TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORTAK YAŞAM ALANLARINDAN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARININ, ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI VE VİRULANS FAKTÖRLERİ

BAHAR KOCA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABLİM DALI

DANIŞMAN

YARD.DOÇ.DR ERKAN RAYAMAN

2016-İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans
Anabilim Dalı	: Farmasötik Mikrobiyoloji
Tez Sahibi	: Bahar Koca
Tez Başlığı	: Ortak yaşam alanlarından izole edilen stafilokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları ve virulans faktörleri
Sınav Yeri	: Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi	: 01/07/2016

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Yard.Doç.Dr. Erkan Rayaman	Marmara Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof.Dr. Ümran Soyoğul Gürer	Marmara Üniversitesi	
Doç.Dr. Zuhal Zeybek	İstanbul Üniversitesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun .....28.07.2016 tarih ve 31. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla 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.

Bahar Koca



TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, danışman hocam Sayın Yard. Doç.Dr. Erkan RAYAMAN' a,

Yüksek lisans eğitimim sırasında ilgi, bilgi ve tecrübeleri ile desteğini esirgemeyen çok değerli anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER'e,

Çalışmamın deney aşamasında ilgi ve desteklerini gördüğüm değerli hocalarım Yard. Doç. Dr.Pervin RAYAMAN ve Ecz. Esra DALKILIÇ' a

Laboratuvarlarını kullanımımıza açan Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Fikriye URAS ve Prof.Dr. Azize ŞENER'e, ölçümlerde yardımcı olan Araş.Gör. Turgut ŞEKERLER'e,

Yüksek lisans eğitimimde özellikle manevi desteklerini benden esirgemeyen ve deneylerim sırasında da destek olan sevgili bölüm arkadaşlarım Biyolog Tuğçe KOÇOĞLU, Biyolog Nurten TETİK, Biyolog Kamile YILDIRIM, Biyolog Nazan ARSLAN, Biyolog Gülbahar GÜREL BALABANLI ve Biyolog Özge Sinem AYTAÇ'a,

Hayatımın her anında daima yanımda olan ve beni her konuda destekleyen özellikle, çok kıymetli annem ve babam Nurcan KOCA, Aziz KOCA ve tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SAG-C-YLP-08042015-0103 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ vi
ŞEKİLLER LİSTESİ viii
TABLOLAR LİSTESİ xi
1. ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ ve AMAÇ 3
4.1. Stafilokokların Tarihçesi, Taksonomisi ve Filogenetik Sınıflandırılması 5
4.2. *Staphylococcaceae* Ailesi 10
4.3. *Staphylococcus* Cinsi 10
4.3.1. Koagülaz pozitif stafilokoklar 13
4.3.1.1. *Staphylococcus aureus* 13
4.3.2. Koagülaz negatif stafilokoklar 14
4.3.2.1. *Staphylococcus epidermidis* 15
4.3.2.2. *Staphylococcus haemolyticus* 16
4.3.2.3. *Staphylococcus saphrophyticus* 16
4.3.2.4. *Staphylococcus lugdunensis* 16
4.3.3. Stafilokokların epidemiyolojisi 16
4.3.4. Stafilokok enfeksiyonları 18
4.3.5. TK-MRSA enfeksiyon yaygınlığı ve ayrımı 19
4.3.6. Stafilokok enfeksiyonlarından korunma ve tedavi 21
4.3.7. Stafilokoklarda antimikrobiyal direnç 21
4.3.7.1. Metisilin dirençli stafilokoklar 22
4.3.7.2. Metisilin direnç mekanizmaları 23
4.3.8. Antimikrobiyal direnç ve biyofilm 23
4.3.9. Virulans faktörleri 24
4.3.9.1. Hücre duvarı yapıları 24
4.3.9.2. Kapsül 26
4.3.9.3. Biyofilm tabakası 26
4.3.9.4. Stafilokoksik protein A (SpA) 27

4.3.9.5. Enzimler 27
4.3.9.5.1. Katalaz 27
4.3.9.5.2. Koagülaz 28
4.3.9.5.3. Lipaz 28
4.3.9.5.4. Deoksiribonükleaz (DNaz) 29
4.3.9.5.5. Proteaz 29
4.3.9.6. Toksinler 29
4.3.9.6.1. Sitolitik toksinler 29
4.3.9.6.2. Enterotoksin 31
4.3.9.6.3. Eksfoliyatif toksin (Eksfoliyatin) 32
4.3.9.6.4. Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) 32
4.3.9.6.5. Süperantijenler 32
4.3.10. Stafilokokların tanımlanması 33
4.3.10.1. Kültivasyonu 33
4.3.10.1.1. İzolasyonu 33
4.3.10.1.2. Kültürü 34
4.3.10.2. Morfolojisi ve boyanma özellikleri 34
4.3.10.3. Biyokimyası 35
4.3.10.4. Serolojisi 35
4.3.10.5. MID 66 STAPH ID kiti ile tanımlama ve tiplendirme 35
5. GEREÇ ve YÖNTEM 37
5.1 Gereçler 37
5.1.1.Mikroorganizmalar 37
5.1.1.1. İzole edilen mikroorganizmalar 37
5.1.1.2. Standart mikroorganizmalar 37
5.1.2. Besiyerleri 37
5.1.3. Kimyasal ve organik malzemeler 38
5.1.4. Araçlar ve gereçler 38
5.1.5. Tanımlama kiti 39
5.1.6. Çözeltiler ve tamponlar 39
5.1.7. Antibiyotikler 39
5.1.7.1. Antibiyotik diskleri 39

5.1.7.2. Toz antibiyotikler 40
5.2. Yöntemler 41
5.2.1. Besiyerlerinin hazırlanması 41
5.2.2. Örnek alınan yerler 42
5.2.3. Örneklerin toplanması ve ekimi 42
5.2.4. Gram boyama 43
5.2.5. Oksidaz testi 43
5.2.6. Katalaz testi 44
5.2.7. Koagülaz testi 46
5.2.8. DNaz testi 46
5.2.9. MicrogenTM Staph-ID kiti ile identifikasyon 48
5.2.10. Virulans faktörlerin tespiti 52
5.2.10.1. Biyofilm tespiti 52
5.2.10.2. Proteaz tespiti 53
5.2.10.3. Lipaz tespiti 54
5.2.10.4. Hemolizin tespiti 54
5.2.11. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi 55
5.2.11.1. Disk difüzyon yöntemi 55
5.2.11.1.1. Sefoksitin disk difüzyon testi ile metisiline dirençli stafilokokların belirlenmesi 55
5.2.11.2. Agar dilüsyon yöntemi ile vankomisin duyarlılığının saptanması 56
6. BULGULAR 57
6.1. Örneklerin toplanması ve ekimi 57
6.2. İzolatların Özelliklerinin Belirlenmesi 57
6.2.1. Gram boyama 57
6.2.3. Oksidaz testi 58
6.2.4. Katalaz testi 59
6.2.5. Koagülaz testi 59
6.2.6. DNaz testi 59
6.3. Stafilokokların Tür Tayininin Yapılması 60
6.4. Virulans Faktörlerin Tespiti 62
6.4.1. Biyofilm tespiti 62

