TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA MAKROLİD GRUBU ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI

DENİZ GÜNEŞER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. BURAK AKSU

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Kurum: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi: Yüksek Lisans

Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Sahibi: Deniz GÜNEŞER

Tez Başlığı: "Klinik Örneklerden Soyutlanan Staphylococcus Aureus Suşlarında Makrolid Grubu Antibiyotiklere Direnç Mekanizmalarının Araştırılması."

Sınav Yeri: Tıbbi Mikrobiyoloji ABD

Sınav Tarihi: 24.08.2009

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Kurumu	**İmza**
Danışman (Unvan, Adı, Soyadı) Öğr. Grv. Dr. Burak AKSU	M.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AbD.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı) Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN	M.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AbD.	
Doç. Dr. Mustafa ÖZYURT	Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AbD.	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 03/09/2009 tarih ve 171 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr. Nimet GENÇOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

24 Ağustos 2009

Deniz Güneşer

I) ÖNSÖZ:

Yüksek lisans eğitimimin ve tez çalışmam boyunca her konuda destek olan değerli danışman hocam Dr. Burak Aksu'ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca başta bilimsel fikir ve düşünceleri olmak üzere her konuda yardımcı olan hocalarım Prof. Dr. Funda Babacan, Prof. Dr. Güner Söyletir, Prof. Dr. Ayşegül Karahasan, Prof. Dr. Ufuk Hasdemir, Doç. Dr. Nilgün Çerikçioğlu ve Doç. Dr. Nurver Ülger'e,

Yüksek lisansa başladığım günden beri yanımda olan, başta Dr. Pınar Sağıroğlu olmak üzere, bütün yüksek lisans ve asistan arkadaşlarım ile her zaman desteğini hissettiğim Uzman Dr. Arzu İlki ve anabilim dalımızın tüm çalışanlarına,

Tez çalışmama katkılardan dolayı Doç. Dr. Bülent Bozdoğan ve Dr. Tuğrul Hoşbul'a,

Yıllarını eğitime adamış, hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem ve babama, beni yürekten destekleyen kardeşim Mine'ye

teşekkürü borç bilirim…

Deniz Güneşer

II) İÇİNDEKİLER:

I) Önsöz

II) İçindekiler

III) Kısaltmalar ve Simgeler

IV) Şekil, Resim ve Tabloların Listesi

Özet

Summary

1. Giriş ve Amaç **1**

2. Genel Bilgiler **3**

2.1. Mikrobiyolojisi 3

2.1.1. Hücre Duvarı 5

2.1.2 Kapsül ve Slime Faktör 10

2.1.3. Virülans Faktörleri 11

2.2. *S. aureus* Enfeksiyonlarının Kliniği ve Patogenez 15

2.2.1. Klinik 15

2.2.2. Patogenez 15

2.3. Epidemiyoloji 16

2.3.1. Kolonizasyon 16

2.3.2. Toplum Kaynaklı ve Hastane Kaynaklı MRSA 16

2.3.3. Faj Tipleri 17

2.4. Mikrobiyolojik Tanı 18

2.4.1. Klasik Yöntemler 18

2.4.2. Seroloji 21

2.4.3. Moleküler Yöntemler 21

2.4.4. Diğer Yöntemler 22

2.5. *S. aureus* Enfeksiyonlarında Tedavi 22

2.6. *S. aureus* Enfeksiyonlarından Korunma ve Kontrol 25

3. Gereç ve Yöntem 26

3.1. Gereçler 26

3.1.1. Besiyerleri 26

3.1.2. Standart Kökenler 26

3.1.3. Antibiyotikler 26

3.1.4. Kimyasal Maddeler 27

3.1.5. PZR Malzemeleri 27

3.3.6. Hazırlanan Solüsyonlar ve Besiyerleri 28

3.2. Araçlar ve Aygıtlar 29

3.3. Yöntemler 30

3.3.1. Bakteri Kökenlerinin Seçimi 30

3.3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri 30

3.3.3. MİK Değerlerinin Saptanması 31

3.3.4. Antibiyotik Direncinin Fenotipik Karakterizasyonu 31

3.3.5. Antibiyotik Direncinin Genotipik Karakterizasyonu 32

4. Bulgular **34**

4.1. Fenotipik Test Sonuçları 35

4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi Sonuçları 35

4.3. Genotipik Test Sonuçları 36

5. Tartışma ve Sonuç **42**

6. Kaynaklar **51**

Özgeçmiş

Etik Kurul Onayı

III) KISALTMALAR VE SİMGELER:

ATCC: American Type Culture Collection

CLSI: Clinical Laboratories Standarts Institute

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

MRSA: Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*

MSSA: Metisiline hassas *Staphylococcus aureus*

KNS: Koagulaz negatif *Staphylococcus spp.*

MLS_B: Makrolid, Linkozamid, Streptogramin B

$iMLS_B$: İndüklenebilir MLS_B direnci

$cMLS_B$: Yapısal MLS_B direnci

NAG: N-asetilglukozamin

NAM: N-asetilmuramik asit

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

MSCRAMM: Microbial Surface Component Reacting with Adherence Matrix Molecules

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

TK - MRSA: Toplum Kaynaklı Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*

HK - MRSA: Hastane Kaynaklı Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

mm: milimetre

IV) ŞEKİL, RESİM VE TABLOLARIN LİSTESİ:

i. Şekillerin Listesi:

Şekil 1: Gram pozitif hücre duvarı

Şekil 2: Gram pozitif hücre duvarının peptidoglikan polimer yapısı

Şekil 3: *Staphylococcus aureus*'un virülans faktörlerinin şematik görünüşü

Şekil 4: *Staphylococcus aureus* tanısında kullanılan rutin laboratuvar testleri

Şekil 5: Örnek Dağılım Grafiği

ii. Resimlerin Listesi:

Resim 1: *Staphylococcus* cinsinin elektron mikroskobunda görünüşü

Resim 2: Kanlı agarda *Staphylococcus aureus* kolonileri

Resim 3: Gram boyamada *Staphylococcus spp.*

Resim 4: DNaz Testi

Resim 5: Mannitol Salt Agar

Resim6: a: $cMLS_B$, b: $iMLS_B$, c: M fenotipi

Resim 7: *msr A/B* PZR görüntüsü

Resim 8: *ermA* ve *ermC* PZR görüntüsü

iii. Tabloların Listesi

Tablo 1: *Staphylococcus aureus*'un üreme sınır değerleri

Tablo 2: *S. aureus*'un virülans faktörleri

Tablo 3: *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar

Tablo 4: *S. aureus* faj tipleri

Tablo 5: CLSI'nin *Staphylococcus spp.* için önerdiği disk diffüzyon değerlendirme kriterleri

Tablo 6: CLSI'nin *Staphylococcus spp.* için önerdiği MİK değerlendirme kriterleri

Tablo 7: PZR'nda kullanılan özgül primerler

Tablo 8: PZR Reaksiyon koşulları

Tablo 9: Örnek Dağılımı:

Tablo 10: Fenotipik Test Sonuçları

Tablo 11: Kökenlerin eritromisin ve klindamisin için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ Değerleri

Tablo 12: Kökenlerin eritromisin ve klindamisin için MİK Değerleri

Tablo 13: Kökenlerde *ermA, ermC, msrA/B* genlerinin varlığı

Tablo 14: Tüm kökenlerin fenotipik test sonuçları, MİK değerleri ve PZR bulguları

ÖZET:

Staphylococcus aureus, insanda toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen mikroorganizmalardandır. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, toksine bağlı enfeksiyonlar, pnömoni, endokardit, menenjit, bakteremi gibi çok farklı klinik tablolara neden olabilir.

Metisilin direnci, makrolidler gibi alternatif antibiyotiklerin kullanımına neden olmuştur; fakat tüm dünyada gelişen makrolid direnci bu antibiyotiklerin kullanımını sınırlamıştır. Makrolid direnci, hedef bölge değişikliği (MLS_B fenotipi, *erm* genleri tarafından kodlanır), aktif atım pompası (efluks) (MS fenotipi, *msrA/B* genleri tarafından kodlanır) veya hücre duvar geçirgenliğinin azalması şeklinde oluşabilir. Bu çalışmada, klinik *S. aureus* izolatlarında makrolid direncinin prevalansı ve genetik mekanizmasının araştırılması amaçlamıştır. 2006 - 2009 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 94 adet eritromisin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatı çalışmaya alınmıştır. 94 çalışma kökeninde (57 MRSA, 37 MSSA) indüklenebilir direnç fenotipi ($iMLS_B$), yapısal direnç fenotipi ($cMLS_B$) ve aktif atım pompasıyla ilişkili MS fenotipi sırasıyla % 51.1, % 43.6 ve %5.3 olarak saptanmıştır. Makrolid direncinin genetik temelini araştırıldığında, bakteri kökenlerinin %60.6'sında *ermA*, *ermC* ve *msrA/B* direnç genlerinden en az bir tanesi pozitif saptanmıştır. Bunlar arasında *ermC*'nin dirençten sorumlu en yaygın gen olduğu (39/94 köken, %41.5) gözlenmiştir. MLS_B direncinde rol alan aktif atım pompasını kodlayan *msrA/B* genleri ise sadece tek bir kökende belirlenmiştir.

Eritromisin dirençli klinik *S.aureus* izolatlarında yüksek oranda saptadığımız indüklenebilir tip MLS_B direnci, bu bakteriyle gelişen enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçimi yapılırken göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Staphylococcus aureus, makrolid direnç fenotipleri, makrolid direnç genotipleri

SUMMARY:

Investigation of Macrolide Resistance Mechanisms Among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus is one of the most common causes of both community- and haealthcare- associated infection. *S.aureus* may cause various clinical aspects such as skin and soft tissue infections, bone and joint infections, food poisoning, pneumoniae, endocarditis, meningitis, sepsis.

Methicillin resistance evokes the use of alternative antibiotics like macrolides; but worldwide development of macrolide resistance limits the use of these antibiotics. Macrolide resistance occurs either through target site modification (MLS_B phenotype, encoded by *erm* genes), efluks (MS phenotype, encoded by *msrA/B* genes) or decreased cell wall permeability. In this study, it's aimed to investigate the prevalence and the genetic mechanism of macrolide resistance in clinical isolates of *S. aureus*. Total of 94 erythromycin resistant *S. aureus* isolated from various clinical samples between 2006-2009 are included in our study. Of the 94 study isolates (57 MRSA, 37 MSSA), inducible resistance phenotype ($iMLS_B$), constitiutional resistance phenotype ($cMLS_B$) and efflux pump mediated resistance (MS phenotype) were detected in 51.1%, 43.6% and, 5.3%, respectively. Genetic backround of macrolide resistance also investigated, 60.6 % of the isolates were carried at least one of the *ermA*, *ermC* and, *msrA/B* genes related with resistance. We noticed the *ermC* was the most common gene (39/94 isolates, 41.5%) responsible for the certain resistance. The efflux pump that play role in MLS_B resistance coded by *msrA/B* genes was detected only in one study isolate.

One would consider the detected high occurance rate of the inducible type MLS_B resistance among erythromycin resistant clinical *S. aureus* isolates when choosing drugs to treat infections caused by this bacterium.

Key words: Staphylococcus aureus, macrolide resistance genotypes, macrolide resistance phenotypes

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Staphylococcus aureus, hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık soyutlanan etken organizmalardan biridir. Sebep olduğu enfeksiyonlar arasında deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, akciğer enfeksiyonları, besin zehirlenmesi, endokardit, menenjit, bakteremi sayılabilir.

1990'lı yılların başlarında pazara giren makrolid grubu yeni antibiyotikler, ß laktam grubu antibiyotiklere alternatif olarak sunulmuş ve *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaya başlanmıştır.

Günümüzde bu enfeksiyonların tedavisi amacıyla, mikroorganizmanın ß laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi ve penisilin alerjisi olan hastalar nedeniyle, ampirik olarak ve sıklıkla makrolid grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak, günümüzde *S. aureus* suşlarında makrolid grubu antibiyotiklere de çeşitli mekanizmalarla direnç gelişmiş durumdadır. Bakteride hücre duvar permeabilitesinin azalması, aktif atım pompa sistemi (efluks), hedef bölge değişikliği (50S ribozomal alt ünitesindeki 23S ribozomal RNA'da adenin metilasyonu) gibi mekanizmalar direnç gelişiminde rol alır. En sık görülen direnç mekanizması hedef bölge değişikliğidir.

MLS_B tipi (makrolid, linkozamid, streptogramin B antibiyotiklere direnç) olarak tanımlanan direnç profili, plazmid veya transpozonlarla aktarılır. MLS_B direnç fenotipi indüklenebilir ($iMLS_B$) veya yapısal ($cMLS_B$) özellik gösterir. Yapısal olarak dirençli suşlar, MLS_B grubundaki tüm antibiyotiklere dirençlidirler ve standart antibiyotik duyarlılık testleriyle kolayca saptanırlar. İndüklenebilir dirençte ise, 14 ve 15 halkalı makrolidlerin metilaz sentezini kuvvetle indüklemeleri nedeniyle sadece bu grupta yer alan makrolidlere (örneğin eritromisin ve azitromisin) karşı direnç gelişir; 16 üyeli makrolidler (örneğin spiramisin), linkozamid ve streptogramin B ise etkinliğini sürdürür. Bu dirençte *erm* geni (eritromisin ribozom metilaz) rol alır. e*rm* geninin 4 major sınıfı vardır; *erm(A), erm(B), erm(C)* ve *erm(F).* Stafilokoklarda MLS_B direncinde en sık saptanan genler, *erm(A)* ve *erm(C*)'dir.

ATP-bağımlı aktif atım pompasının etkili olduğu antibiyotik direncinde ise bakteri 14-, 15- üyeli makrolidlere dirençli, 16- üyeli makrolidlerle, linkozamid ve streptogramin B'ye duyarlıdır; buna ek olarak eritromisin MİK değeri de oldukça düşüktür. Bu mekanizma sayesinde hücre içindeki antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu, ribozoma bağlanıp etki göstermede yetersiz kalır. Atım pompasından sorumlu *msrA/B* geni genellikle kromozom üzerinde yer alır ve konjugasyonla aktarılır.

Makrolid direnç mekanizmaları, dünya üzerinde belirli bir coğrafi yayılım göstermektedir. Türkiye'de klinik *S. aureus* izolatlarında görülen makrolid direncinden hangi direnç genlerinin sorumlu olduğunu ortaya koyan çalışma sayısı kısıtlıdır.

Bu çalışmada amacımız, Marmara Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran hastaların klinik örneklerinden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında, makrolid grubu antibiyotiklere karşı gelişen direncin fenotipik karakterinin belirlenmesi ve dirençte rol alan genetik temelin saptanmasıdır.

