır)  |
| Ne kadar süredir eczanede çalışıyorsunuz?  |

## EK 3

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI            | Eczanelerde çalışan eczacı ve eczacı personeline Staphylococcus aureus burun taşıyıcılığının saptanması, suşların metisilin direnci ve mecA geni yönünden araştırılması |
| VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU |   |

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER       | Belge Adı  | Tarihi                   | Versiyon Numarası | Dili  |
|--------------------------------|--|--------------------------|-------------------|---|
|                                | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ  |                          |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU  |                          |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | OLGU RAPOR FORMU   |                          |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ              |  |                          |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı  | Açıklama                 |                   |   |
|                                | SIGORTA  | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ  | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU   | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | İLAN   | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | YILLIK BİLDİRİM  | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | SONUÇ RAPORU   | <input type="checkbox"/> |                   |   |
|                                | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ  | <input type="checkbox"/> |                   |   |
| DİĞER:                         | <input type="checkbox"/>   |                          |                   |   |
| KARAR BİLGİLERİ                | Karar No:04-177-14   | Tarih: 10 Mart 2014      |                   |   |
|                                | Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. |                          |                   |   |

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI      | Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: | Prof.Dr.Mehmet MELLİ  |

| Unvanı/Adı/Soyadı       | Uzmanlık Alanı                | Kurumu                  | Cinsiyet   | Araştırma ile ilişki   | Katılım *  | İmza              |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|--|--|--|-------------------|
| Prof.Dr.Mehmet MELLİ    | Farmakoloji                   | A.Ü.Tıp Fakültesi       | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | M. Mellî          |
| Prof.Dr.Cihan YURDAYDIN | Gastroenteroloji              | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | Tokdemir          |
| Prof.Dr.Mehmet GÜREL    | Genel Cerrahi                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Özdemir           |
| Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY | Farmakoloji                   | A.Ü.Eczacılık Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Özdemir           |
| Doç.Dr.A. Ruhi SOYLU    | Biyofizik                     | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | A. Söğüt          |
| Prof.Dr.Cem ATBAŞOĞLU   | Ruh Sağlığı ve Hastalıkları   | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | Dr. Cem Atbaşoğlu |
| Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK   | Biyokimya                     | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Özdemir           |
| Prof.Dr.Serap SIVRI     | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Serap Sivri       |
| Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK  | Hukuk                         | A.Ü.Hukuk Fakültesi     | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | Tokdemir          |
| Prof.Dr.Banu ÇAKIR      | Halk Sağlığı                  | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | Dr. Banu Çakır    |
| Prof.Dr.Güngör UTKAN    | Tıbbi Onkoloji                | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Ütcan             |
| Doç.Dr.Derya ÖZTUNA     | Biyostatistik                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Öztuna            |
| Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY | Tıbbi Genetik                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Nüket Kutlay      |
| Uz.Dr.Önder İLGİLİ      | Tıp Tarihi ve Etik            | A.Ü.Tıp Fakültesi       | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | Önder İlgili      |
| Gülsüm ASLAN            | Arkeoloji                     | -                       | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | Rehber            |

\*Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet Mellî  
İmza: M. Mellî



## ÖZGEÇMİŞ

### I - Bireysel Bilgiler

Ad: HALİL

Soyad :BAL

Doğum yeri ve tarihi: Ankara 2/8/1983

Medeni Durumu : Evli

İleşitim Adresi : Ziyabey caddesi 1411.sokak 10/10 BALGAT/ANKARA

E mail: halilbal@ankara.edu.tr, halilbal@cumhuriyet.edu.tr

### II –Eğitimi

2002-2006, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji

2006-2008, Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Alan  
Öğretmenliği (yüksek lisans)

### III- İş deneyimi

2006-2013, Ankaradaki çeşitli özel dersanelerde biyoloji öğretmenliği

2013 Eylül- Araştırma Görevlisi / Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

### IV- Yayınlar /Posterler

Poster

H.Bal<sup>1</sup>, S.Yıldız<sup>2</sup> Macrolide,Lincosamide,Streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) Resistance  
Phenotype in Staphylococcal isolates ISOPS 2015

### V- Etkinlikler

Verdiği seminerler: PCR (polymerase chain reaction) Mayıs 2015

Katıldığı seminer/ kongreler:

1. Kozmetik analizleri konferansı 4 Aralık 2014
2. XI. Ankara biotechnology days 20-21 May2015
3. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11) 9-12  
June 2015