6.4.2. Proteaz tespiti 63
6.4.3. Lipaz tespiti 64
6.4.4. Hemolitik aktivitenin tespiti 64
6.5. Türler Açısından Virulans Faktörleri 64
6.6. Koagülaz pozitif ve koagülaz negatif türler açısından virulans faktörleri 65
6.7. İzolatların Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Belirlenmesi 68
6.7.1. Disk difüzyon yöntemi 68
6.7.1.1. Sefoksitin disk difüzyon testi ile metisiline dirençli stafilokokların belirlenmesi 74
6.7.2. İzolatların vankomisin duyarlılığının agar dilüsyon yöntemi ile saptanması 76
7. TARTIŞMA ve SONUÇ 79
8. KAYNAKLAR 92
9. EKLER 104
10. ÖZGEÇMİŞ 106

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

AK: Amikasin

AMP: Ampisilin

AMS: Ampisilin-sulbaktam

AUG: Amoksisilin-klavulonik asit

C: Kloramfenikol

CD: Klindamisin

CIP: Siprofloksasin

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CN: Gentamisin

CRO: Seftriakson

CTX: Sefotaksim

CXM: Sefuroksim

E: Eritromisin

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FC: Fusidik asit

FEP: Sefepim

FOX: Sefoksitin

FTS: Fizyolojik tuzlu su

gr: Gram

HK-MRSA: Hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

IMI: İmipenem

KNS: Koagülaz negatif stafilokok

kob: Koloni oluşturan birim

KPS: Koagülaz pozitif stafilokok

LEV: Levofloksasin

LNZ: Linezolid

MHA: Mueller hinton agar

MHB: Mueller hinton broth

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

mL: Mililitre

MRP: Meropenem

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MUP: Mupirosin

MXF: Moksifloksasin

NET: Netilmisin

P: Penisilin

QDA: Kinopristin/dalfopristin

RD: Rifampisin

SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol

TE: Tetrasiklin

TEC: Teikoplanin

TEL: Telitromisin

TGC: Tigesiklin

TK-MRSA: Toplum kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

TOB: Tobramisin

TZP: Piperasillin-tazobaktam

µg: Mikrogram

µL: Mikrolitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 16S rRNA temelli olarak başlıca bakteri filumları 6

Şekil 2: 16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Bacillales* takımında yer alan başlıca bakteri aileleri 7

Şekil 3: 16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Staphylococcaceae* ailesinde yer alan cinsler 8

Şekil 4:16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Staphylococcus* cinsinde yer alan türler 9

Şekil 5: Gram pozitif bakterilerin hücre duvar yapısı 25

Şekil 6: Çevreden stafilokok izolasyonu algoritması 45

Şekil 7: Çevresel stafilokok izolatlarının tanımlanması 47

Şekil 8: Microgen Staph-ID sistem için renk skalası 51

Şekil 9: Microgen Staph-ID sistemi rapor formu 51

RESİMLERİN LİSTESİ

Sayfa

Resim 1: Oksidaz negatif ve pozitif mikroorganizmaların görünümü 43

Resim 2: Katalaz pozitif test sonucunun görüntüsü 44

Resim 3: Koagülaz testi pozitif mikroorganizma görünümü 46

Resim 4: DNaz testi pozitif sonuç görününümü 47

Resim 5: Microgen Staph-ID sistemi veri tabanı görüntüsü 52

Resim 6: Skim milk besiyerinde proteaz pozitif (+) ve negatif (-) kontrol görüntüsü 53

Resim 7: Tributyrin agar besiyerinde lipaz üretiminin tespit edilmesi 54

Resim 8: Agar dilüsyon yönteminde MİK değerlerinin belirlenmeside mikroplaklardan besiyerlerine ekim işlemlerinde kullanılan replikatör 56

Resim 9: Mannitol salt agar besiyerinde mannitol negatif ve pozitif izolatların görünümü 57

Resim 10: Gram boyama yöntemi uygulanmış bir Stafilokok izolatının mikroskoptaki görünümü 58

Resim 11: Oksidaz negatif ve pozitif mikroorganizmaların görünümü 58

Resim 12: Katalaz pozitif test sonucunun görünümü 59

Resim 13: Koagülaz testi pozitif mikroorganizma görünümü 59

Resim 14: DNaz testi pozitif olan bir izolatın görünümü 60

Resim 15: Stafilokokların tanımlamasında 4 farklı izolat için biyokimyasal reaksiyonların sonuçlarının görünümü 61

Resim 16: 96 kuyucuklu plakta % 0,25 safranin muamelesi. Muamele ile plağın görünümü 63

Resim 17: Skim milk besiyerinde proteaz pozitif (+) ve negatif (-) kontrol ve bir KNS izolatının negatif proteaz görüntüsü 63

Resim 18: Tributyrin agar besiyerinde lipaz üretiminin tespit edilmesi 64

Resim 19: Sefoksitin disk difüzyon yöntemi ile metisilin direncinin tespit edilmesi 74

Resim 20: 2, 1, 0.5 ve 0.25 µg/mL konsantrasyonlarda vankomisin içeren MHA besiyerinde 96 farklı stafilokok izolatının üreme durumları 77

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: Günümüzde *Staphylococcus* türlerinin taksonomideki yeri 5

Tablo 2: Stafilokok türlerininin konakları ve görülebildikleri yerler 12

Tablo 3: Stafilokok türlerinin oluşturduğu belli başlı enfeksiyon tipi, enfeksiyon kaynağı olan tür grubu ve enfeksiyonlar 19

Tablo 4: Microgen Staph-ID kitinin içerdiği testler 36

Tablo 5: MicrogenTM Staph-ID kiti uygulama tablosu 49

Tablo 6: Microgen Staph-ID içeriğinde yer alan testler 50

Tablo 7: *Staphylococcus* izolatlarının sayı ve yüzdeleri 62

Tablo 8: KPS ve KNS izolatlarının virulans faktör yönünden (%) yüzdesel değerlendirme tablosu. 66

Tablo 9: İzolatların tür bazında virulans faktörlerinin dağılımı 67

Tablo 10: İzolatların disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık sonuçları. 69-72

Tablo 11: Test edilen antibiyotiklere göre, KNS ve KPS'lerin dirençlilik oranları 73

Tablo 12: Stafilokok izolatlarının türlerine göre metisiline dirençli izolat sayısı ve yüzdesi 75

Tablo 13: Metisilin direncinin KPS ve KNS gruplarına göre dağılımı 75

Tablo 14: Vankomisinin stafilokok izolatlarına karşı olan MİK değerleri 78

Ortak Yaşam Alanlarından İzole Edilen Stafilokok Suşlarının, Antibiyotiklere Duyarlılıkları ve Virulans Faktörleri

Öğrencinin Adı : Bahar KOCA
Danışman : Yard. Doç. Dr. Erkan RAYAMAN
Anabilim Dalı: Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, ortak yaşam alanlarındaki stafilokok türlerinin dağılımı, antibiyotiklere duyarlılıkları ve virulans faktörlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İstanbul'daki çeşitli semtlerden, toplu ulaşım araçları, para çekme makinaları, alış veriş merkezleri, yürüyen merdiven bantları gibi toplu kulanım alanlarından 500 örnek alınmıştır. Örneklerin mikrobiyolojik ve biyokimyasal analizleri ile stafilokok izolatları elde edilmiştir. Bu izolatların tür tayini MID 66 STAPH ID kiti kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra mikroplak yöntemi ile biyofilm üretimi, kanlı agar besiyerinde hemolizin üretimi, skim milk agarda proteinaz üretimi ve tributyrin agarda lipaz üretimi araştırılmıştır. İzolatların 33 antibiyotiğe olan duyarlılıkları CLSI ve EUCAST önerilerine uygun olarak yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma sonucunda 500 adet çevresel yüzey örneğinden 15 türe ait, 233 adet stafilokok izolatı elde edilmiştir. İzolatların 195 adeti KNS, 38 adeti KPS olarak belirlenmiştir. İzolatların %19'u DNaz, %61'i biyofilm, %93'ü lipaz, %3'ü proteaz, %37.3'ünde hemoliz pozitif olarak bulunmuştur. Hemolitik aktivite için nonhemolitik türlere daha fazla raslanmıştır. Test edilen antibiyotiklerden penisilin ve eritromisine karşı yaygın direnç gözlenmiştir. Total olarak 35 adet metisiline dirençli izolat saptanmıştır. Bunların 5'i KPS ve 30'u KNS'dir.