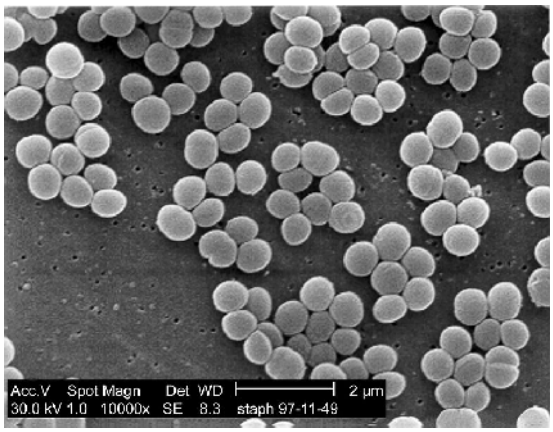
2. GENEL BİLGİLER:

Staphylococcus aureus, doğada yaygın olarak bulunduğu gibi insanların deri, burun ve üst solunum yollarında da kolonize olabilen bir bakteridir. Hem toplum kaynaklı ve hem de hastane kaynaklı, çok farklı tablolarla seyreden enfeksiyonlara sebep olur. İnsanda ve hayvanlarda enfeksiyon etkeni olarak en sık olarak soyutlanan mikroorganizmalardan birisidir.

2.1. Mikrobiyolojisi:

Micrococcaceae familyası'na ait *Staphylococcus* cinsinde yer alan bir bakteridir. *Staphylococcus* cinsinin 28 tür ve 32 alt türü bulunur. Bunlardan en önemlisi koagülaz üretimi ile diğer türlerden ayrılan *Staphylococcus aureus*'tur.

Stafilokoklar, 0,5 - 1,5 µm çapında, spor oluşturmayan, hareketsiz, fakültatif anaerob bakterilerdir. Mikroskopta tek koklar, ikili koklar, tetradlar ya da üzüm salkımı oluşturmuş koklar şeklinde görülebilirler (Resim 1). İsimleri Yunanca da üzüm salkımı anlamına gelen "staphyl" kelimesinden gelmektedir (1).



Resim 1: *Staphylococcus* cinsinin scanning elektron mikroskobunda görünüşü (http://tr.wikipedia.org/wiki/stafilokoklar adresinden alınmıştır.)

İnsanda burun, nazofarinks, deri ve perianal bölgede yaygın kolonizasyon gösterirler. Travma ile endojen olarak olarak bulaşabileceği gibi, insandan insana da hava ve direkt temas ile bulaşabilir. Direkt temasta, özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, yıkanmayan eller en önemli bulaş yoludur.

S.aureus, basit besiyerlerinde üreyebilir. Ancak kanlı agarda daha iyi ürer ve ß hemoliz yapar. Altın sarısı renkte pigment oluşturan koloniler 1 – 2 milimetre çapında, yuvarlak kenarlı, kabarık, parlak yüzeyli, S tipindedir (Resim 2).



Resim 2: Kanlı agarda *Staphylococcus aureus* kolonileri

S.aureus, dış etkenlere ve antimikrobiyallere en dirençli bakterilerden biridir. Çok geniş ısı ve pH yelpazesine dayanıklıdırlar. Kültürlerde + 4°C'de 2 - 3 ay, + 20°C'de 6 aya kadar canlı kalabilirler. Aynı zamanda ısıya da dayanıklıdırlar (2). 60°C'de 50 dakikaya kadar canlılıklarını sürdürürler (3). Aynı zamanda kuruluğa da dirençlidirler ve tuzlu ortamda üreyebilirler (Tablo 1). *S.aureus* için optimum üreme derecesi 37°C, optimum pH 7,4'tür. Antibiyotiklere hızla direnç geliştiren bakterilerdir. 1950'li yıllarda penisilin direnci ortaya çıkmış; bunu makrolid, tetrasiklin, aminoglikozid dirençli suşlar izlemiştir. *S.aureus* suşlarının tümü 1951'de

eritromisine duyarlı iken, 6 ay kadar sonra bu antibiyotiğe karşı da direnç gelişmiştir (4).

Tablo 1: *Staphylococcus aureus*'un üreme sınır değerleri (3)

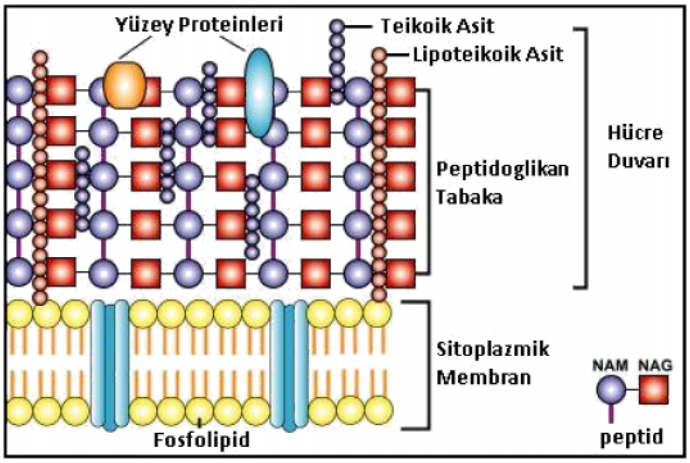
En Düşük Sıcaklık	**En Yüksek Sıcaklık**	**En Düşük pH**	**En Yüksek pH**	**En Yüksek Tuz %**	**Oksijen İhtiyacı**
7°C -8°C	45°C-47°C	4,0	9,8	8-10	Fakültatif Anaerob

S. aureus'un hücre membranını sırasıyla hücre duvarı ve kapsül çevreler.

2.1.1. Hücre Duvarı:

2.1.1.1. Hücre Duvarının Yapısı:

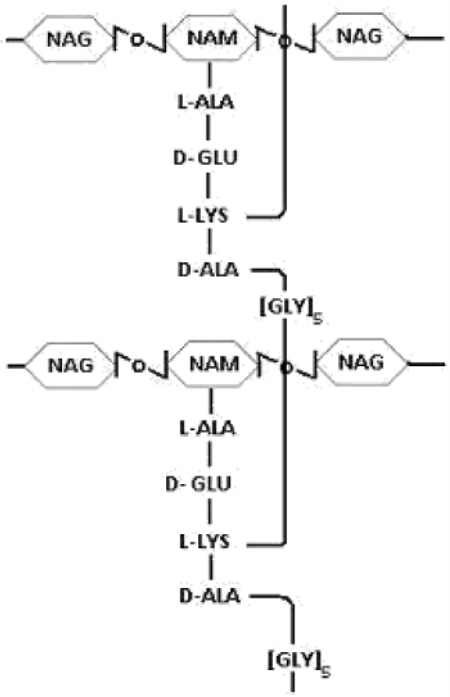
Hücre duvarı, sitoplazmik membranı sararak bakteriye şekil verip onun bütünlüğünü koruyan, birden fazla tabakadan oluşan kompleks bir yapıdır. Hücre duvarının değişik tabakalarında antijenik determinantlar ve yüzeyinde de faj reseptörleri yer almaktadır (1). Bakteriler, hücre duvarlarındaki farklılıklara göre iki grupta toplanırlar: Gram pozitif ve gram negatif bakteriler. Gram negatif bakterilerde hücre duvar kalınlığı (10 - 15 nm) iken gram pozitif bakterilerde (20 - 80 nm)'dir (5). Her iki grupta da ortak olarak peptidoglikan (mürein, mukopeptid) tabaka bulunmaktadır.



Şekil 1: Gram pozitif hücre duvarı. NAG: N-asetilglukozamin,
NAM: N-asetilmuramik asit
(http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/diseases/ctetani/images/u1fig9b.jpg'den adapte edilmiştir.)

Peptidoglikan Tabaka:

Mikoplazmalar ve arkeabakteriler dışındaki tüm prokaryotik hücrelerde bulunmaktadır. Gram pozitif bakterilerde hücre duvarının % 50'sinden fazlasını kapsar ve hücre kuru ağırlığının % 40 - % 80'ini meydana getirmektedir (Şekil 1). Bu tabaka insanda gram negatif bakterilerin endotoksinlerine benzer aktivite göstererek, makrofajlardan sitokin salınımını uyarır, komplemanın aktivasyonuna yol açar ve trombosit agregasyonuna neden olur. Ayrıca monositlerden interlökin-1 salınımını uyararak, parçalı çekirdekli lökositlerin enfeksiyon bölgesine toplanmalarına ve sonuçta apse oluşumuna da yol açar (6). N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit, 1,4 ß glikozid bağlarıyla bağlanarak peptidoglikan iskeletini oluşturur. Muramik aside bağlı tetrapeptid zincirlerindeki alanin aminoasidinin karboksi terminali ile lizin aminoasidinin amin grubu pentaglisin peptid zincirleri ile çapraz bağlanır (Şekil 2).



Şekil 2: Gram pozitif hücre duvarının peptidoglikan polimer yapısı (Şekil; Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology, 20. baskı. Appleton-Lange 1995'ten adapte edilmiştir). NAG: N-asetilglukozamin, NAM: N-asetilmuramik asit, L-ALA: L-alanin, D-GLU: D-glutamik asit, L-LYS: L-lizin, D-ALA: D-alanin.

Peptidoglikan iskelet yapısı tüm bakterilerde aynıdır, fakat tetrapeptid yan zincirler ve peptid çapraz bağları türden türe değişiklik gösterir. Tüm türlerin tetrapeptid yan zincirleri belirli ortak özellikleri içerir. Çoğunda birinci aminoasit L-alanin, ikinci amino asit D-glutamik asittir. Üçüncü aminoasit en değişken bölgedir. Gram pozitiflerde genellikle lizindir, ancak diaminopimelik asit ya da nadiren de olsa ornitin olabilir. Dördüncü aminoasit her zaman D-alanin'dir.

Peptidoglikan tabaka, kovalent bağlarla bağlı, bakteriyi sıkıca çevreleyen bir moleküldür. Glikan zincir çapraz bağlarla bağlıdır. Patojen bakterilerde çapraz bağlar, patojen olmayanlara göre daha fazladır. Bu özellikleri virülanslarını artırır; vücut sıvılarındaki lizozimin etkisine daha dirençli hale gelirler.

Penisilin Bağlayan Proteinler:

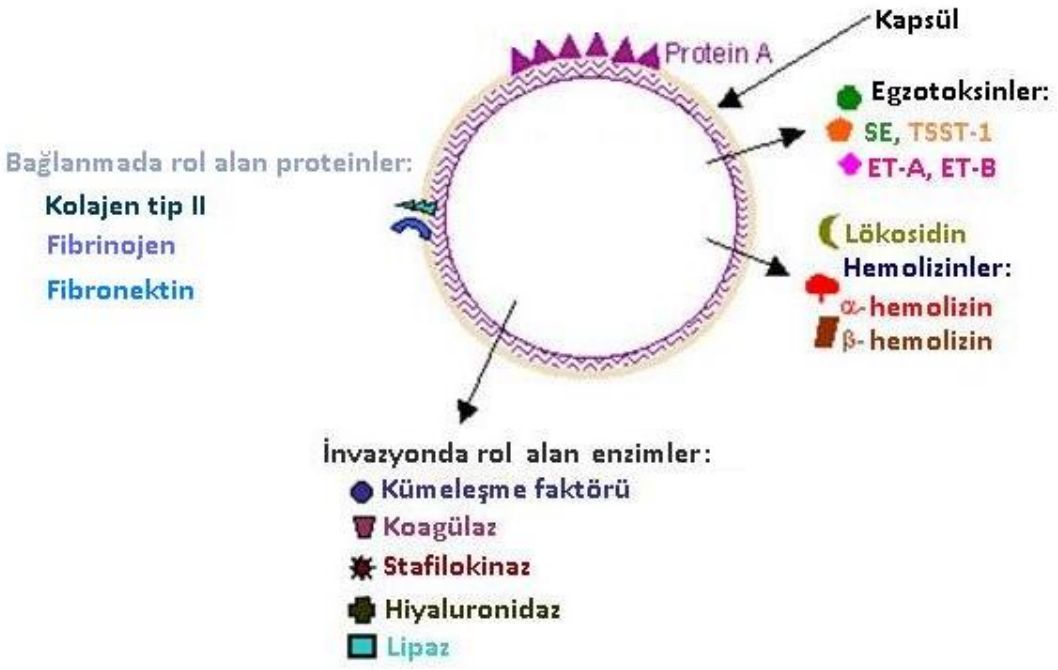
Bakteri hücre duvarında yer alan, ß laktam antibiyotikleri bağlayan proteinlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) denir. PBP'ler, hücre duvarı sentezi esnasındaki transpeptidasyon ve karboksipeptidasyon reaksiyonlarını katalizleyerek, peptidoglikan tabakanın yapımında rol alırlar. Membran proteinlerinin %1'ini oluşturan PBP'lerin, ß laktam antibiyotiklere afiniteleri de farklıdır. PBP'lerin, ß laktam antibiyotikler tarafından inhibisyonu, hücre duvar kaybından lizise kadar giden olaylara neden olur (4, 5).

Teikoik Asit:

Suda eriyebilen, fosfodiester bağları ile bağlanarak uzun zincirler teşkil eden şeker-alkol-fosfat polimerleridir. Bakteriye antijenik özellik kazandırır. *S.aureus*'ta N-asetil glukozamin'e ribitol fosfat üniteleri bağlanır(5). Sadece gram pozitif bakterilerde bulunan teikoik asit, mukozalarda bulunan özgül reseptörleri ile birleşerek stafilokokların konağa adherensini sağlar (6). Ayrıca hücre duvarının sertliğini ve esnekliğini destekler (7).

2.1.1.2. Yüzey Proteinleri:

S. aureus'un yüzeyinde bulunan proteinlerin (Şekil 3), bakteri virülansı ile ilgili olduğu saptanmıştır. Konak hücresine tutunmayı sağlayan, adezin ailesinden olan MSCRAMM'ler (Microbial Surface Component Reacting with Adherence Matrix Molecules) *S. aureus*'un yüzey proteinleridir. Bunlar; protein A, koagülaz, kümelenme faktörü, fibronektin bağlayan protein ve kollajen bağlayan proteinlerdir (8).



Şekil 3: Staphylococcus aureus'un virülans faktörlerinin şematik görünüşü. (http://schaechter.asmblog.org/.a/6a00d8341c5e1453ef01127918d7f028a4-400wi'ten adapte edilmiştir)

Protein A: Büyük bir kısmı peptidoglikan tabakaya kovalent olarak bağlanmakta, bir kısmı ise ekstraselüler ortama salınmaktadır. Protein A, IgG_3 dışındaki tüm IgG'ler, IgA_2 ve bazı IgM'lerin F_C parçası ile reaksiyon vermektedir. Aynı zamanda komplemanı aktive eder; antifagositik, kemotaktik, mitojenik etkileri vardır. Üreme sırasında dış ortama salınan protein A, bakterinin fagositozunu önlemektedir (4, 5, 9, 10).

Koagülaz: Ekstraselüler bir proenzimdir. Protrombin ile birleşerek stafilotrombin adı verilen kompleksi oluşturur. Böylece proteaz aktivitesi kazanır. Fibrinojeni fibrine parçalayarak plazmayı pıhtılaştırır. Bu özelliği, *S. aureus*'un diğer *Staphylococcus* türlerinden (örneğin *S. epidermidis*) ayrımında kullanılan tüp koagülaz testinin temelini oluşturur (8).

Kümelenme Faktörü: Fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlayan bu faktör serbest olmadığından fibrin presipitasyonu hücre yüzeyinde meydana gelir. Sonuç olarak,

bakteriler aglütine olur ve gözle görülebilen kümeleşme gerçekleşir (4). Bu faktör *S. aureus*'u tanımlamada kullanılan lam koagülaz testinin temelini oluşturur.