Sonuçlar: Günlük yaşantımızda farklı özellikte stafilokok türleri ile sürekli temas halinde olduğumuz görülmüştür. Ayrıca çevremizdeki stafilokokların virulans özellikleri ve anbiyotik direnci ile fırsat bulduğunda ciddi enfeksiyonlara yol açabilecek potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Staphylococcus,* izolasyon, identifikasyon, virulans faktör, antibiyotik duyarlılık

Antibiotic Susceptibility and Virulence Factors of *Staphylococcus* Strains Isolated from Communal Areas

Student's Name: Bahar KOCA
Advisor: Assist.Prof. Dr. Erkan RAYAMAN
Department: Pharmaceutical Microbiology

2. SUMMARY

Aim: In this study we aimed to investigate the distribution of Staphylococcus species in common living areas, their sensitivities to antibiotics and virulence factors.

Materials and Methods: All of the 500 samples were collected from various districts in Istanbul and from public area of usage such as public transport, ATMs, shopping malls and escalators. Staphylococcal isolates were determined by microbiological and biochemical analysis of the samples. The species of these isolates were identifyied by using MID 66 STAPH ID kit. Then biofilm was assigned by using microplate method and the production of hemolysis on blood agar, proteinase production in skim milk and lipase production in tributyrin agar were investigated. The susceptibility of the isolates to antibiotics was determined in accordance with the CLSI and EUCAST proposals.

Results: According to the results of our study 15 species from 233 staphylococcal isolates were obtained within 500 samples collected from environmental surfaces. Between the isolates 195 were coagulase negative staphylococci (CNS) and the other 38 were identified as coagulase positive staphylococci (CPS). Among the isolates 19% were DNase, 61% biofilm, 93% lipase, 3% protease and 37.3% hemolyse positive. Most of the hemolytic activity was encountered among the transparent types. Among the tested antibiotics wildspread resistance against penicillin and erythromycine was observed. Totally 35 methicillin resistant isolates (5 CPS, 30CNS was observed.

Conclusion: It was found that we are in constant contact with staphylococci possesing different types of properties. In addition it was seen that since the staphylococcal virulence properties, antibiotic resistance and when there is opportunity that staphylococci have the potential to cause serious infections.

Keywords: *Staphylococcus*, isolation, identification, virulence factor, antibiotic susceptibility

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Stafilokoklar doğada yaygın olarak bulunan, Gram pozitif kok şeklindeki mikroorganizmalardır. Stafilokokların çoğu sıcakkanlı hayvanların ve insanların derisinde, deri ile ilişkili bezlerin kanallarında ve mukozalarında normal flora üyesi olarak bulunan fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. Gerekli şartların oluşması ile birlikte basit yüzeysel bir enfeksiyondan hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara kadar geniş spektrumda klinik tablolara neden olabilirler. *Staphylococcus* türleri içinde, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus* ve *Staphylococcus lugdunensis* önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Şimşek, 2010).

Stafilokok türleri koagülaz özelliklerine göre temel olarak koagülaz pozitif stafilokoklar ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olarak 2 gruba ayrılır. Koagülaz pozitif olan *S.aureus* patojenitesi en yüksek stafilokok türüdür (Lee ve Bohach, 2004).

KNS'ler uzun süredir zararsız, kommensal veya kontaminant bakteriler olarak değerlendirilmiş olmalarına karşın hastalarda ve tedavi yöntemlerdeki değişikliklerle birlikte enfeksiyon etkeni olan tür sayısı ve görülme sıklığı artmaktadır. Genel olarak KNS'ler deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve endokardit gibi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu enfeksiyonlar özellikle immün sistemi baskılanmış ve kronik hastalığı olan kişilerde ciddi sorunlar yaratabilmektedir (Şimşek, 2010; Demirtürk ve Demirdal, 2004)

Stafilokokların tedavisinde yer alan en büyük sorunlardan biri antibiyotik direncidir. Direnç, özellikle de metisilin direnci hastane kaynaklı etkenlerde yaygın olarak görülmektedir. Bununla birlikte toplumda bulunan koagülaz pozitif ve negatif türlerde de metisilin direncine rastlanmakta ve KNS'lerin metisilin direncinin yayılmasında kaynak rolü oynadığına dair görüşler vardır (Becker ve ark. 2014).

Metisiline direçli *S.aureus* (MRSA) sağlık açısından günümüzde ciddi bir sorundur. Bu mikroorganizmalar sadece hastanelerde değil toplumda da görülebilmekte ve enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları tüm yaş gruplarında ve dünyada yaygın olarak görülmektedir (Barbier, 2010). Bu geniş yayılım ve var olan direnç genlerinin türler arasında da geçişinin olması, ortak yaşam alanlarında yaygın olarak bulunan diğer stafilokok türlerinin de insanlar için risk oluşturabileceği fikrini tetiklemektedir (Pham, 2008).

Hastane kökenli stafilokokların antibiyotik duyarlılıkları, virulans faktörleri ve dağılımları hakkında birçok çalışma yapılmasına karşın, günlük hayatta karşılaşabileceğimiz, ortak kullanım alanlarında yer alan stafilokok türleri ve özellikleri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktır. Stafilokokların gelecekte de önemli sağlık sorunlarına yol açabilme ihtimaline bağlı olarak, ortak yaşam alanlarında bulunan stafilokok türlerinin ve özelliklerinin belirlenmesinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bu nedenle çalışmamızda ortak yaşam alanlarında yer alan ve günlük hayatta karşılaşabileceğimiz stafilokok türlerinin tespit edilmesi, virulans faktörlerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının tespit edilmesi ile epidemiyolojik çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Stafilokokların Tarihçesi, Taksonomisi ve Filogenetik Sınıflandırılması