Fibronektin Bağlayan Protein: İlk olarak Kuusela tarafından 1978'de bildirilmiş, FnbpA ve FnbpB olmak üzere birbirine benzeyen iki ayrı protein gösterilmiştir. Streptokoklardaki fibronektin bağlayıcı yüzey proteinleriyle yapısal olarak benzerlik gösterirler (9).

Bunlardan başka bir çok stafilokokal protein, *S.aureus*'un yüzeyinde çok yaygın olarak bulunur. Bu proteinler de benzer şekilde bakterinin adezyonunda görev yaparlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bakteri yüzey proteinlerinin konak dokuda kolonize olmasında önemli görevler üstlendiğini göstermiştir (11).

2.1.2. Kapsül ve Slime Faktör:

2.1.2.1. Kapsül:

Staphylococcus'ların % 90'dan fazlasında bulunan polisakkarit kapsül, bakteriyi tamamen saran bir tabaka oluşturur (1). Bakteri hücresi üzerindeki tanıma bölgelerini maskeleyerek polimorf nüveli lökositler tarafından bakterinin fagosite edilmesini sınırlar (9, 12). Mukoid tip kapsülün, antifagositik virulans faktörü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (10). Polisakkarit yapısındaki kapsülün bugüne kadar 11 farklı serotipi tanımlanmıştır. Tip 5 ve 8, insan enfeksiyonlarının % 75'ine sebep olmaktadır. Bir çok MRSA izolatı tip 5 yapısındadır (9). Tip 8 diğer virulans faktörleri ile ilişkilidir (11).

Kapsül, enfeksiyonun ilk basamağında bakterilerin dokulara yapışmasında rol oynar (13). Ayrıca, bakterilerin kateter gibi yabancı cisimlere yapışmasında da önemlidir (6). Bunun yanı sıra, kapsül, bakteriyi, fajların lizisinden de korur (14). Kapsül polisakkaritinin yapısı türden türe değişiklik gösterir ve bir tür içerisindeki serolojik

tipi belirler (13). Aşı çalışmalarında da bu özelliklerden yararlanılmaktadır (1). Özellikle, klinik örneklerden izole edilen, çoklu antibiyotik direncine sahip *S. aureus* suşlarında yapılan çalışmalar, aşının *S. aureus*'un yol açtığı hastalıklarla savaşmada ilave bir yaklaşım olabileceğini göstermektedir (9).

2.1.2.2. Slime Faktörü:

İlk kez Christensen ve ark. tarafından gösterilmiştir. Slime maddesi, amorf kapsül yapısındadır. Çevresi bir matriks tarafından sarılmış olan ve bir yüzey üzerinde çoğalan hücreler topluluğudur (15). % 40 karbonhidrat, % 27 protein yapısındadır. Çok kuvvetli antijenik yapıdadır(4). Bu faktör sayesinde *S. aureus* tıbbi, cerrahi aletlere tutunabilmektedir, çünkü polisakkarit yapı, bakterinin plastik ve metal yüzeylere aderansını artırmaktadır. Aynı zamanda antibiyotik diffüzyonunu inhibe ederek, bunların mikroorganizmaya ulaşmalarını engellemektedir.

2.1.3. Virülans Faktörleri:

S.aureus, ürettiği ve taşıdığı çok çeşitli toksin, enzim vb. yapıdaki maddeler nedeniyle virülansı en yüksek olan *Staphylococcus* türüdür (Tablo 2). Ancak bulaş sonucunda enfeksiyon gelişip gelişmeyeceği, sadece bakteri virülansı ile değil, konağa bağlı faktörlerle de ilişkilidir.

Tablo 2: *S. aureus*'un virülans faktörleri

Hücresel Bileşenler	Hücre Dışı Ürünler
Kapsül	Alfa toksin
	Beta toksin
Protein A	Gama toksin
	Delta toksin
Elastin bağlayıcı protein	Lökosidin (PV)
	Enterotoksinler
Kollajen bağlayıcı protein	Toksik Şok Sendromu Toksini-1
	Eksfoliatif Toksin
Fibronektin bağlayıcı protein	Koagülaz
	Stafilokinaz
Kümeleştirici faktör	DNaz
	Hiyalüronidaz
Peptidoglikan	Lipaz
	ß-Laktamaz
Teikoik asit	Proteaz (I, II, III)
	Fosfataz
Lipoteikoik asit	Lizozim
	Laktat dehidrogenaz
Slime tabakası	Katalaz
	Asit fosfataz

2.1.3.1. Lökosidin (PV):

Lökosidin bir tür γ hemolizindir ve türler arasında aktarılabilir. Toksin, elektroforetik olarak birbirinden ayrı F (Fast: hızlı) ve S (Slow: yavaş) adı verilen iki proteinden oluşmuştur. Her iki bileşen de antijeniktir ve formaldehitle toksoide dönüşür. Lökositleri harap ederek fagositozu önlediğinden, virülansta önemli rolü vardır (4). Bu toksin, konak hücrede potasyum ve diğer iyonların permeabilitesinde değişiklik yaparak etki gösterir (4, 16). Özellikle çocuk ve genç erişkinlerdeki cilt

enfeksiyonları ve pnömonilerde ve toplum kökenli metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) enfeksiyonlarında saptanır (1).

2.1.3. 2. Enterotoksinler:

S.aureus'un enterotoksinleri tek zincirli polipeptid yapısındadırlar. Isıya dirençlidirler. Bildirilen dokuz serotipi vardır (A, B, C_1, C_2,C_3, D, E, G, J, K). Genellikle A ve D serotipleri besin zehirlenmelerinde, B serotipi ise hastane enfeksiyonlarında sık karşılanan serotiplerdir (4, 8). Stafilokokal enterotoksinlerin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *S.aureus* üremiş ve enterotoksin oluşmuş besinlerin alınmasından 2 - 6 saat sonra bulantı, kusma ve diyare başlar. Akut semptom ve bulgular 24 saat içinde düzelir ve tam iyileşme ile sonuçlanır.

2.1.3. 3. Toksik Şok Sendromu Toksini-1(TSST-1):

Bir süperantijendir. *S.aureus* Faj-I grubundan 29 ve 52 tipleri TSST-1 oluşturmaktadır. Bu özgül toksini salgılayan suşların hastane kaynaklı olabilecekleri bildirilmiştir (4). Çok geniş bir biyolojik aktivitesi olan bu toksin, ateş, deri döküntüleri, hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği, kusma, diare ile seyreden toksik şok sendromuna yol açar. Aynı zamanda, kalp kası, iskelet sistemi, karaciğer ve böbrek dokusuna doğrudan toksik etkisi vardır (1, 7).

2.1.3. 4. Eksfoliatif Toksin:

S. aureus enfeksiyonlarının dermatolojik belirtilerinden sorumludur. Yeni doğanda haşlanmış deri sendromu hastalığına yol açar (1). Stafilokokların eksfoliatif toksinine bağlı olarak ortaya çıkan ve deride yaygın büller ve soyulmayla karakterize bir klinik tablodur. En çok 5 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Bu yaş grubunda oluşan bu hastalığa Ritter Sendromu ismi verilir (17) (http://www.infeksiyon.org/Detail.asp?ctg=25&Article=384, Erişim Tarihi: Temmuz 2009). Yaygın eksfoliatif tablo (Ritter Sendromu), epidermal nekrozis ve dermatit

oluşturan suşlar Faj-II grubuna aittir. Ekzotoksin özelliğindeki bu proteine karşı nötralizan ve presipitan antikorlar meydana gelir (4). Toksinin antijenik ve biyokimyasal yapıları bakımından en az iki farklı tipi bulunduğu saptanmıştır: Eksfoliatif toksin A (ETA) ve eksfoliatif toksin B (ETB) (5). ETA, termostabildir ve kodlayan gen kromozom üzerindedir. ETB ise termolabildir ve bir plazmid üzerinde kodlanır. Aynı suşta her iki tip toksin bir arada sentezlenebilir (10).

2.1.3. 5. Stafilokinaz:

Stafilokoklar tarafından salınan kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni, aktive ederek ısıya dirençli plazmini (stafilokinaz, fibrinolizin) oluştururlar (5). Plazmin, fibrini eritebilen proteolitik bir maddedir. Bu özellik sayesinde *S. aureus*, dokular arasında daha kolay invaze olur. Bazı suşlarda kromozomal genler tarafından kodlanan bu enzim, bazı suşlarda ise faj genomunun kontrolündedir (10).

2.1.3. 6. DNaz:

Termostabil olan bu enzim, *S. aureus* tanı kriteri olarak kullanılabilir. DNaz, nükleik asitleri, yani DNA ve RNA'yı, nükleotidlere parçalayan ekstrasellüler bir enzimdir (18).

S. aureus'un sahip olduğu tüm bu virülans faktörleri bir takım genetik düzenleyicilerin kontrolü altındadır. Bunların başlıcaları *agr* (accessory gene regulator), *srr* (staphylococcal respiratory response), *sae* (S.aureus ekzoproteinleri) ve *arlS* (autolysis-related locus sensor) 'dir (1).

2.2. *S. aureus* Enfeksiyonlarının Kliniği ve Patogenez:

2.2.1. Klinik:

S. aureus sahip olduğu virülans faktörleri, salgıladığı enzim ve toksinlerle çok farklı klinik tablolara yol açabilen bir bakteridir (Tablo 3).

Tablo 3. *Staphylococcus aureus'*un neden olduğu enfeksiyonlar (1)

Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	Follikülit, Fronkül, Karbonkül, İmpetigo, Süpüratif hidradenit, Mastit, Erizipel, Sellülit, Yara enfeksiyonları, Nekrotizan fasiit
Kemik ve Eklem Enfeksiyonları	Osteomiyelit, Protez eklem enfeksiyonları, Septik artrit, Septik bursit, Piyomiyozit
Toksine Bağlı Enfeksiyonlar	Haşlanmış deri sendromu, Toksik şok sendromu, Besin zehirlenmesi
Akciğer Enfeksiyonları	Pnömoni, Ampiyem
Diğer Klinik Tablolar	Endokardit, Perikardit, Menenjit, Bakteremi/Sepsis

2.2.2. Patogenez:

S. aureus, virülansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Ancak enfeksiyon gelişimi sadece virülansa bağlı değildir; bakteri virülansının, konak savunma sistemi ile kuracağı dengeye bağlıdır (1).

Deri enfeksiyonlarında *S. aureus*, ter ve yağ bezleri ile kıl köklerinden konak organizmaya girer. Deri yanıkları, travmatik ve dekübit yaralar hazırlayıcı faktörlerdir. Damar içi protez, plastik kateter uygulamaları *S. aureus* bakteremisine yol açabilir. Burun taşıyıcılığı da önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Bakteri direkt temasla ve hava yolu ile bulaşır (4).

2.3. Epidemiyoloji:

2.3.1. Kolonizasyon:

Staphylococcus aureus gibi enfeksiyon yapıcı özgül bir mikroorganizma açısından kültür sonucu pozitif bulunan, fakat söz konusu mikroorganizmanın neden olabileceği hastalıklarda görülen semptom ve bulgular bulunmayan kişilerde, o mikroorganizmanın kolonize olduğu kabul edilir (19) (http://www.gata.edu.tr/infkom/MRSA.pdf, Erişim Tarihi: Temmuz 2009).

S. aureus doğumdan itibaren göbek, perine ve deriye kolonize olur. Daha sonraki yıllarda ise buruna yerleşir. İnsanların % 20 kadarı *S. aureus* taşıyıcısıdır, % 20 kadarı hiçbir şekilde *S. aureus* ile kolonize olmaz; geriye kalan %60 ise dönemler halinde burunlarında *S. aureus* taşırlar. Doğurgan çağdaki kadınların % 10'unun vajeninde *S. aureus* kolonizasyonu görülür. Ayrıca rektal, farengeal ve aksillar taşıyıcılık da söz konusudur. İnsülin enjeksiyonu gereken diyabet hastaları, kronik hemodiyaliz ve CAPD hastaları, kronik dermatolojik hastalıkları olanlar, damar içi ilaç alışkanlığı olan ve HIV pozitif kişilerde taşıyıcılık ve enfeksiyon oranı daha da yüksektir. *S. aureus* taşıyıcıları, travma, cerrahi ve diğer riskli durumlarda taşıyıcı olmayanlara oranla daha yüksek enfeksiyon riski altındadırlar (1). Kolonize olan bakteri sayısı ve çeşitliliği; kişinin sağlığı, beslenmesi, yaşı, cinsiyeti, ırkı, sosyo-ekonomik ve kültürel durumu gibi faktörlerin yanı sıra kolonizasyon bölgesinin kirlenmeye elverişlilik derecesi, yıkanma sıklığı, ısısı, nemi ile de yakından ilişkilidir. Vücudun farklı bölgelerine yerleşebilen patojenler arasında en önemli olanı *S. aureus*'tur. Çünkü *S. aureus* enfeksiyonlarının kaynağı, genellikle stafilokokal lezyonu olan bir hasta ya da hastane personelidir. Aynı zamanda burun taşıyıcılığı da önemli bir bulaş kaynağıdır (4).

2.3.2. Toplum Kaynaklı ve Hastane Kaynaklı MRSA:

Amerika'da Hastalık Kontrol Merkezi (Centers for Disease Control, CDC), 2003 yılında, hastane kaynaklı enfeksiyonların % 64'üne sebep olan *S. aureus*'un majör bir hastane kaynaklı patojen olduğunu bildirmiştir. Pediatri yoğun bakım ünitelerinde

kan kültürlerinin % 9'undan, hastane kaynaklı pnömonilerin % 17'sinden, cerrahi müdahele bölgelerinde gelişen enfeksiyonların % 20'sinden MRSA (HK-MRSA) sorumlu bulunmuştur (20). İlk toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonu (TK-MRSA), 1982'de Detroit'te damar içi ilaç kullanan kişilerde saptanmıştır (8).

TK- ve HK-MRSA suşlarının genetik olarak farklı oldukları, SCCmec (stafilokokal kromozomal kaset) tiplendirme yöntemi ile belirlenmiştir. HK-MRSA'larda SSCmec tip II bulunmaktadır. Bu bölge aynı zamanda ß laktam grubu olmayan antibiyotiklere karşı direnci de kodlar. Ancak TK-MRSA'larda SSCmec tip IV ya da V saptanır. Bunlarda ise ß laktam grubu olmayan antibiyotiklere direnç genleri kodlanmamaktadır. Buna karşın, TK-MRSA'da kromozom kasetleri dışında plazmidler gibi genetik elemanlarda da direnç genleri kodlanabilir. Bu tip dirence, *erm* genleri tarafından kodlanan makrolid direnci örnek olarak verilebilir (8).

TK- ve HK-MRSA'lar arasındaki diğer bir fark ise taşıdıkları toksin genleridir. Bu toksinlerden en önemlisi, Panton-Valentine lökosidinidir ve lukS-PV/lukF-PV genleri ile kodlanır. Bu genler, bakteriyofajlar tarafından suşlar arasında aktarılır (8).

2.3.3. Faj Tipleri:

S. aureus faj tipleri dört grup içinde toplanır (Tablo 4). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, virülans ile özel faj tipleri arasında belirgin bir ilişki bulunduğunu göstermektedir. Grup II suşları, impetigo gibi deri enfeksiyonlarına neden olurken, enterotoksin, III ve IV faj gruplarına ait suşlar tarafından oluşturulur. Eksfoliatin, başlıca grup II fajlarla, TSST-1 ise grup I fajlarla taşınır. Yeni doğanda, hastane personelinde ve ameliyatlı hastalar arasında meydana gelen salgınlarda en sık karşılaşılan suşlar, grup III faj tipleri ve 80/81 kompleksine dahil olan suşlardır. Penisilin dirençli suşların da faj tipi olan 80/81, dünyada yaygın olarak bulunmaktadır (4).