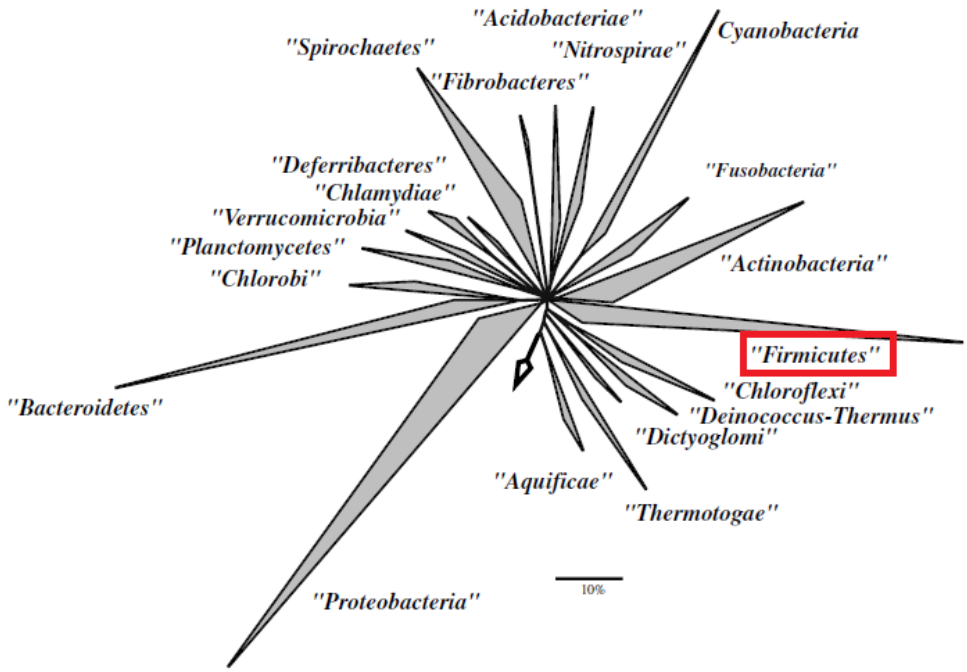
Stafilokoklar ilk kez 1878'de Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. Sir Alexandar Ongston 1882 yılında bazı piyojenik abselerde hastalık etkeni olarak gruplar halindeki kokları görerek "*Staphylococcus*" (Yunancada staphyle= üzüm salkımı, coccus= tahıl ya da tohum anlamına gelen kelimelerden türetilmiştir) terimini ilk kez kullanmıştır. Mikroorganizmaların izole edilmesi ve laboratuvar özellikleri 1884 yılında Alman cerrah Rosenbach tarafından yapılmıştır (Becker ve ark. 2014, Cunha, 2014).

Staphylococcus cinsi ilk olarak *Micrococcaceae* ailesi içinde sınıflandırılmasına rağmen moleküler biyoloji ve genetikteki gelişmelerle birlikte, yağ asidi profilleri, hücre duvarı bileşenleri ve 16S ribozomal RNA analizleri ile yeni bir aile olarak kabul edilerek, *Staphylococcaeae* ailesi olarak sınıflandırılmıştır (Cunha, 2014).

Günümüzde *Staphylococcus* türleri *Firmicutes* filumunun, *Bacilli* sınıfında, *Bacillales* takımında ve *Staphylococcaceae* ailesinde yer almaktadır (Schleifer ve ark., 2009) (Tablo 1, Şekil 1-4).

Tablo 1: Günümüzde *Staphylococcus* türlerinin taksonomideki yeri.

Alem: *Bacteria*
Filum: *Firmicutes*
Sınıf: *Bacilli*
Takım: *Bacillales*
Aile: *Staphylococcaceae*
Cins: *Staphylococcus*
(Schleifer ve ark., 2009)



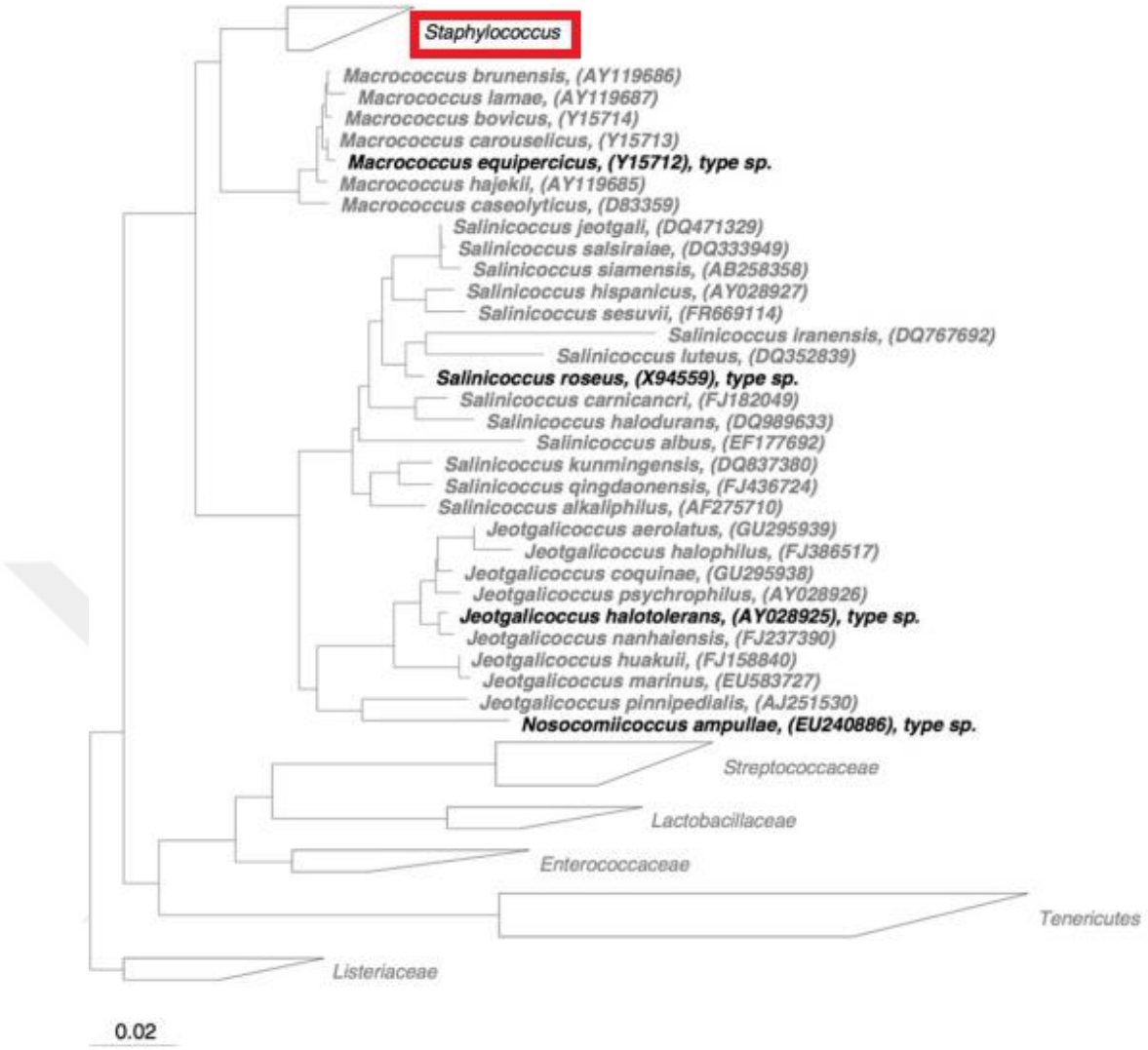
(Ludwig, 2005)