Tablo 4: *S. aureus* faj tipleri (4)

Grup	**Faj Tipi**
Grup I	29, 52, 52A, 79, 80
Grup II	3A, 3B, 3C, 55, 71
Grup III	6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85
Grup IV	42D
Sınıflandırılamayanlar	81, 94, 95, 96, 187

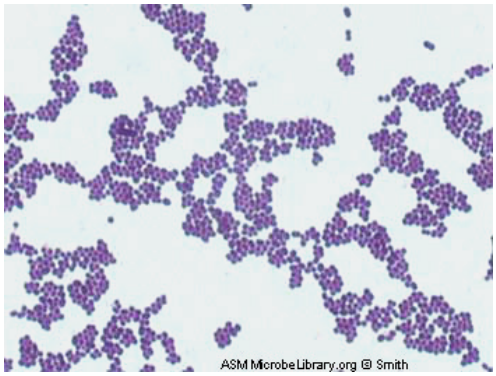
2.4. Mikrobiyolojik Tanı:

S.aureus enfeksiyonlarının tanısında kültür, serolojik yöntemler ve moleküler yöntemler kullanılabilir. Ancak altın standart, klinik örnekten mikroorganizmanın izolasyonudur.

S.aureus enfeksiyonlarının tanısında, direkt ve indirekt tanı yöntemleri uygulanmaktadır. Direkt tanı, uygun klinik materyalin mikroskobik inceleme, boyanma özellikleri, kültürde üretilmesi, koloni morfolojisi, pigment oluşumu, hemoliz, mannitol fermantasyonu, yüksek tuz konsantrasyonunda üreme gibi özellikler dikkate alınarak, etkene yönelik yapılır (4, 5). İndirekt tanıda ise, enfeksiyon sırasında mikroorganizmanın, konakta neden olduğu antikor oluşumunun in vitro olarak saptanması amaçlanır (16).

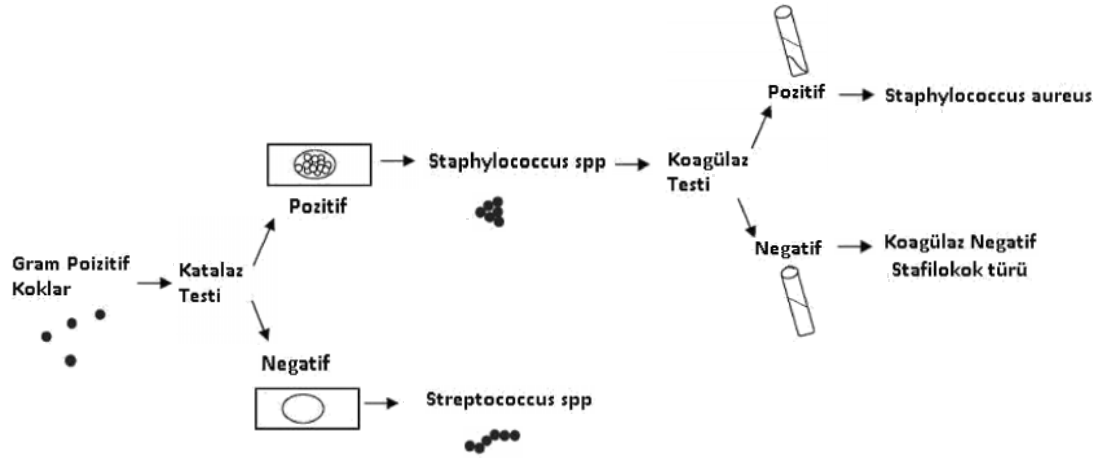
2.4.1. Klasik Yöntemler:

Klinik materyalin, Gram boyama metoduyla hazırlanan preparatında gram pozitif, genellikle küme yapan kokların (Resim 3) görülmesi akla *Staphylococcus* cinsini getirir. *S.aureus* da bu cinsin en önemli türüdür.



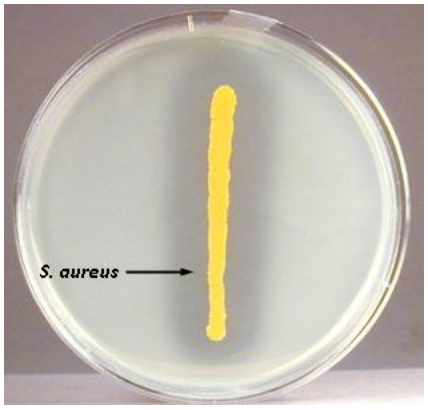
Resim 3: Gram boyamada *Staphylococcus spp.* (http://microvet.arizona.edu/Courses/JC-MIC205/S08/Images/fig2grampos_cocci.jpg adresinden alınmıştır.)

%5 Koyun kanlı agarda 24 saatlik inkübasyon ile oluşan *S.aureus* kolonileri, 1-2 milimetre çapında, yuvarlak kenarlı, kabarık, parlak yüzeyli, S tipindedir; altın sarısı renkte pigment oluşturur ve ß hemoliz yapar. *Staphylococcus* olduğundan şüphelenilen kolonilere, Gram boyamadan sonra, katalaz testi yapılır. *Staphylococcus* cinsi diğer gram pozitif koklardan katalaz testi ile ayrılır. Katalaz testinin pozitifliğinden sonra yapılan koagülaz testi ile *S. aureus* diğer *Staphylococcus* türlerinden ayrılır (Şekil 4).



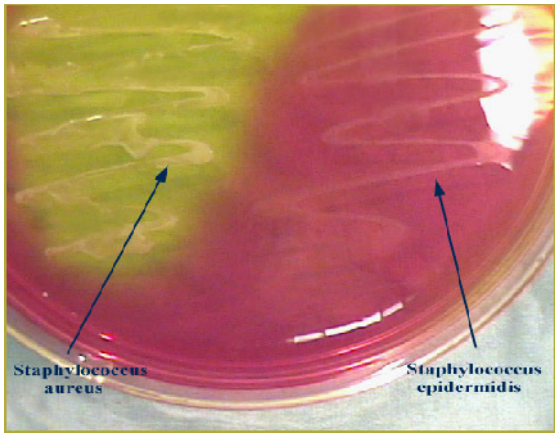
Şekil 4: *Staphylococcus aureus* tanısında kullanılan rutin laboratuvar testleri (http://4.bp.blogspot.com/_X5UZqPW3nj4/RXhFh9YitiI/AAAAAAAAAA8/jEbxAcbxCtM/s320/catalase.bmp adresinden adapte edilmiştir.)

S. aureus'u tanımlamada kullanılan diğer bir özellik DNaz aktivitesidir (Resim 4). DNaz besiyerinde, *S. aureus* kolonilerinin etrafında şeffaf zon oluşur.



Resim 4: DNaz Testi.
(http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab15/images/dnasa.JPG adresinden alınmıştır.)

Mannitol Salt Agar, in vitro olarak yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde *S.aureus* izolatlarının tanımlanmasında kullanılabilen, seçici katı besiyeridir. Bileşimindeki yüksek tuz konsantrasyonu, diğer flora elemanlarının gelişimini baskılar. Mannitol, *S. aureus* 'un üremesini desteklerken, indikatör olan fenol kırmızısı *S. aureus* kolonilerinin etrafında sarı renkte bir zon oluşumunu sağlar. Standart yayma yöntemi ile ekim ve 35 - 37°C'de 3 güne kadar yapılan inkübasyon sonunda, parlak kırmızı besiyerinde gelişen ve etrafı sarı zon ile çevrili büyük, parlak, sarı ve opak koloniler *S. aureus* olarak tanımlanır (Resim 5).



Resim 5: Mannitol Salt Agar (http://pathmicro.med.sc.edu/fox/Mannitol.jpg adresinden alınmıştır.)

2.4.2. Seroloji:

S.aureus'un bir çok antijeni mevcuttur. Ancak serolojik çalışmalarda hangisinin daha kullanılabilir olduğu günümüzde hala tartışmalıdır. Lateks aglutinasyon kitleri, üremiş koloniden *S. aureus* ve MRSA tanısını dakikalar içinde koyabilmektedir. Bazı çalışmalar, bu tanı kitlerinin %96'nın üzerinde duyarlılık ve özgüllüklerinin olduğunu vurgulamaktadır. Ancak altın standart, sırasıyla oksasilin tuz agarı tarama testi ya da PZR ile *mec*A geni varlığının gösterilmesi olduğu için, lateks test sonuçları ön tanı olarak kabul edilmeli ve mutlaka doğrulanmalıdır (21). (www.rshm.gov.tr/enfeksiyon/dosya/lab.doc, Erişim Tarihi: Temmuz 2009)

2.4.3. Moleküler Yöntemler:

Moleküler yöntemlerle *S.aureus* ile diğer koagülaz negatif stafilokokları ayırmaya ve metisilin direncini saptamaya yönelik klasik PZR yöntemleri bulunmaktadır. Bu amaçla ticari kitler de geliştirilmiştir. Bu yaklaşımda, cinse özgü ve türe özgü genleri saptamaya yönelik PZR yöntemleri kullanılır. Örneğin klinik örneklerde, *S. aureus* tanısını koymak üzere *nuc* geni ve MRSA tanısına yönelik *mecA* genini

saptayan ticari ve laboratuvarda geliştirilen moleküler yöntemler bulunmaktadır (22). Ayrıca bu patojen mikroorganizmanın önemli virülans faktörlerini kodlayan genleri (Panton Valentine Lökosidin: lukS, lukF genleri gibi) saptamaya yönelik kitler de mevcuttur (23).

2.4.4. Diğer Yöntemler:

Sayılan bu yöntemler dışında günümüzde, kromojenik besiyerleri, otomatize, yarı-otomatize sistemler de *Staphylococcus aureus* tanısında kullanılmaktadır. Hızlı sistemlerle ön tanı konulabilir ve klinisyen daha erken uyarılabilir. Ancak kesin tanı için mutlaka konvansiyonel yöntemler de çalışılmalı ve bunların sonuçları da klinisyene iletilmelidir (21). Hayvan inokülasyonunun ise tanıda yeri yoktur (4).

2.5. *S. aureus* Enfeksiyonlarında Tedavi:

1940'lı yılların başlarında penisilin G, stafilokok enfeksiyonlarında başarı ile kullanılmıştır. Ancak bu yılların sonunda, penisilin G'ye dirençli suşlar, özellikle hastane enfeksiyonlarından izole edilmeye başlanmıştır (4). Günümüzde, penisilin G direnci, *S.aureus* suşlarının % 95'inden fazlasında görülmektedir. Bu direnç bakterinin ürettiği ß laktamaz (penisilinaz) adı verilen enzimin, ß laktam halkasını parçalayarak antibiyotiği inaktive etmesine bağlıdır. ß laktamaz enzimi genellikle diğer antibiyotiklere karşı direnç genlerini de taşıyan bir plazmidde yer alan *bla* geni tarafından kodlanır ve üretildikten sonra hücre dışına salınır (1). Bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucu, *S. aureus* izolatlarının çoğu ß laktamaz sentezler duruma geldiğinden, penisilin G, bu enfeksiyonların tedavisinde kullanılamaz hale gelmiştir (4).

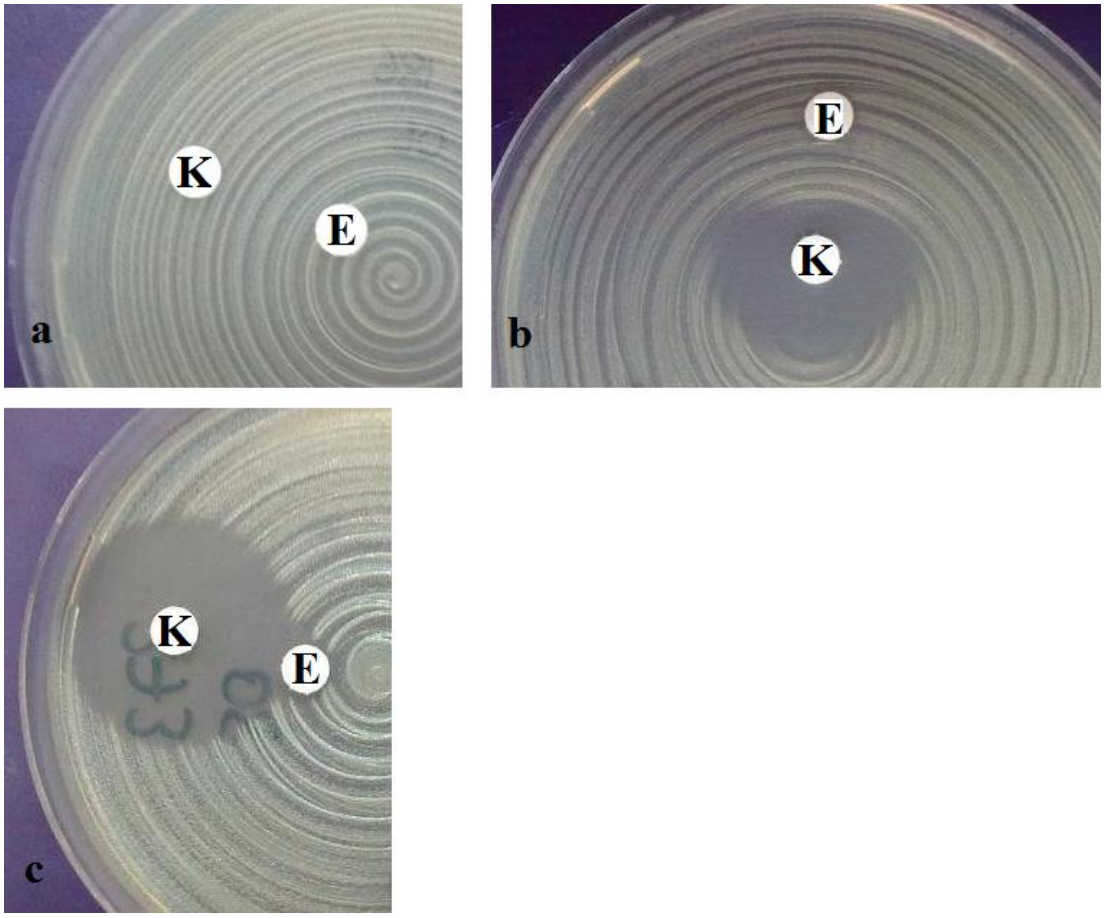
1960'lı yıllarda yarı sentetik penisilinler (metisilin, oksasilin) kullanıma girmiştir. Bu antibiyotikler aslında penisiline duyarlı kökenlere, penisilinden daha az etkilidir. Yarı sentetik penisilinlerin kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bu antibiyotiklere de dirençli suşlar saptanmıştır. Antibiyotiğin hiç kullanılmadığı ülkelerde bile dirençli suşların saptanması, bu direncin daha önceden var olduğunu göstermiştir. Bu direnç

şekline intrensek direnç veya metisilin direnci denilmektedir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) olarak adlandırılan bu suşlar, sefalosporinler dahil tüm ß laktam antibiyotiklere dirençlidirler. Metisiline direncini sağlayan özellik, bakterinin farklı yapıda bir penisilin bağlayan protein (PBP) taşımasından kaynaklanır. Bu PBP, metisiline hassas *Staphylococcus aureus* (MSSA) suşlarında bulunan PBP1, 2 ve 3'ten farklıdır ve PBP2a olarak adlandırılır. PBP2a, SCC*mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec*) adı verilen mobil genetik eleman üzerindeki *mecA* geni tarafından kodlanır. PBP2a, sefalosporinler ve karbapenemler dahil tüm ß laktam antibiyotiklere karşı düşük afiniteye sahiptir, bu nedenle bakteri antibiyotik varlığında dahi hücre duvarının peptidoglikan çapraz bağlarını oluşturarak, canlılığını sürdürür (1).