Şekil 1. 16S rRNA temelli olarak başlıca bakteri filumları



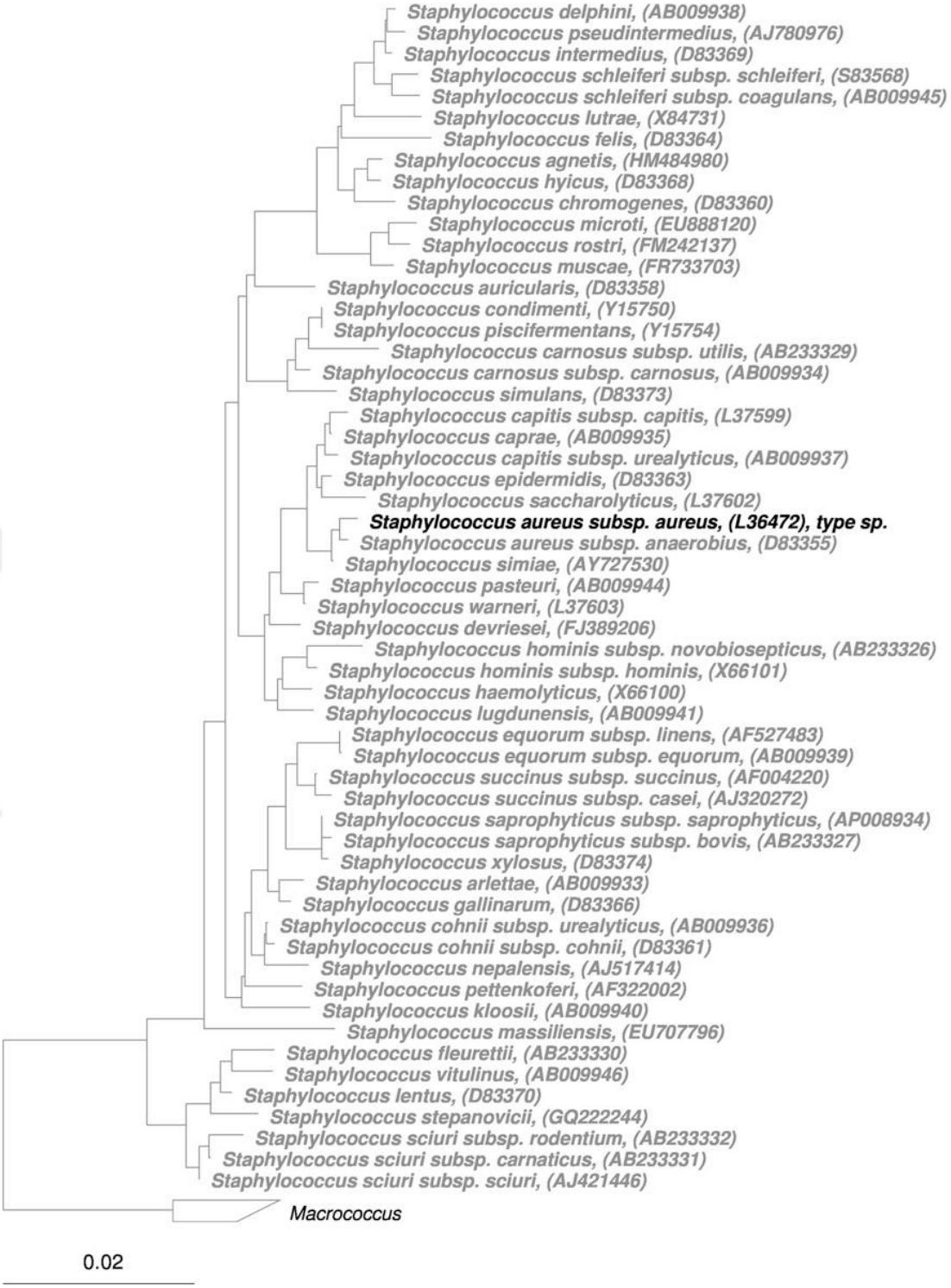
(Ludwig, 2009)

Şekil 2: 16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Bacillales* takımında yer alan başlıca bakteri aileleri



(Lory, 2014)

Şekil 3: 16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Staphylococcaceae* ailesinde yer alan cinsler



(Lory, 2014)

Şekil 4:16S rRNA temelli olarak oluşturulmuş *Staphylococcus* cinsinde yer alan türler

4.2. *Staphylococcaceae* Ailesi

Bu aile üyeleri Gram pozitif bakteriler olup, ilk olarak "Bergey's Manual Systematic Bacteriology" kitabının ikinci baskısında yer almıştır. Taksonomik olarak bu aile *Staphylococcus, Jeotgalicoccus, Macrococcus, Nosocomiicoccus* ve *Salinococcus* cinslerini içemektedir (Şekil 3) (Becker ve ark. 2014; Lory, 2014).

Bu cinslerin DNA'larındaki G+C oranları, genom yapıları ve hücre duvar yapılarında farklılıklar olmasına karşın, nükleik asit hibridizasyon deneyleri ve 16S rRNA sekanslarının incelenmesi sonucunda bu dört cins aynı aile içinde toplanmıştır (Becker ve ark. 2014).

Staphylococcaceae ailesi düzgün veya düzensiz kümeler oluşturan, Gram pozitif, genellikle hareketsiz, aerob veya fakültatif anaerob koklardan oluşan üyelere sahiptir. Boyutları 0.5 ile 1.5 μm arasında değişir (Schneewind and Missiakas, 2009). %5' lik koyun kanlı agar ve çikolata agarda iyi ürerken, MacConkey agarda üremezler. Ayrıca stafilokokların gelişebildikleri sıcaklık (6,5- 46°C), pH (4,2–9,3) ve tuz (%6,5-10) parametreleri geniş aralıktadır (Lui, 2015). Özellikle 60°C'ye 30 dk dayandıkları tespit edilmiştir (Somerville ve Proctor, 2009).

4.3. *Staphylococcus* Cinsi

Prokaryot canlı alemi içerisinde, Gram boyanma özelliklerine göre, Gram pozitif bakterilerden olan bu mikroorganizma cinsi oksijen ihtiyaçlarına göre aerob, fakültatifdirler. Stafilokok türleri en sık karşılaşılan insan patojenleri olması nedeniyle sağlık açısından oldukça önemlidir (Şekil 4) (Foster ve Georghgane, 2015; Becker ve ark. 2014).

Staphylococcus cinsinin sınıflandırılması temel olarak koagülaz enzimi üretip üretmemesine göre yapılmaktadır. Koagülaz enzimi üretenler koagülaz pozitif Stafilokoklar (KPS), üretmeyenler ise koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olarak tanımlanmaktadır (Becker ve ark. 2014).

2014 yılı itibari ile *Staphylococcus* cinsi 47 tür ve 23 alt tür içermektedir. Bunların 38'i KNS iken, *S. schleiferi* türü hem KNS hem de KPS alt türlerini içermektedir. *S. schleiferi subsp. schleiferi* KNS, *S. chleiferi subsp. coagulans* KPS olarak tespit edilmiştir. En son tanımlanan KNS türleri insanlarda klinik numunelerden izole edilen *S. jetensis*, *S. massiliensis*, *S. petrasii* ve *S. pettenkoferi* türleridir. *S. pseudolugdunensis*'te bir KNS türü olarak düşünülmektedir (Becker ve ark. 2014) (Şekil 4).

Staphylococcus cinsi doğada yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır (Foster ve Georghgane, 2015). Gerekli şartların oluşması ile basit yüzeysel bir enfeksiyondan hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara kadar geniş spektrumda klinik tablolara neden olabilirler (Becker ve ark. 2014). Stafilokoklar içinde en yaygın patojen tür *S. aureus*' tur (Foster ve Georghgane, 2015). Özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları ciddi boyutta enfeksiyonlara yol açabilmekte ve bu suşların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde güçlükler yaşanmaktadır (Palavecino, 2014). İnsan sağlığını bu denli tehdit eden bu sorun, *Staphylococcaceae* ailesi içerisindeki *Staphylococcus* cinsi türlerinin ailenin diğer cins ve türlerinden ayrımını önemli kılmaktadır (Tablo 2) (Schneewind and Missiakas, 2009).

Tablo 2: Stafilokok türlerininin konakları ve görülebildikleri yerler.

Türler ve alt türler	Konakları ve görüldükleri yerler
S.warneri	Çevrede fermente gıdalarda, insan ve hayvanda.
S. haemolyticus	Sütte, fermente gıdalarda, insan el ve ayaklarında.
S. epidermidis	Fermente sosisler, kedi, sığır, keçi, köpek, at, domuz, koyun, goriller, insanda deride; koltukaltı, baş, el, ayak, burun mukozasında
S. cohnii subsp. urealyticum	Maymunlar, istiridye, at gibi hayvanlarda, insan derisinde.
S. hominis subsp. hominis	Keçi sütü, fermente gıdalar, hayvan ve özellikle insanlarda.
S.chromogenes	Sığır, domuz, at, keçi ve koyunda.
S. capitis	Kedi, köpek ve atlarda bulunabilir, özellikle insanda öncelikli olarak kafa derisi ve elde bulunur.
S. hyicus	Domuz, keçi, sığır.
S. saprophyticus	Bazı alt türleri Sığırlar, keçi, koyun ve fermente gıdalarda, insan derisinde.
S. lentus	Et, süt, soya fasulyesi yağında, domuz, koyun, at, keçi, sığır, kümes hayvanları,vizon gibi hayvanlarda.
S. intermedius	Memeli türleri, kuş.
S. aureus	İnsan, Memeli türleri, Kuş, hayvansal gıdalar.
S. schleiferi subsp. coagulans	Köpek, kedi, insan ve diğer memeliler.
S. xylosus	Fermente gıdalar (stater kültür), kedi, keçi, at, böcekler, domuz, kemiriciler, koyun gibi hayvanlarda, insanda nadir olarak deride.
S. sciuri	Yunus, balina, kemirici, sığır, insanda deride.

(Becker, 2007; Becker ve ark. 2014)

4.3.1. Koagülaz pozitif stafilokoklar

Staphylococcus cinsi içinde *S. aureus, S. intermedius, S. hyicus* ve *S. schleiferi subsp. coagulans* koagülaz pozitif türlerdir. Bu türler içindeki en önemli tür *S.aureus*'tur (Becker ve ark. 2014).

4.3.1.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus mannitol fermantasyonu yapan, özellikle koagülaz üretimi ile diğer stafilokoklardan ayrılan ve patojenitesi diğer stafilokok türlerinden daha yüksek olan bir türdür. Toplumun %30-70' inde nazal florada kommensal olarak bulunmasına rağmen, deri çatlaklarını veya mukoz membranları enfekte ederek ve primer enfeksiyon odağından kan yoluyla yayılarak birçok enfeksiyona neden olmakta, ayrıca besin zehirlenmesinde de etken olarak karşımıza çıkmaktadır (Somerville ve Proctor, 2009).

Buna ek olarak, önemli bir sorun olan MRSA suşlarında metisilin direnci; *Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) adı verilen genetik yapının üzerinde bulunan *mecA* (SCCmec*)* geni tarafından düşük afiniteli bir penisilin bağlayan protein (PBP) olan PBP2a sentezlenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (Gillaspy ve Iandolo, 2009; Velasco ve ark, 2005).

Stafilokok türleri arasında gözlenen metisilin direnci günümüzde enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir sorundur. Metisilin direncinin klinikteki önemi, metisiline dirençli suşların aynı zamanda eritromisin, sefalosporinler, karbapenemler, tetrasiklin, klindamisin, aminoglikozidler, kinolonlar gibi birçok antibiyotiğe karşıda direnç göstermesinden gelmektedir (Palavecino, 2014).

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), ilk kez 1961 yılında tanımlanmıştır. Tanımlandıkları tarihten bu yana dünyada önemli bir sorun olarak görülmektedirler. Son yıllarda MRSA izolatları hastane kaynaklı enfeksiyonların yanı sıra toplum kaynaklı enfeksiyonlara da yol açmaktadır ve son yıllarda

vankomisine dirençli ve azalmış duyarlılık gösteren izolatların sayısında artış görülmektedir (Sowash ve Uhlemann, 2014, Palavecino, 2014).

Daha önceden MRSA suşları enfeksiyon etkeni olarak yalnızca hastane kaynaklı bilinirken, 1990'lı yıllardan sonra toplum kaynaklı metisilin dirençli *S.aureus* (TK-MRSA) enfeksiyonlarıda bildirilmeye başlamıştır. Günümüzde hastane kaynaklı metisilin dirençli *S. aureus* (HK-MRSA)' ların yerini TK-MRSA' lar almaya başlamıştır. TK-MRSA'ları HK-MRSA suşlarından ayıran önemli bir özellik de TK-MRSA suşlarının daha yüksek oranda Panton Valentin Lökosidin (PVL) geni bulundurmalarıdır. Bu nedenle daha virulan olarak kabul edilmektedirler (Palavecino, 2014).

TK -MRSA ile HK-MRSA arasında, klinik, antibiyotik duyarlılık, virulans faktörleri ve moleküler özellikler bakımından farklılıklar söz konusudur. TK -MRSA genellikle sporadik enfeksiyonlar oluştururken, intravenöz ilaç kullanıcıları arasında, toplu yaşanılan yerlerde salgınlara yol açabilir. Toplum kökenli suşlar hastane kökenlilerine göre antibiyotiklere daha duyarlıdırlar (Palavecino, 2014). Yine hastane kökenlilerinde %5 civarında bildirilen PVL geni, toplum kökenli suşların %90'dan fazlasında bulunabilmektedir (Becker ve ark, 2014). TK -MRSA suşlar, HK-MRSA ya göre daha kolay kolonize olmakta ve daha sık enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. Moleküler incelemeler ile hastane ve toplum kaynaklı izolatların moleküler açıdan da farklı klonlar oldukları gösterilmiştir (Lui ve ark, 2015; Foster ve ark, 2015; Palavecino, 2014).

4.3.2. Koagülaz negatif stafilokoklar

Koagülaz negatif Stafilokoklar insan ve hayvanların normal vücut floralarında yaygın olarak yer alan bakterilerdir. Uzun süredir genel olarak zararsız bilinen bazı türleri genellikle fırsatçı patojen olarak rol oynasa da *S epidermidis*, *S.haemolyticus*, *ve S.saphrophyticus* en önemli enfeksiyon etkenlerindendir. Diğer KNS türleri çoğunlukla fırsatçı patojenler olarak bilinmesine rağmen *S.lugdunensis* gibi türler

günümüzde artan bir sıklıkta esas patojenler olarak görülmektedir. Bu nedenle KNS türlerine yönelik merak ve araştırmalar da artmıştır (Becker ve ark, 2014).

KNS'ler 1960' ların ortalarından sonra çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş ve bazı izolatlar subakut bakteriyel endokardit etkeni olarak da saptanmıştır (Gemmell ve Lang, 2015). KNS' ler deride normal olarak var olduklarından katater uygulanması gibi tıbbi girişimlerde kontaminat ve enfeksiyon kaynağı olabilirler. KNS' lerdeki metisilin direnci *S. aureus*'da görülen mekanizma ile gelişmektedir. Genel olarak KNS' ler deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve endokardit gibi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu enfeksiyonlar özellikle immün sistemi baskılanmış ve kronik hastalığı olan kişilerde ciddi sorunlar yaratabilmektedir (Shittu ve ark, 2006; Becker ve ark. 2014).