S.aureus Enfeksiyonları ve Makrolid Grubu Antibiyotikler:

S.aureus kökenlerinde, yoğun olarak görülen ß laktam direnci nedeniyle bu antibiyotiklere alternatif tedavi seçenekleri arayışına başlanmıştır. Makrolid grubu antibiyotikler, solunum sistemi ile deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının rutin tedavisinde sıklıkla tercih edilen antibiyotik grubudur. 1952'de *Streptomyces eritreus*'tan elde edilen eritromisin ile kullanıma giren makrolid grubu antibiyotikler; günümüzde halen düşük yan etkileri, geniş spektrumları, yüksek doku ve serum düzeyleri ile önemlerini sürdürmektedirler. Makrolidlerin ana yapısı, makrosiklik lakton halkası ile bu halkaya bağlı şekerlerden oluşmaktadır. Bu grupta yer alan antibiyotikler, içerdikleri lakton halka sayısına göre sınıflandırılırlar: 14 üyeli (eritromisin), 15 üyeli (azitromisin), 16 üyeli (spiramisin) makrolidler. Bakteriyostatik etkilerini, bakterinin protein sentezini geri dönüşümlü olarak inhibe edererek gösterirler. Makrolid grubu antibiyotiklere direnç gelişiminde farklı mekanizmaların rolü vardır: 50S ribozomal altünitesindeki 23S ribozomal RNA'nın adenin metilasyonu, aktif atım pompaları (effluks) (24). Hedef bölgede değişikliğe yol açan mutasyon ile gerçekleşen dirençte *erm* genleri sorumlu iken, aktif atım pompalarının sebep olduğu dirençte ise *msrA/B* geni sorumludur. Mikroorganizmalar makrolidlerle (M) birlikte, linkozamitlere (L) ve streptograminlere (S_B) de dirençli hale geldiğinden bu direnç MLS_B direnci olarak adlandırılır. MLS_B direnci yapısal

(cMLS$_B$) veya indüklenebilir (iMLS$_B$) tipte olabilir (Resim 6a, b). Yapısal direnç, tüm MLS$_B$ antibiyotiklere karşı dirence neden olur ve standart duyarlılık testleri ile saptanabilir. İndüklenebilir dirençte ise, standart duyarlılık testleri kullanıldığında eritromisin gibi14 ve 15 üyeli makrolidlere karşı direnç saptanırken, 16 üyeli makrolidler, linkozamidler (klindamisin) ve streptogramin B'ye karşı duyarlılık söz konusudur. Ancak bu suşlar, klindamisine *in vitro* duyarlı gibi görünmesine rağmen, tedavi başarısızlığı görülebilir. Bu nedenle uluslararası kılavuzlarda (CLSI gibi) eritromisine dirençli, klindamisine hassas bulunan suşlarda, iMLS$_B$ direncinin aranması için çift disk testinin (D test) rutin olarak uygulanması önerilmektedir. Eritromisine dirençli, klindamisine hassas olan ve D testi negatif olarak bulunan izolatlar ise MS fenotipi olarak adlandırılırlar (Resim 6c). Bu izolatların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde klindamisin tercih edilebilir (1).



Resim 6: a: cMLS$_B$, b: iMLS$_B$, c: MS fenotipi. E: Eritromisin, K: Klindamisin.

2.6. *S. aureus* Enfeksiyonlarından Korunma ve Kontrol:

S.aureus'un rezervuarı insanlardır. Bu nedenle toplumda kontrol, kronik veya tekrarlayan taşıyıcılara yönelik olmalıdır. Bakteri, insandan insana, hava yoluyla ya da doğrudan temasla bulaşır. Hijyen koşullarına uyulması, deri temizliğine dikkat edilmesi, gıda üreticilerinin temizlik kurallarına uymaları korunmanın temelini oluşturmaktadır. Antibiyotiklere dirençli kökenleri burunlarında taşıdıkları bilinen personel, enfeksiyon riskinden dolayı, ameliyathanelerden ve bebek bakıcılığından uzaklaştırılmalıdırlar. Bununla beraber dirençli kökenlerle enfekte hastaların izolasyonu da, alınması gereken önlemler arasındadır. Aynı zamanda cerrahi aletlerin sterilizasyonuna özen gösterilmelidir (4).

3. GEREÇ VE YÖNTEM:

3.1 Gereçler:

3.1.1. Besiyerleri:

- % 5 Koyun Kanlı Agar (Biomérieux)
- Mueller Hinton Agar (Becton, Dickinson and Company)
- Katyonu Ayarlanmış Mueller Hinton Buyyon (Fluka)
- Beyin-Kalp İnfüzyon Buyyon (Becton, Dickinson and Company)
- Skim Milk (Oxoid)

3.1.2. Standart Kökenler:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: Disk diffüzyon testlerinde kalite kontrol kökeni,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213: Minimal inhibitör konsantrasyon testlerinde kalite kontrol kökeni,
- *Staphylococcus aureus ermA* geni taşıyan pozitif kontrol kökeni,
- *Staphylococcus aureus ermC* geni taşıyan pozitif kontrol kökeni,
- *Staphylococcus aureus msrA* geni taşıyan pozitif kontrol kökeni, antibiyotik duyarlılık testleri ve moleküler test çalışmalarında kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.1.3. Antibiyotikler:

3.1.3.1. Antibiyotik Diskleri:

- Sefoksitin disk 30 µg (Oxoid)
- Eritomisin disk 15 µg (Oxoid)
- Klindamisin disk 2 µg (Oxoid)

3.1.3.2. Antibiyotik Tozları:

- Eritomisin toz (Fluka)
- Klindamisin toz (Sigma, Eczacıbaşı Zentiva)

3.1.4. Kimyasal Maddeler:

- Gliserol (Sigma)
- Na_2CO3 (Merck)
- KOH (Merck)
- NaOH (Merck)
- HCl (Merck)
- NaCl (Merck)
- Sodium deoksikolat (Fluka)

3.1.5. PZR Malzemeleri:

- DNA ekstraksiyon Kiti (Qiagen DNA Minikit, Qiagen)
- 100 kb DNA Ladder (MBI Fermentas)
- Lambda DNA (MBI Frementas)
- 10x TBE Tampon (Tris, EDTA, Borik asit)
- 6 x Yükleme boyası (Loading Dye, MBI Fermentas)
- 2x PZR Master miks (MBI Fermentas)
- Enjeksiyonluk su (DNaz-RNaz içermeyen distile su) (MBI Fermentas)
- *ermA,ermC, msrA* primer çiftleri (IDT)
- 1,5ml, 0,5 ml ve 0,2 ml lik mikrotüpler (Axygen)
- Mavi, sarı, beyaz pipet uçları (DNaz, RNaz İçermeyen) (Grenier)
- Agaroz (Applichem)
- Etidyum bromid (Merck)
- Eldiven (Beybi)

3. 1.6. Hazırlanan Solusyonlar ve Besiyerleri

- ✓ **TBE Tampon (10X, Stok Solüsyon)**

121,10 gram Tris Base

61,83 gram Borik Asit

5.84 gram EDTA

Sodyum hidroksit tabletleri ile pH 8'e ayarlanmıştır. Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

- ✓ **Mueller Hinton Agar**

30 gr toz besiyeri, 1 litre distile su

121 °C 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır.

- ✓ **Katyonu Ayarlanmış Mueller Hinton Buyyon**

22 gram toz besiyeri, 1 litre distile su

121°C 10 dakika otoklavda sterilize edilerek hazırlanmıştır.

- ✓ **Skim Milk**

100 gram toz,1 litre distile su

121 °C 5 dakika otoklavda sterilize edilerek hazırlanmıştır.

- ✓ **Beyin-Kalp İnfüzyon Buyyon**

37 gram toz besiyeri, 1 litre distile su

121 °C 15 dakika otoklavda sterilize edilerek hazırlanmıştır.

3.2. Araçlar ve Aygıtlar:

- Tek kanallı otomatik pipetler (Pipetmen, İsotherm, Thermo)
- Sekiz kanallı otomatik pipet (Thermo)
- Petri kutuları, balonlar, pipetler, tüpler, sarı ve mavi pipet uçları, sporlar
- 96 kuyucuklu U tabanlı Plak (LP Itiliana)
- Etüv (Memert)
- Pasteur fırını (Memert)
- Otoklav (Hirayama)
- Buzdolabı (Arçelik)
- (- 20 ºC) Dondurucu (Uğur)
- (- 80 ºC) Dondurucu (iShin)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Kaba terazi (Scaltec)
- Vorteks (Yellowline, Ika)
- Su banyosu (Memert)
- Kurutma kagıtları
- Steril eküvyonlar
- Termal Döngü Cihazı (Techne, BIO-RAD)
- Elektoforez tankları ve cihazı (Biometra)
- pH metre cihazı (Hana Instruments)
- Mikrodalga fırın (Beko)
- UV görüntüleyici (Vilber Lourmant)
- Santrifüjler (Hettich)
- Model 111 Mini IEF Cell (BIO-RAD)
- Power Pac Universal Power Supply (BIO-RAD)

3.3. Yöntemler:

3.3.1. Bakteri Kökenlerinin Seçimi:

Çalışmada kullanılan bakteri kökenleri, Marmara Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran hastaların klinik örneklerinden soyutlanmış, laboratuarımızda -70 °C'de Skim Milk içinde saklanmakta olan izolatlardan seçilmiştir. Rutin laboratuvar işlemleri (CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi) ile eritromisine dirençli bulunan *Staphylococcus aureus* izolatları çalışmamıza dahil edilmiştir. İzolatlar, %5 koyun kanlı besiyerine ekilerek bir gece 37 °C'de inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler beta hemoliz oluşturma, koloni morfolojisi, gram boyama, katalaz ve koagülaz enzimi üretimi ile lateks aglütinasyon testi ile tür düzeyinde tanımlanıp, doğrulanmıştır. Metisilin direnc CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak saptanmıştır (26)

3.3. 2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri:

Kökenlerin, eritromisin ve klindamisin antibiyotiklerine duyarlılıkları, CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak saptanmıştır (Tablo 5). Bakterilerin 18 - 24 saatlik kültürlerinden Mueller Hinton sıvı besiyeri kullanılarak 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonları ($1.5x10^8$ kob/ml), Mueller Hinton agar yüzeyine steril eküvyonla yayılmıştır. Antibiyotik diskleri agar üzerine yerleştirilmiş ve 35°C'de 16 - 18 saat inkübe edilmiştir. Antibiyotik diskleri çevresinde oluşan inhibisyon zon genişliğine göre izolatlar, duyarlı, az duyarlı ve dirençli olarak gruplandırılmıştır. Tüm testlerde *S.aureus* ATCC 25923 kalite kontrol suşu kullanılmıştır (26).

Tablo 5: CLSI'nin *Staphylococcus spp.* için önerdiği disk diffüzyon değerlendirme kriterleri

Antibiyotik disk içeriği	Dirençli	Az duyarlı	Duyarlı
Eritromisin (15 µg)	≤ 13 mm	14 - 17 mm	≥ 18 mm
Klindamisin (2 µg)	≤ 14 mm	15 - 20 mm	≥ 21 mm

3.3. 3. MİK Değerlerinin Saptanması:

Kökenlerin eritromisin ve klindamisin antibiyotiklerine ait MİK değerleri, sıvı mikrodilüsyon tekniği ile saptanmış, değerler CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (Tablo 6) (25, 26).

Tablo 6: CLSI'nin *Staphylococcus spp.* için önerdiği MİK değerlendirme kriterleri

Antibiyotik	Dirençli	Az duyarlı	Duyarlı
Eritromisin	≥ 8 µg/mL	4 µg/mL	≤ 2 µg/mL
Klindamisin	≥ 1 µg/mL	0.5 µg/mL	≤ 0.25 µg/mL

3.3. 4. Antibiyotik Direncinin Fenotipik Karakterizasyonu:

Makrolid grubu antibiyotiklere direnç fenotipinin belirlenmesi için CLSI önerileri doğrultusunda D-Test yapılmıştır: 0,5 McFarland bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonları ($1.5x10^8$ kob/ml), Mueller Hinton Agara inoküle edilmiş ve agar üzerinde merkezden merkeze 15 - 20 mm arayla eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 35°C'de bir gece inkübe edilmiştir (26). Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlanıştır:

- Her iki antibiyotiğe birden dirençli bulunan izolatlar yapısal MLS_B fenotipi ($cMLS_B$) olarak (Resim 6a),
- Klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diskine bakan tarafında küntleşme (D zonu) görülen izolatlar indüklenebilir MLS_B fenotipi ($iMLS_B$) olarak (Resim 6b),
- Eritromisine dirençli, klindamisine hassas olan izolatlar ise MS fenotipi olarak (Resim 6c)

kabul edilmiştir.

3.3.5. Antibiyotik Direncinin Genotipik Karakterizasyonu:

Bu amaçla, izolatların DNA'sı elde edilmiş ve direnç genlerini saptamaya yönelik PZR yapılmıştır.

3.3.5.1. DNA İzolasyonu: Kökenler beyin-kalp infuzyon buyyonda, 37°C'de bir gecelik inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra, DNA izolasyon kiti (Qiagen DNA minikit, Qiagen, Almanya) üretici firma önerileri doğrultusunda kullanılarak kökenlerin DNA'ları elde edilmiştir.

3.3.5.2. Direnç genlerinin saptanması: İzolatlarda, makrolid grubu antibiyotiklere karşı dirençte sıklıkla rol alan *ermA*, *ermC*, *msrA*/B genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır. Kullanılan PZR karışımı, 2x PZR miks (örnek başına 25 µl), özgül primerler [*ermA* (421bp), *ermc* (472 bp), *msrA/B* (380 bp)] (her birinden örnek başına 2µl) ve hedef DNA içerecek ve toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. PZR reaksiyonu için kullanılan primerlerin dizilimleri Tablo 7'de gösterilmiştir. PZR işlemi, termal döngü cihazında, kullanılan primerlere uygun reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmiştir (Tablo 8).

Tablo 7: PZR'nda kullanılan özgül primerler

Gen	**Primer dizisi**	**bp (Ref.)**
***ermA* F**	5'-GTTCAAGAAC AATCAATACA GAG-3'	421 (27)
***ermA* R**	5'-GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC-3'	
***ermC* F**	5'-GCTAATATTGTTTAAATCGTCAATTCC-3'	472 (27)
***ermC* R**	5'-GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC-3'	
***msrA/B* F**	5'- GCAAATGGTGTAGGTAAGACAACT -3'	390 (28)
***msrA/B* R**	5'- ATCATGTGATGTAAACAAAAT -3'	

Tablo 8: PZR Reaksiyon koşulları

	ermA	***ermC***	***msrA/B***
Başlangıç Denatürasyonu	94°C 4 dk	94°C 4 dk	94 °C 5 dk
Denatürasyon*	94°C 30 sn	94°C 30 sn	94 °C 30 sn
Bağlanma*	52°C 1 dk	52°C 1 dk	54 °C 30 sn
Uzama*	72°C 1 dk	72°C 1 dk	72 °C 1 dk
Son Uzama	72°C 7 dk	72°C 7 dk	72 °C 5 dk

(*: termal döngü cihazında 30 döngü)

3.3.5.3. PZR ürünlerinin saptanması: PZR ürünleri, agaroz jel elektroforezi ile saptanmıştır. %1 konsantrasyonda hazırlanan agaroz jelde, 50 V akım altında, bir saat yürütülerek elde edilen bant profilleri, DNA belirteciyle (100 kb DNA Ladder, MBI Fermentas) karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

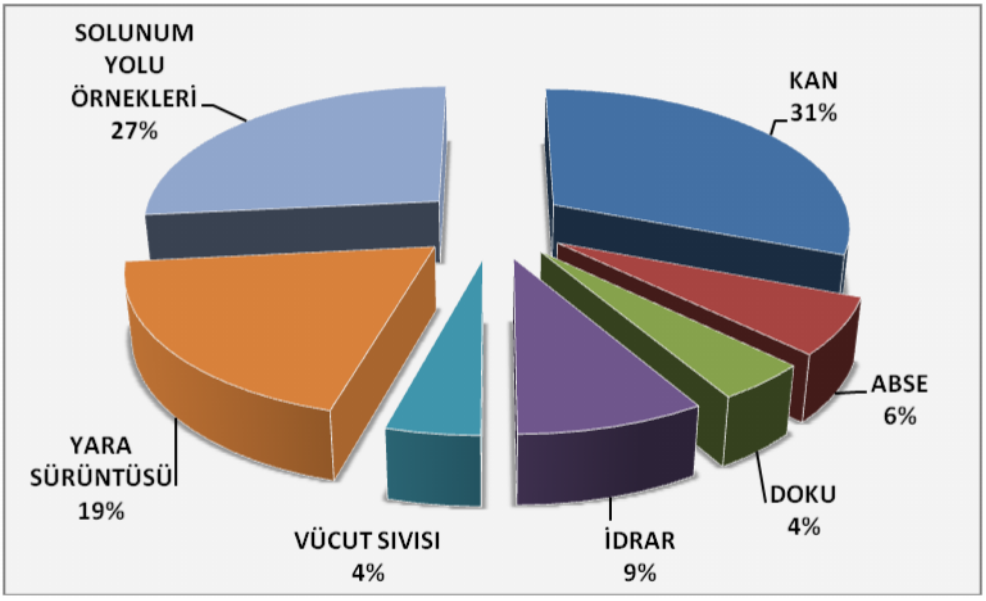
4. BULGULAR:

Ocak 2006 – Mayıs 2009 tarihleri arasında, Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda hastaların klinik örneklerinden soyutlanan, makrolid grubu antibiyotiklere dirençli 94 *Staphylococcus aureus* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Bu izolatların klinik örneklere göre dağılımı Tablo 9'da ve Şekil 5'te verilmiştir.

Tablo 9: Örnek Dağılımı:

ÖRNEK TÜRÜ	TOPLAM	MRSA	MSSA
KAN	**29**	23	6
ABSE	**6**	5	1
DOKU	**4**	2	2
İDRAR	**8**	3	5
VÜCUT SIVISI	**4**	1	3
YARA SÜRÜNTÜSÜ	**18**	6	12
SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİ	**25**	17	8
TOPLAM	**94**	**57**	**37**

Şekil 5: Örnek Dağılım Grafiği



4.1. Fenotipik Test Sonuçları:

Çalışmaya dahil edilen kökenlere, indüklenebilir klindamisin direncinin fenotipik olarak saptanması amacıyla, CLSI kriterlerine uygun olarak, D test yapılmıştır. Sonuçlar yine CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (25). Fenotipik test sonuçları Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10: Fenotipik Test Sonuçları

	iMLS$_B$	**cMLS$_B$**	**MS Fenotipi**	**TOPLAM**
MRSA	22 (% 38.6)	35 (% 61.4)	0	**57 (%100)**
MSSA	26 (% 70.3)	6 (% 16.2)	5 (% 13.5)	**37 (%100)**
S. aureus	**48 (% 51.1)**	**41 (% 43.6)**	**5 (% 5.3)**	**94 (%100)**

4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi Sonuçları:

Kökenlerimizin eritromisin ve klindamisin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanmıştır (25). Elde edilen değerler CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (26). Kökenlere ait eritromisin ve klindamisin MİK$_{50}$, MİK$_{90}$ değerleri ile MİK değerleri Tablo 11 ve 12'de gösterilmiştir.

Tablo 11: Kökenlerin eritromisin ve klindamisin için MİK$_{50}$ ve MİK$_{90}$ Değerleri

	ERİTROMİSİN		**KLİNDAMİSİN**	
	MİK$_{50}$	**MİK$_{90}$**	**MİK$_{50}$**	**MİK$_{90}$**
MRSA	>512 µg/ml	>512 µg/ml	512 µg/ml	>512 µg/ml
MSSA	>512 µg/ml	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	>512 µg/ml
Tüm İzolatlar	>512 µg/ml	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	>512 µg/ml

Tablo 12: Kökenlerin eritromisin ve klindamisin için MİK Değerleri

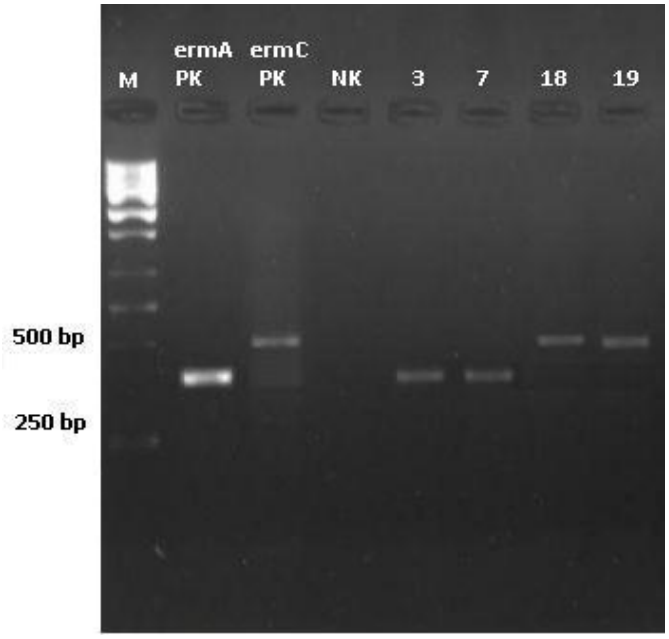
	ERİTROMİSİN			KLİNDAMİSİN		
	MRSA	**MSSA**	**TOPLAM**	**MRSA**	**MSSA**	**TOPLAM**
>512 µg/ml	55	30	85	7	4	11
512 µg/ml	1	-	1	25	2	27
256 µg/ml	1	1	2	3	-	3
128 µg/ml	-	1	1	-	-	-
64 µg/ml	-	1	1	-	-	-
32 µg/ml	-	-	-	-	-	-
16 µg/ml	-	4	4	-	-	-
8 µg/ml	-	-	-	-	-	-
4 µg/ml	-	-	-	-	-	-
2 µg/ml	-	-	-	-	-	-
1 µg/ml	-	-	-	-	-	-
0,5 µg/ml	-	-	-	-	-	-
0,25 µg/ml	-	-	-	5	12	17
0,12 µg/ml	-	-	-	15	18	33
0,06 µg/ml	-	-	-	2	1	3
0,03 µg/ml	-	-	-	-	-	-

4.3. Genotipik Test Sonuçları:

Çalışma kökenlerindeki *ermA*, *ermC*, *msrA/B* genlerinin PZR ile çoğaltılması sonucu elde edilen bant profilleri Resim 7 ve Resim 8'de gösterilmiştir. Aranılan genlerin bulunma oranları Tablo 13'te gösterilmiştir.

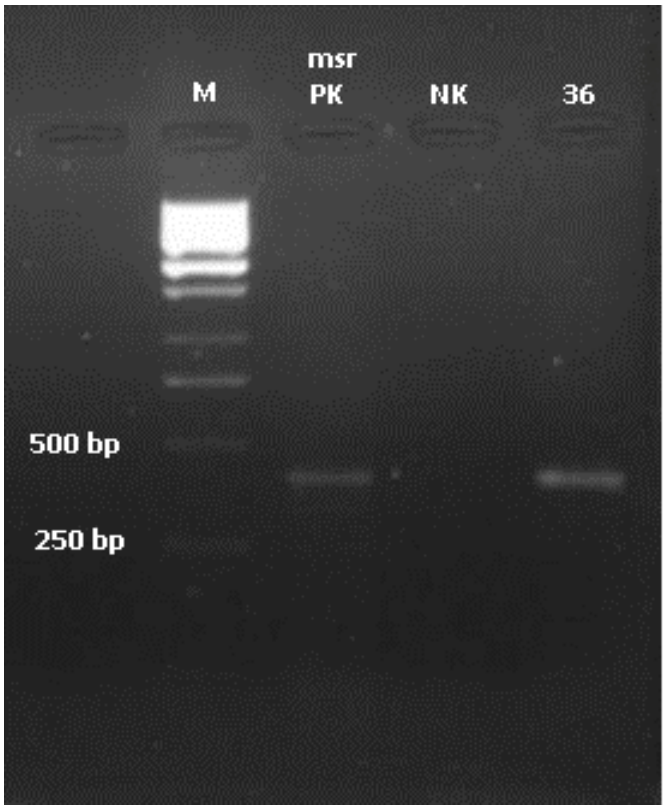
Tablo 13: Kökenlerde *ermA*, *ermC*, *msrA/B* genlerinin varlığı

	TOPLAM	MRSA	MSSA
ermA	**17**	6	11
ermC	**23**	18	5
ermA+ermC	**16**	16	0
msrA/B	**0**	0	0
ermA+msrA/B	**1**	0	1
ermC+msrA/B	**0**	0	0
ermA+ermC+msrA/B	**0**	0	0
test edilen genlerden saptanamayan	**37**	17	20



Resim 7: M: DNA Marker; PK: Pozitif Kontrol; NK: Negatif Kontrol;

3, 7, 18, 19: hasta kökenleri



Resim 8: M: DNA Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol, 36: hasta kökeni.

Staphylococcus aureus kökenlerinin fenotipik ve genotipik test sonuçları bir arada Tablo 14 ve Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 14: Tüm kökenlerin fenotipik test sonuçları, MİK değerleri ve PZR bulguları

	D TEST	**Fenotip**	**ERİTROMİSİN MİK**	**KLİNDAMİSİN MİK**	***erm A***	***erm C***	***msrA/B***
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	256 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	256 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	256 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	512 µg/ml	512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	-	-
MRSA	N	$cMLS_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,06 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-

MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	256 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,06 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MRSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	*erm A*	-	*msrA/B*
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	512 µg/ml	-	*erm C*	-
MSSA	N	cMLS$_B$	>512 µg/ml	>512 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	*erm A*	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MSSA	P	iMLS$_B$	16 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	*erm C*	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	*erm C*	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	128 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	iMLS$_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-

MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	P	$iMLS_B$	>512 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	**EFLUKS**	16 µg/ml	0,06 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	**EFLUKS**	16 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	**EFLUKS**	16 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	**EFLUKS**	64 µg/ml	0,25 µg/ml	-	-	-
MSSA	N	**EFLUKS**	16 µg/ml	0,12 µg/ml	-	-	-

P: Pozitif, N: Negatif

Tablo 15: Kökenlerin makrolid direnç fenotipi, makrolid direnç genleri ve minimal inhibitör konsantrasyonlarına ait veriler.

	Direnç Fenotipi	İzolat Sayısı (%)	Antibiyotik	MİK (µg/ml)			Gen İçeren İzolat Sayısı			
				Aralık	MİK50	MİK90	*ermA*	*ermC*	*ermA &ermC*	*ermA &msrA/B*
TOPLAM (n: 94)	**cMLSB**	**41** (% 43.6)	**Eritromisin**	512 - > 512	> 512	> 512	**3**	**11**	**16**	**1**
			Klindamisin	256 - > 512	512	> 512				
	iMLSB	**48** (% 51.1)	**Eritromisin**	16 - > 512	> 512	> 512	**14**	**12**	-	-
			Klindamisin	0,06 - 0,25	0,12	0,25				
	MS	**5** (% 5.3)	**Eritromisin**	16 - 64	16	16	-	-	-	-
			Klindamisin	0,06 - 0,25	0,12	0,12				
MRSA (n: 57)	**cMLSB**	**35** (% 61.4)	**Eritromisin**	512 - > 512	> 512	> 512	-	**10**	**16**	-
			Klindamisin	256 - > 512	512	> 512				
	iMLSB	**22** (% 38.6)	**Eritromisin**	256 - > 512	> 512	> 512	**6**	**8**	-	-
			Klindamisin	0,06 - 0,25	0,12	0,25				
	MS	-	**Eritromisin**	-	-	-	-	-	-	-
			Klindamisin	-	-	-				
MSSA (n: 37)	**cMLSB**	**6** (% 16.2)	**Eritromisin**	> 512	> 512	> 512	**3**	**1**		**1**
			Klindamisin	512 - > 512	> 512	> 512				
	iMLSB	**26** (% 70.3)	**Eritromisin**	16 - > 512	> 512	> 512	**8**	**4**	-	-
			Klindamisin	0,12 - 0,25	0,12	0,25				
	MS	**5** (% 13.5)	**Eritromisin**	16 - 64	16	16	-	-	-	-
			Klindamisin	0,06 - 0,25	0,12	0,12				

5. TARTIŞMA VE SONUÇ:

Staphylococcus aureus, gerek oluşturduğu klinik tablolar gerekse her geçen gün sayıları hızla artan çoklu ilaç direnci ile insan sağlığı açısından ciddi bir tehdit haline gelmiştir. Doğada yaygın olarak bulunduğu gibi insanların deri, burun ve üst solunum yollarında da kolonize olabilen bir bakteridir. Hem toplum kaynaklı ve hem de hastane kaynaklı, çok farklı tablolarla seyreden enfeksiyonlara sebep olur. İnsanda ve hayvanlarda enfeksiyon etkeni olarak en sık olarak soyutlanan mikroorganizmalardan birisidir.

1944 yılında stafilokoklarda penisilinaz yapımıyla başlayan direnç sorunu, bugün, bu bakteriyi çoklu antibiyotik direnci gösteren, tedavileri zor olan "sorunlu" mikroorganizmalar konumuna taşımıştır (6).