Bunlara ek olarak KNS' lerde özellikle metisilin direnci gibi çoklu antibiyotik direnci de görülebilmektedir. İnsan ve hayvan orjinli KNS' lerin metisilin de dahil olmak üzere birçok antibiyotik için direnç genlerini taşıyabildiği ve bunlar için rezervuar olduğunu ileri süren görüş ve çalışmalar vardır. Bu durum insan ve hayvan sağlığı için son derece önemlidir. Çünkü bu dirençlerden sorumlu genetik elemanlar doğal olarak hareketlidirler ve kolaylıkla diğer bakterilere de geçebilirler. Bu genlerin aktarımı ile de KNS'lerin klinik öneme sahip MRSA gelişiminde de etkili olabileceği düşünülebilir (Becker ve ark, 2014).

4.3.2.1. *Staphylococcus epidermidis*

İnsan deri yüzeyinde ve mukoza yüzeyinde kolonize olabilen ve en sık görülen mikroorganizmadır. Özellikle kasık, koltuk altı, burun, ayak parmak arası gibi nemli bölgelerde görülmüştür. KNS türleri içinde *S.epidermidis* en patojen türdür (Becker ve ark, 2014).

4.3.2.2. *Staphylococcus haemolyticus*

Diğer KNS türleri gibi insan, deri ve mukoza membranının doğal üyesidir. Bu tür özellikle koltuk altı ve kasık bölgelerinde sıklıkla görülmektedir. Ayrıca fermente gıda ve süt ürünlerinde de görülebilmektedir. KNS türleri içinde ikinci en patojen türdür. Evcil hayvanlarda da bu türün etken olduğu enfeksiyon hastalıklarına raslanılmaktadır. Antibiyotik direnç gelişimi ve özellikle çoklu antibiyotik direnci yaygın olarak gürülmektedir. Antibiyotik dirençli ve biyofilm oluşturan patojen fenotiplerinin tedavisi oldukça güçtür. Genelde lipaz ve katalaz enzimine ve hemolitik aktiviteye sahiptirler (Becker ve ark, 2014).

4.3.2.3. *Staphylococcus saphrophyticus*

Enfeksiyon etkeni olarak gözlenebilir. Sığır ve domuzların gastrointestinal sistemlerinin bir parçası olarak görülen bu tür kontaminant olarak gıdalarda da görülebilir. Özellikle klinik açıdan üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak görülmüştür.13-40 yaş arası kadınlarda bu tür enfeksiyonlara daha sık rastlanmıştır. Toplum kaynaklı enfeksiyon etkeni olarak da görülmektedir (Becker ve ark, 2014).

4.3.2.4. *Staphylococcus lugdunensis*

S. lugdunensis normal vücut florasının bir üyesidir. İnsanda özellikle kasık bölgesi, koltuk altı ve eklemlerde rastlanmıştır. Ancak son yıllarda nazokomiyal olarak *S. aureus*'ların sebep olduğu endokardite benzer enfeksiyonlar ile de dikkat çekmiştir. Son zamanlarda *S. aureus* ve *S. epidermidis* gibi klinik olarak görülme sıklığı artmıştır (Becker ve ark, 2014).

4.3.3. Stafilokokların epidemiyolojisi

İnsanlarda en sık karşılaşılan enfeksiyon etkenlerinden biri stafilokoklardır. Çevresel ve hastane kaynaklı olarak enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Becker, 2007; Becker ve ark. 2014). Stafilokok cinsi üyeleri tanımlandıklarından beri

antibiyotiklere ve dekontaminatlara karşı direnç kazanmışlardır. Antibiyotik direnç sorunu 1930' lu yıllardan beri var olması ile birlikte, özellikle epidemiyolojik açıdan önem arz eden metisilin direnci 1960 yılından bu yana insan sağlığını tehdit etmektedir (Sancak, 2011). Metisilin direnci saptanan bakterilerde tüm Beta laktam antibiyotiklere karşı direnç olduğu bilinmektedir (Palavecino, 2014). Stafilokoklar içinde epidemi nedeni olarak bilinen başlıça tür grubu *S. aureus subsp. aureus*'dur (Becker, 2007).

Son yıllarda metisiline dirençli stafilokok enfeksiyonlarının, özellikle MRSA'ın, epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Meydana gelen en önemli değişim stafilokoklarda metisilin direnç oranındaki artış (Palavecino, 2014). Stafilokokların dirençli suşlarına sağlıklı bireylerde de rastlanmaktadır. Bu dirençli şusların gıda, hayvan ve hastane kaynaklı olarak izole edildiği görülmektedir (Basso ve ark, 2014; Gilmore ve ark, 2008; Becker ve ark, 2007).

Staphylococcus cinsi içinde özellikle *S. aureus* suşlarında görülen metisilin direnci bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisini ve kontrolünü güçleştirmiş ve hastane kökenli enfeksiyonların yanı sıra, doğal olarak insan vücut yüzeyinde var olan çevresel kaynaklı stafilokok enfeksiyonlarının da gelişmesine neden olmuştur. Sonuç olarak günümüzde metisilin dirençli stafilokok türlerine sadece hastane kaynaklı olarak değil çevresel kaynaklı olarak da hem *S. aureus*' larda hem de diğer stafilokok türlerinde rastlanmaktadır. Bu sorun evrensel olarak çoklu antibiyotik direnci oluşturması ve stafilokok türlerinde yaygın gelişimi ile insan sağlığını tehdit etmiş ve etmektedir (Gilmore ve ark, 2008).

Staphylococcus türlerinin kolonizasyonu ve enfeksiyonlara sebep olmaları için en öenmli parametreler yaş, altta yatan hastalıklar, nazal kolonizasyon ve katater, trakeostami, nazogastrik tüp gibi yabancı cisimlerin varlığıdır (Becker ve ark. 2014).

4.3.4. Stafilokok enfeksiyonları

Stafilokoklar ilk kez 1880 yılında, Ogston tarafından "mikrokoklar, aktiviteleri düşük ve yayılma alanları sınırlı olduğundan yüzeysel süpüratif inflamasyona (flegmon) yol açan, ancak etkinlikleri daha fazla olursa ve yayılma olanağı bulurlarsa septisemi ve piyemi oluşturan mikroorganizmalardır" şeklinde tanımlanmıştır. 100 yılı aşkın süredir yapılan bu tanımlamada stafilokoklar ile ilgili sözkonusu problem hala devam etmektedir. Değişen ve gelişen zamana rağmen hala toplum ve hastane kaynaklı olarak stafilokok enfeksiyon etkenleri karşımıza çıkmaktadır (Tünger, 2012).

Bunun ile birlikte stafilokok cinsi içinde koagülaz pozitif özellikli *S. aureus* genel anlamda ciddi klinik tablolara neden olan hastalık yapma yeteneği en fazla olan türdür (John, 2004). *S. aureus*'lar ile birlikte özellikle idrar yolu enfeksiyonlarında etken olan *S. saprophyticus* dışında koagülaz negatif özellikli stafilokok türleri ise genel anlamda derinin mikrobial flora elemanı olup birçok kültür değerlendirmesinde kontaminant bakteri olarak kabul edilirler. Ancak günümüzde tıbbi tekniklerin gelişmesi ile birlikte kullanılan prostetik cihazlarla ilişkili enfeksiyonlarda artış ve enfeksiyonlarda KNS grubu stafilokok türlerinin önemli patojen etkiye sahip oldukları görülmüştür (Becker ve ark., 2014). *S.aureus* basit deri enfeksiyonlarından hayatı tehdit eden şiddetli enfeksiyonlara kadar birçok tipte enfeksiyona yol açabilirken, genel olarak KNS'ler deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve endokardit gibi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu enfeksiyonlar özellikle immün sistemi baskılanmış ve kronik hastalığı olan kişilerde ciddi sorunlar yaratabilmektedir (Tablo 3) (Lowy, 2010).