Günümüzde, stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde, alternatif tedavi protokollerinin kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Makrolidler, düşük yan etkiye sahip olmaları, geniş spektrumları, yüksek doku ve serum düzeyine ulaşmaları ile stafilokok enfeksiyonlarında alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılan antibiyotiklerin başında yer almaktadır. Ancak 1980'lerden bu yana makrolidlerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, makrolid dirençli stafilokokların tüm dünyada hızla artmasına sebep olmuştur. MLS_B grubu antibiyotikler içinde yer alan klindamisin, tolerabilitesi, maliyeti, oral yoldan kullanım avantajı ve yüksek doku konsantrasyonu nedeniyle, MRSA ve MSSA kaynaklı deri ve yumuşak doku ile kemik enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, indüklenebilir klindamisin direnci ile ilişkili tedavi başarısızlıkları da bildirilmiştir (29).

Stafilokoklarda, makrolid yapıda ilaçların da yer aldığı MLS_B grubu (Makrolid – Linkozamid – Streptogramin B) antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde iki ana mekanizma rol alır (27).

İlk mekanizma, ilacın hedef bölgesinde değişiklik ile ortaya çıkar ve çoğunlukla *ermA* ve *ermC* genlerince kodlanır. Bu kökenler 14-, 15-, 16- üyeli makrolidler ile

linkozamid ve streptogramin B grubu antibiyotiklere dirençlidirler ve MLS_B fenotipi olarak adlandırılırlar.

MLS_B fenotipi gösteren kökenlerde bu direnç, yapısal ($cMLS_B$) ya da indüklenebilir ($iMLS_B$) karakterdedir. $iMLS_B$ direnç fenotipine sahip olan kökenler, standart antibiyotik duyarlılık testleriyle saptanamazlar; bu fenotipte yer alan kökenlerin neden olduğu infeksiyonlarda klindamisin bazlı tedavi rejimleri başarısız olur. Eritromisine dirençli olan tüm kökenlerin aynı zamanda klindamisine dirençli kabul edilmesi ve bu yönde rapor edilmesi ise daha pahalı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı ve direnç gelişimi sorununu ortaya çıkaracaktır. Bu nedenle, CLSI, 2005 yılından itibaren, $iMLS_B$ fenotipininin saptanmasını rutin test olarak önermektedir (30).

Dünyanın birçok ülkesinde, stafilokoklardaki MLS_B direncinin prevalansını ve fenotipini saptamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. MLS_B direncinin prevalansı, coğrafik olarak, farklı hasta gruplarında ve farklı klinik örneklerden soyutlanan izolatlar arasına farklılık göstermektedir (31 - 33).

Özellikle son 15 yılda, dünyada ve ülkemizde ciddi bir problem haline gelen makrolid direncinin fenotip ve genotipine dair veriler, bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılacak tedavi yaklaşımlarının düzenlemesinde kritik bir öneme sahiptir.

Çalışmamızda, 94 *Staphylococcus aureus* kökeninin (57 MRSA, 37 MSSA) %51.1'inde $iMLS_B$ fenotipi, % 43.6'sında $cMLS_B$ fenotipi, % 5.3'ünde MS fenotipi belirlenmiştir.

Metisilin direnci ile MLS_B direncinin ilişkisi irdelendiğinde ise, MRSA izolatlarında yapısal MLS_B direnç fenotipi baskın iken (% 61.4, n=35), metisiline hassas kökenlerde indüklenebilir MLS_B direnç fenotipi (% 70.3, n=26) ön planda olduğu görülmektedir. MRSA kökenlerimizde saptadığımız $cMLS_B$ fenotipi oranı (% 61.4) ülkemizden bildirilen diğer çalışmalarda bulunan oranlarla genel olarak benzerdir (34 - 37).

Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılmış benzer çalışmaların verileri ve bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

	$cMLS_B$ Fenotipi	$iMLS_B$ Fenotipi	MS Fenotipi
Çalışmamızda * (n: 57 MRSA, 37 MSSA)	% 61.4 MRSA % 16.2 MSSA	% 38.6 MRSA % 70.3 MSSA	- % 13.5
Delioğlu ve ark. (n: 230)	% 24.3	% 7.8	-
Azap ve ark. (n: 105 MRSA, 111 MSSA)		% 5.7 MRSA % 3.6 MSSA	0 MRSA % 3.6 MSSA
Sarıbaş ve ark. * (n: 122)	% 47.5		
Yılmaz ve ark. (n: 883)	% 44.2 MRSA % 4.5 MSSA	% 24.4 MRSA % 14.8 MSSA	
Gül ve ark (n: 225 MRSA)	% 49.3	% 39.1	% 11.5
Aktaş ve ark. * (n: 22 MRSA, 2 MSSA)	% 63.6 MRSA 0 MSSA	% 18.2 MRSA % 50 MSSA	0 MRSA % 50 MSSA
Schmitz ve ark. (n: 493 MRSA, 358 MSSA)	% 93 MRSA	% 56 MSSA	-
Schreckenberger ve ark. (n: 452 MRSA, 788 MSSA)		% 9.7 MRSA % 19.4 MSSA	
Ciraj ve ark. (n: 244)		% 13.1	
Otsuka ve ark. (n: 269 MRSA, 434 MSSA)	% 61.3 MRSA % 1.3 MSSA	% 38.7 MRSA % 94 MSSA	

*: Çalışmaya dahil edilen tüm kökenler eritromisine dirençlidir.

Delialioğlu ve ark. yayınladıkları çalışmada, 230 *S.aureus* ve 291 KNS izolatını taramışlardır. Hem *S. aureus* hem de KNS kökenlerinde $cMLS_B$ tipi direncin, indüklenebilir dirençten yüksek oranda olduğu saptanmıştır. *S. aureus* kökenlerinin, % 24.3'ü yapısal tip direnç gösterirken, % 7.8'inde ise indüklenebilir fenotip

belirlenmiştir. Hiçbir kökende MS fenotipi bulunmamıştır. Araştırıcılar, KNS kökenlerinde, cMLS$_B$ fenotipini % 40.2, iMLS$_B$ fenotipini % 14.7, MS fenotipini ise % 18.2 oranında saptamışlardır (34).

Azap ve ark. araştırmasında toplam 408 stafilokok izolatında (105 MRSA, 111 MSSA, 192 KNS) indüklenebilir klindamisin direnci D test ile çalışılmıştır. iMLS$_B$ fenotipi MRSA izolatlarında % 5.7, MSSA izolatlarında % 3.6 oranında saptanmıştır (38).

Bizim çalışmamıza benzer şekilde, Sarıbaş ve ark. yaptıkları, makrolid dirençli klinik *S.aureus* kökenlerinde MLS direncini araştıran 2006 tarihli çalışmada, bizim bulgularımızdan farklı olarak, cMLS$_B$ ve iMLS$_B$ tip direnç profilleri, MRSA kökenlerinde, MSSA izolatlarından daha yüksek oranda (sırasıyla 27/44 izolat ve 77/78 izolat) saptanmıştır (35).

Ülkemizde, Yılmaz ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada, cMLS$_B$ fenotipi MRSA kökenlerinde, % 44.2, MSSA kökenlerinde % 4.5 oranında gözlenmiştir. Buna karşın iMLS$_B$ fenotipi, bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçlara benzer olarak, MRSA kökenlerinde % 24.4, MSSA kökenlerinde %14.8 düzeyindedir. Araştırıcılar aktif atım pompasına bağlı saptanan MS fenotipini ise, MRSA kökenlerinde % 5.2, MSSA kökenlerinde %3.6 oranında belirlemişlerdir (36).

Gül ve ark., yaptıkları çalışmada, 2003-2006 yılları arasında hastanede yatan ve polikliniğe başvuran hastalardan izole edilen toplam 256 MRSA kökeninde MLS$_B$ direncini araştırmışlardır. 225 eritromisin dirençli MRSA izolatında, cMLS$_B$ fenotipi % 49.3, iMLS$_B$ fenotipi % 39.1, MS fenotipi ise % 11.5 oranında saptanmıştır (37).

Bu konuda dünyanın diğer ülkelerinde yapılan güncel çalışmalar arasında, Schmitz ve ark.yayımladıkları 2000 tarihli makalede, 24 Avrupa hastanesinden toplanan 851 *S.aureus* kökeninde (493 MRSA, 358 MSSA) iMLS$_B$ ve cMLS$_B$ fenotipleri araştırılmış ve bu kökenlerde direnç genleri incelenmiştir. MRSA izolatlarında cMLS$_B$ fenotipi baskın (% 93), MSSA izolatlarında ise iMLS$_B$ fenotipi yaygın olarak (% 56) saptanmıştır (32).

A.B.D'de, Schreckenberger ve ark. gerçekleştirdikleri diğer bir geniş ölçekli çalışmada, biri şehirde diğeri kırsal bölgede yer alan iki ayrı hastaneden toplanan 452 MRSA, 788 MSSA ve 310 KNS izolatında MLS_B direnç fenotipleri D-test ile araştırılmıştır. $iMLS_B$ fenotipi, MRSA kökenlerinde % 9.7, MSSA kökenlerinde ise % 19.4 oranında saptanmıştır (31).

Ciraj ve ark. Hindistan'dan bildirdikleri çalışmada, toplam 244 stafilokok izolatında, $iMLS_B$ direnç fenotipi % 13.1 olarak saptanırken, MRSA kökenlerinde bu tip direncin % 38.4, MSSA kökenlerinde ise % 12.9 oranında gözlemlendiği belirtilmiştir.

2007 yılında Japonya'da Otsuka ve ark. yaptıkları çalışmaya, 269 MRSA ile 434 MSSA izolatı dahil edilmiştir. $cMLS_B$ tipi direnç MRSA kökenlerinin % 61.3'ünde saptanırken, MSSA kökenlerinde bu oran % 1.3 olarak belirlenmiştir. Araştırıcılar, $iMLS_B$ fenotipini MSSA izolatlarında, MRSA kökenlerinden çok daha yaygın bulduklarını ifade etmişlerdir (% 94'e karşılık % 38.7) (33).

MLS_B direncinde rol oynayan ikinci temel mekanizma ise, antibiyotiğin hücre dışına aktif olarak pompalanması sonucu gelişmektedir. Bu mekanizma, *msrA* ya da *msrB* genlerince kodlanır ve sadece 14- ve 15- üyeli makrolid grubu ilaçlara karşı direnç ile karakterize MS fenotipi olarak tanımlanmıştır. MS fenotipi gösteren kökenlerde MİK değerleri, yapısal ve indüklenebilir MLS_B direnç fenotipine sahip olan kökenlerden daha düşüktür.

MRSA kökenlerimizin hiçbirisinde aktif atım pompasının rol oynadığı MS fenotipi saptanmamıştır. Beş MSSA kökeni (% 13.5) ise fenotipik test sonucuna göre MS fenotipinde yer almıştır. Bu kökenlerin eritromisin ve klindamisin MİK değerleri, sırasıyla, 16 - 64 µg/ml ve 0.06 – 0.25 µg/ml aralığında bulunmuştur.

Benzer sonuçlar, Delialioğlu ve ark. tarafından da bildirilmiştir. Araştırdıkları kökenlerin hiçbirinde MS fenotipi saptanmamıştır (34). Azap ve ark. ise, bizim bulgularımıza paralel şekilde, atım pompası düşündüren fenotipik test sonuçlarını MRSA izolatlarında gözlemlemezken, MSSA izolatlarında %3.6 oranında saptamışlardır (38).

Türkiye'de yapılan diğer iki çalışmada ise MS fenotipi, *S.aureus* izolatlarının % 11.5 (sadece MRSA kökenleri) ve % 20.8'inde belirlenmiştir (37, 40).

S.aureus izolatlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B direnci (MLS_B) eritromisin ribozom metilasyon (*erm*) genleri tarafından kodlanmaktadır ve hem yapısal hem de indüklenebilir özellikte olabilir. Dirence neden olan diğer mekanizmalar arasında, *msrA/B* tarafından kodlanan aktif atım pompası, ilacın enzimatik yıkımından sorumlu *ereA/B* genleri de tanımlanmıştır. Bu nedenle, MLS_B direncine neden olan genetik temelin belirlenmesi, klinik ve epidemiyolojik olarak önemlidir (33).

Makrolidlere karşı oluşan direncin genetik temelini araştıran çalışma sayısı ülkemizde çok azdır. Bu çalışmalarda da, bizim araştırmamızda olduğu gibi bir yaklaşımla, stafilokoklarda görülen makrolid direncinden sıklıkla sorumlu olan genler taranmıştır. Bu konudaki literatür incelendiğinde, Ardıç ve ark. yaptıkları 2005 tarihli ilk çalışmada, metisiline dirençli *S.aureus* izolatlarında eritromisin ve tetrasiklin direncinden sorumlu genler araştırılmıştır. Toplam 56 metisilin dirençli stafilokok izolatında (28 MRSA, 28 MR-KNS) eritromisin direncinden sorumlu *ermA* ve *ermC* genleri multipleks PZR ile taranmıştır. *ermA* geni çoğunlukla MRSA izolatlarında saptanırken (izolatların % 71.4'ünde pozitif), *ermC* hem MRSA hem de MR-KNS izolatlarında aynı oranda (% 64.3) saptanmıştır. *S.aureus* izolatlarının %50'sinde her iki gen pozitif olarak belirlenmiştir (41).

Sarıbaş ve ark., Ankara'da bir üniversite hastanesinde gerçekleştirdikleri çalışmada, makrolid dirençli toplam 122 *S.aureus* izolatında (104 MRSA, 18 MSSA) fenotipik incelemelerin yanı sıra *ermA*, *ermB* ve *ermC* genlerinin varlığı araştırılmıştır. 78 izolatta *ermA* ve *ermB* genlerini bir arada saptanmış, *ermB* geni ise diğer iki genle beraber tek bir MRSA izolatında saptanmıştır. Fenotipik profil ile birlikte değerlendirildiğinde, $cMLS_B$ fenotipine sahip izolatlarda genellikle *ermA* ve *ermC* genleri bir arada (58/78 izolat) bulunmuştur. Sekiz MRSA izolatında ise hiçbir *erm* geni saptanamamıştır (35).

Aktaş ve ark. 2007 tarihinde yayınlanan çalışmasında, toplam 102 eritromisin dirençli stafilokok izolatında (24 *S.aureus*, 78 KNS) *ermA*, *ermB*, *ermC* ve *msrA*

genlerinin varlığı PZR ile taranmıştır. İzolatlarda *ermA*, *ermB* ve *ermC* genlerinin bulunma sıklığı sırasıyla % 50, % 8.3 ve % 62.5 olarak belirlemiştir. Kökenlerin % 37.5'inde *ermA* ve *ermC* genleri bir arada bulunmuştur. Fenotipik olarak toplam 5 izolatta MS fenotipi saptanmış olmasına rağmen sadece 3 izolatta *msrA* geni (% 12.5) belirlenmiştir (40).

Bu konuda ülkemizde yapılan en güncel çalışma, Gül ve ark.tarafından 2008 yılında yayımlanmıştır. Toplam 225 eritromisin dirençli MRSA kökeninde *ermA*, *ermC*, *msrA* genlerinin varlığı saptanmıştır. İzolatların % 37.7'si *ermA*, % 26.6'sı *ermC*, %18.6'sı *ermA* ve *ermC* pozitif bulunurken, 42 kökende (% 18.6) tek başına veya diğer genlerle birlikte *msrA* geni belirlenmiştir (37).

Dünyada bu konuda yapılan güncel çalışmalara bakıldığında, Schmitz ve ark. çalışmasında, MRSA kökenlerinde *ermA* (% 85.8), MSSA izolatlarında ise *ermC* (% 43) yaygındır. 12 MRSA ve 14 MSSA izolatında *ermA* ve *ermC* genleri bir arada belirlenmiş, buna karşın hiçbir MRSA kökeninde *msrA/B* geni saptanmamıştır. MSSA kökenlerinin % 13.4'ü, *msrA/B* geni açısından pozitif bulunmuştur. Tam tersine, hiçbir MSSA kökeninde *ereB* geni saptanmazken, 5 MRSA izolatı (% 1.1) bu geni taşımaktadır (32).

Japonya'da yapılan bir çalışmada, $cMLS_B$ olarak saptanan izolatlarda *ermA* geni yaygın (MRSA kökenlerinin % 61.3'ü, MSSA kökenlerinin % 1.3'ü pozitif) belirlenmiş, buna karşın, $iMLS_B$ fenotipinde yer alan izolatlarda *ermC* geni hakimiyeti (MRSA kökenlerinin % 38.7'i, MSSA kökenlerinin % 94'ü pozitif) görülmüştür. Araştırıcılar, 7 MSSA ve 1 MRSA kökeninde *msrA/B* genlerini pozitif bulurken, hiçbir izolatta *ereA/B* genlerini saptamamışlardır (33).

Gherard ve ark., İtalya'da yaptıkları çalışmada, makrolid dirençli 100 *S.aureus* ve KNS izolatını, direncin genetik temeli açısından taramışlardır. $iMLS_B$ fenotipi sergileyen eritromisin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında *ermC*, $cMLS_B$ fenotipi gösteren izolatlarda ise *ermA* baskın gen olarak bulunmuştur. *msrA* geni ise sadece 2 *S.aureus* izolatında pozitiftir (42).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 57 MRSA izolatından 6 tanesi tek başına *ermA*, 18 tanesi tek başına *ermC* taşırken, 16 izolatta her iki gen bir arada saptanmıştır. Sadece

ermA geni taşıyan tüm izolatlar fenotipik olarak iMLS$_B$ fenotipi sergilerken, *ermA* ve *ermC* genlerini bir arada taşıyan izolatlarımızın tümünün cMLS$_B$ fenotipinde olması dikkat çekicidir. Tek başına *ermC* saptanan 18 izolat ise fenotipik olarak iki gruba dağılmıştır (10 izolat cMLS$_B$ ve 8 izolat iMLS$_B$ fenotipi).

MRSA kökenlerinin aksine, 37 MSSA izolatımızın hiçbirisinde *ermA* ve *ermC* birlikteliği saptanmamıştır. Bu kökenlerin çoğunluğunda *ermA* geni yaygındır (11/37, % 29.8).

Sadece tek bir MSSA izolatında, *msrA/B* geni *ermA* ile birlikte pozitif saptanmıştır. Bu izolat, fenotipik testlerde cMLS$_B$ fenotipi sergilemektedir. Tersine, fenotipik testlerimizde aktif atım pompası varlığını işaret eden MS fenotipi saptanan 5 MSSA izolatının hiçbirisinde araştırdığımız direnç genleri saptanmamıştır.

Çalışmamızda, 37 *S.aureus* izolatı (% 39, 17 MRSA ve 20 MSSA kökeni) fenotipik olarak dirençli saptanmasına rağmen, bu izolatlarda sorgulanan direnç genlerinden hiçbirisi belirlenememiştir. Bu izolatlarda araştırılan genlerin dışında makrolid direncine neden olabilecek *ereA/B, vat* gibi diğer bir genin (veya genlerin) bulunması olasıdır.

Benzer sonuçlar bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da bildirilmiştir: Schmitz ve ark. çalışmasında, dirençli *S.aureus* kökenlerinde *ermA, ermB, ermC, msrA/B, ereB* genleri PZR ile incelenmiştir. Araştırmaya dahil edilen MRSA izolatlarının %7.9'unda ve MSSA izolatlarının % 4.7'sinde direnci kodlayan genler saptanamamıştır (37). Ülkemizde, Sarıbaş ve ark. yaptıkları çalışmada da, taranan *S.aureus* kökenlerinin (n=122) % 6.5'inde moleküler testlerle araştırılan *erm* genleri bulunamamıştır (35).

Bu çalışma, klinik örneklerden soyutlanan ve rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle eritromisin dirençli olduğu saptanan 94 *S.aureus* izolatında makrolid direncinin (MLS$_B$ direnci) fenotipik ve genotipik profilini ortaya koymaktadır.

Tüm *S.aureus* izolatları dikkate alındığında, indüklenebilir tip MLS$_B$ direncinin (iMLS$_B$) daha yaygın olduğu (% 51.1) saptanmıştır. Bu durum, ülkemiz açısından

önemli bir sorun teşkil eden bu bakteriyle gelişen enfeksiyonların tedavisinde, antibiyotik seçimi yapılırken dikkate alınması gereken bir noktadır.

Fenotipik test olarak kullandığımız eritromisin-klindamisin çift disk difuzyon testi basit, uygulaması kolay ve kökenlerin MİK sonuçları ile uyumlu olması bakımından önerilen bir yöntemdir.

Çalışmaya alınan izolatlarda direncin genetik temelini araştırdığımızda bakteri kökenlerinin % 60.6'sında araştırılan *ermA*, *ermC* ve *msrA/B* direnç genlerinden en az bir tanesi pozitif saptanmıştır. Bunlar arasında *ermC*'nin dirençten sorumlu en yaygın gen olduğu (39/94, % 41.5) gözlenmiştir. MLS_B direncinde rol alan diğer mekanizma olan aktif atım pompasını kodlayan *msrA/B* genleri ise sadece tek bir kökende belirlenmiştir.

Toplam 37 izolatta (17 MRSA, 20 MSSA), fenotipik olarak saptanan dirence karşın, araştırılan direnç genleri belirlenememiştir. Bu durum, bu kökenlerde, MLS_B direncinden sorumlu olabilen diğer genlerin (*ermB, ereA/B, vat*) varlığını akla getirmektedir. Bu kökenlerde yapılacak ileri araştırmalar, saptanan direncin genetik temelini ortaya koymak açısından yararlı olacaktır.

6. KAYNAKLAR:

1. Dündar V, Öztürk Dündar D. (2008). Satfilokoklar. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt.2. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. 3. Baskı İstanbul Nobel Kitabevi: 2065 – 2077.

2. Leloğlu N (1999). Staphylococcus ve Staphylococcus İnfeksiyonları. Özel Mikrobiyoloji. Ed: Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Minbay A, Kahraman M, İzgur M, Akay Ö, Diker S, Leloğlu N. Medisan Yayınevi: 39 - 45.

3. Bremer PJ, Fletcher GC, Osborne C, (2004). *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited Private Bag 4704, Christchurch, New Zealand.

4. Cengiz AT. (1999). *Staphylococcus aureus*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, l. Baskı Ustaçelebi S. Güneş Kitabevi, Ankara: 339 - 349.

5. Bilgehan H. (2000). *Staphylococcus*. Klinik Mikrobiyoloji. 10. Baskı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir: 240 - 266.

6. Kutlu SB. (2006). Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Metisilin Direnci ve E -Test İle Vankomisin MİK Değerlerinin Araştırılması. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Dr. Ö Nazlıcan).

7. Hasbek M, Hakgüdener Y, Kaya S, Bakıcı MZ. (2002). Stafilokok Suşlarında Metisilin Direncinin Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi Ve Metisilin Dirençli Stafilokoklarda Çoğul Antibiyotik Direncinin İncelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 24 (4): 179 - 184.

8. Lowell GS, Daum RS. (2005). *Staphylococcus aureus*. Ed: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier Churchill Livingstone, New York: 2392 – 2411.

9. Hook M, Foster TJ. (2000). Staphylococcal Surface Proteins, Gram Positive Pathogens. Ed: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI. ASM Press, Washington, D.C.: 386 - 389

10. Berkiten R. (2005). Staphylococcus. Tıbbi Mikrobiyoloji. Ed: Bozkaya E. Nobel TıpKitabevleri, 2005: 3 - 11

11. Lowy FD, (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. The New England Journal of Medicine 339 (8): 520 - 532

12. Güleroğlu S. (2001). Metisiline Dirençli Stafilokoklarda Vankomisin, Teikoplanin ve Fusidik Asit Direncinin Mikrodilüsyon Yöntemi ile Araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

13. Bağlan P. (2003). Bakteri ve Yapısı. Güncel Gastroenteroloji, Ankara Üniversitesi Hematoloji Enstitüsü: 226 - 232

14. Arda M, (1997). Bakterilerin Patojenik Karakterleri. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi. Ankara: 225 - 232.

15.Tanıdır B. (2008). Kan Kültürlerinden İzole Edilen ve Slime Üretimi Pozitif Olan *Staphylococcus aureus* Kökenlerinde MIC ve MBEC Yöntemleriyle Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması. MÜ Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. KF Babacan).

16. Çalık Z, (1998). Koagülaz Olumlu Ve Olumsuz Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci ve Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıkları. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

17. Türk İnfeksiyon Web Sitesi. Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları.

18. Kloos WE, Bannerman TL. (1999). Staphylococcus and Micrococcus. Ed: Murray PR. Manual of Clinical Microbiology. ASM press, WashingtonDC: 264 - 277

19. Gülhane Hastane Enfeksiyonları Kontrol Komitesi. Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*. Korunma ve Kontrol.

20. Centers for Disease Control and Prevention. (2002). *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin. United States. Morbidity and Mortality Weekly Report, 51 (26): 565 - 567.

21. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Web Sitesi. Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Kontrol Birimi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. Klinik Örneklerden *Staphylococcus aureus* Tanımlaması ve Metisilin Direncinin Belirlenmesi İçin Laboratuvar Standart Uygulama Prosedürleri. Klinik Örneklerden Staphylococcus aureus İdantifikasyonu.

22. Costa AM, Kay I, Palladino S. (2005) Rapid Detection of *mecA* and *nuc* Genes in Staphylococci by Real-Time Multiplex Polymerase Chain Reaction. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; 51 (1): 13 - 17.

23. Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. (2006). Roles of 34 Virulence Genes in the Evolution of Hospital- and Community-Associated Strains of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Infectious Diseases; 193 (11): 1495 - 1503.

24. Aydın K. (2007). Makrolidler ve Linkozamidler. ANKEM Dergisi 21(Ek 2): 57 - 61.

25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests For Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, (2006). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Sixteenth Informational Supplement. (2008). Wayne, PA.

27. Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. (1999). Distribution of Genes Encoding Resistance to Macrolides, Lincosamides and

Streptogramins Among Staphylococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 1062 – 1066.

28. Sutcliffe J, Thorsten G, Amelia TK, Lillian W. (1996). Detection of Erythromycin-Resistant Determinants by PZR. Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 2562 – 2566.

29. Levin TP, Suh B, Axelrod P, Truant AL, Fekete T. (2005). Potential Clindamycin Resistance in Clindamycin - Susceptible, Erythromycin - Resistant *Staphylococcus aureus*: Report of a Clinical Failure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 1222 - 1224.

30. Park JY, Jin JS, Kang HY, Jeong EH, Lee JC, Lee YC, Seol SY, Cho DT, Kim J. (2007). A Comparison of Adult and Pediatric Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Collected From Patients at a University Hospital in Korea. Journal of Microbiology. 45 (5): 447 - 52.

31. Schreckenberger PC, Ilendo E, Ristow KL. (2004). Incidence of Constitutive and Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase - Negative Staphylococci in a Community and a Tertiary Care Hospital. Journal of Clinical Microbiology; 42: 2777 - 2779.

32. Schmitz FJ, Sadurski R, Kray A. (2000). Prevalence of Macrolide - Resistance Genes in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* Isolates from 24 European University Hospitals. Journal of Antimicrobial Chemotherapy; 45: 891 - 4.

33. Otsuka T, Zaraket H, Takano T, Saito K, Dohmae S, Higuchi W, Yamamoto T. (2007). Macrolide – Lincosamide - Streptogramin B Resistance Phenotypes and Genotypes Among *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Japan. Clinical Microbiology and Infection;13 (3): 325 - 327.

34. Delialioğlu N, Aslan G, Öztürk C, Baki V, Sen S, Emekdaş G. (2005). Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococci Isolated From Clinical Samples. Japanese Journal of Infectious Diseases;58 (2): 104 - 106.

35. Sarıbaş Z, Tunçkanat F, Pınar A. (2006). Prevalence of erm genes Encoding Macrolide – Lincosamide - Streptogramin (MLS) Resistance Among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* in a Turkish University Hospital. Clinical Microbiology and Infection;12 (8): 797 - 799.

36. Yılmaz G, Aydin K, Iskender S, Caylan R, Koksal I. (2007). Detection and Prevalence of Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococci. Journal of Medical Microbiology; 56 (Pt 3): 342 - 345.

37. Gül HC, Kılıç A, Güçlü AU, Bedir O, Orhon M, Başustaoğlu AC. (2008). Macrolide - Lincosamide - Streptogramin B Resistant Phenotypes and Genotypes for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. Polish Journal of Microbiology; 57 (4): 307 - 312.

38. Azap OK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruç E, Gagir U. (2005). Incidence of İnducible Clindamycin Resistance in Staphylococci: First Results From Turkey. Clinical Microbiology and Infection; 11 (7) : 582 - 584.

39. Ciraj AM, Vinod P, Sreejith G, Rajani K. (2009). Inducible Clindamycin Resistance Among Clinical İsolates of Staphylococci. Indian Journal of Pathology and Microbiology; 52 (1): 49 - 51.

40. Aktaş Z, Arıdoğan A, Kayacan ÇB, Aydin D. (2007). Resistance to Macrolide, Lincosamide and Streptogramin Antibiotics in Staphylococci Isolated in Istanbul, Turkey. Journal of Microbiology; 45 (4): 286 - 290.

41. Ardıç N, Özyurt M, Sareyyüpoğlu B, Haznedaroğlu T. (2005). Investigation of Erythromycin and Tetracycline Resistance Genes in Methicillin Resistant Staphylococci. International Journal of Antimicrobial Agents; 26 (3): 213 - 218.

42. Gherardi G, de Florio L, Lorino G, Fico L, Dicuonzo G. (2009). Macrolide Resistance Genotypes and Phenotypes Among Erythromycin-Resistant Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci, Italy. Federation of European Microbiological Society, Medical Microbiology and Immunology; 55 (1): 62 - 67.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Deniz	**Soyadı**	Güneşer
Doğum Yeri	Üsküdar / İstanbul	**Doğum Tarihi**	04.10.1984
Uyruğu	T.C.	**Tel**	0530 655 73 73
E-mail	denizguneser@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Saint Joseph Fransız Lisesi	2003

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
Fransızca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi

***** Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu [#]								
KPDS FRANSIZCA	ÜDS İNGİLİZCE	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
83	73.75							

[#] Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

[#] KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	61.540	60.487	59.434
Diğer (ALES) Puanı	84.122	82.559	80.609

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office Programları (Word, Excel, Power Point)	Çok iyi

*****Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ARAŞTIRMA ETİK KURULU

SAYI: B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/ 508
İLGİ :

25.06.2009

Sayın : Öğr.Gör.Dr. Burak AKSU

MAR-YÇ-2009-0235 protokol nolu " Klinik örneklerden soyutlanan Staphylococcus aureus suşlarında makrolid grubu antibiyotiklere direnç mekanizmalarının araştırılması " isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr Haner DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurul Başkanı