Tablo 3: Stafilokok türlerinin oluşturduğu belli başlı enfeksiyon tipi, enfeksiyon kaynağı olan tür grubu ve enfeksiyonlar.

Enfeksiyon Tipi	Enfeksiyon Kaynağı Tür	Oluşan Hastalıklar
Deri ve mukoza lokalizasyonları	En çok *S. aureus* ve diğer stafilokok türleri.	Deride fronkül (sivilce), sikozis (sakal kıl kökleri yangısı), karbonkül (kan çıbanı), çevreye yayılma sureti ile oluşturdukları flegmon, çocuklarda bülloz impetigo vs.
Yaygın deri döküntüleri ile seyreden enfeksiyonlar.	*S. aureus* tarafından oluşturulurlar.	Vücudun belirli bölgelerinde lokalizasyon ve güçlü epidermolitik toksinlerin yayılması ile; haşlanmış deri sendromu, toksik şok sendromu vs.
Besin zehirlenmeleri	Enterotoksin yapan stafilokoklar.	Gastrointestinal enfeksiyonlar.
Sistem, organ enfeksiyonları	*S. aureus* ve direnci baskılanmış kimselerde diğer stafilokoklar tarafından.	Stafilokok pnömonileri, akciğer abseleri, periostit, periartrit, bursit, tromboflebit otitis media, menenjit, sinüzit, idrar yolları enfeksiyonları, prostatit, perinefritik abse vs.
Sepsis, Endokarditler	Özellikle *S. aureus*.	

(Enright, 2004)

4.3.5. TK-MRSA enfeksiyon yaygınlığı ve ayrımı

Son on yıl içinde toplum kaynaklı MRSA suşların sebep olduğu enfeksiyonlarında artan bir tehlike söz konusudur (Palavecino, 2014). TK-MRSA'lar hafif deri enfeksiyonlarından hayatı tehdit eden enfeksiyonlara kadar değişik klinik tablolara neden olabilmektedir (Bayındır, 2012).

Metisilin direncinin yaygınlığı mecA geninin horizontal transferi ile gerçekleşmektedir. Son yıllarda artış gösteren TK- MRSA'ların da bu yolla yaygınlaştığı düşünülmektedir. İmmünsupresif hastalarda, intravenöz ilaç kullanıcılarında bu enfeksiyon kaynağına daha çok rastlanmıştır. Bu gözlemler bazı

risk faktörlerinin tanımlanmasını sağlamıştır. Bu doğrultuda; sporcular, kreşte kalan çocuklar, mahkumlar ve gardiyanlarda TK- MRSA' lar salgınlarda etken olmuştur. Laserasyon, abrazyon, dövme. IV ilaç kullanımı gibi deri travmaları, kozmetik vücut traşı, temiz olmayan aletlerin ortak kullanımı ile MRSA taşıyıcısı veya enfeksiyonu olan kişiler ile temas gibi risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Risk faktörü olarak tespit edilmemiş olan hayvan kaynaklı MRSA' larda vardır. Hayvanlarda taşıyıcı ya da bulaş kaynağı olabilirler (Bayındır, 2012).

Sınıflandırmada TK-MRSA ve HK-MRSA ayrımı zordur çünkü mikroorganizmaların kolonize olduğu yer ile hastalık bulgularının ortaya çıktığı yer farklı olabilmektedir. Yani hastanede gelişip toplumda ortaya çıkabilir. Bunun aksine hastanelerde hastalarda TK-MRSA kaynaklı enfeksiyonlarında da artış bildirilmektedir. Ayrıca hastane içinde de TK-MRSA enfeksiyonlu hastalardan diğer hastalara bulaş olabilmektedir. Çünkü MRSA kolay bir şekilde bulaşabilmekte veya kolonize olabilmekte olup birkaç ay veya yıl canlı kalabilmektedir. Sonuç olarak genetik ve epidemiyolojik özellikleri, klinik spektrum ve antibakteriyel dirençleri bakımından farklı olan TK-MRSA suşları hastanelerde de bulaşa neden olarak nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu durumlar tablonun daha karışık ve tanımlamanın daha güç olmasına neden olmaktadır. Genel olarak suşların ayrımında antibakteriyal direnç ve moleküler özellikler kullanılabilmektedir. Ancak bu iki grup MRSA'nın ayrımında literatürde tam bir görüş birliği yoktur. Buna karşın "Centers for Disease Control and Prevention (CDC) TK-MRSA enfeksiyonlarını şöyle tanımlamaktadır; hastanede yatmayan veya hastaneye yatışının ilk 48 saatinde gelişen, ilk bir yıl içinde hastanede veya bakım evinde kalmamış, diyaliz, cerrahi operasyon, kalıcı kateter veya alet uygulanmamış kişilerde gelişen MRSA enfeksiyonları olarak tanımlanmıştır (Bayındır, 2012).

Ek olarak enfeksiyona hazırlayıcı faktörler veya altta yatan hastalığı olanlarda gelişen HK-MRSA enfeksiyonları dışında gelişen, sağlıklı bireylerde görülebilen toplum kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan suşlar, hastane kaynaklılara göre daha virulan görülmüştür. Ayrıca TK-MRSA suşlarının bazılarının yayılım potansiyeli de daha hızlıdır (Bayındır, 2012).

4.3.6. Stafilokok enfeksiyonlarından korunma ve tedavi

Stafilokok enfeksiyonlarından korunmak amacı ile mupirosin gibi topikal ilaçların kullanımına ek olarak, enfeksiyonların tedavisinde genellikle rifampisin, siprofloksasin, trimetoprim–sülfometaksazol, vankomisin, teikoplanin, kunipristin/dalfopristin, linezolid, tigesiklin ve daptomisin kullanılmaktadır (Usluer, 2012).

Stafilokok enfeksiyonlarından korunma amacı ile şu an için en yetkili yöntem, başta doğru el yıkamak olmak üzere enfeksiyon kontrolünün temel prensiplerine uyulmasıdır (Bayındır, 2012; Gillaspy, 2009; Schneewind ve Missiakas, 2009).

4.3.7. Stafilokoklarda antimikrobiyal direnç

Antibiyotik direnç sorunu geçmişten bu güne sürekli değişkenlik göstererek dünya çapında etkili ve hayati tehdit eden bir sorundur. Bu sorun en başta hastane kaynaklı enfeksiyonların artışına ve devam eden süreçte artan toplum kaynaklı enfeksiyonlara da sebep olmuştur. Bu değişim ve gelişimler yeni antibiyotik geliştirilmesine ihtiyaç doğurmuş ancak geliştirilen yeni antibiyotiklere karşı da antibiyotik direnç sorun söz konusudur (Cunha, 2014).

Stafilokoklar içinde başlıca enfeksiyon etkeni MRSA'lardır. 1960'lardan günümüze kadar stafilokok kaynaklı metisilin direnç sorunu insan sağlığını tehdit etmektedir (Enright, 2004) Metisilin direncinde en önemli sorun, bu direnç gelişimini gösteren suşların tüm penisilinlere, betalaktam/betalaktamaz inhibitörü kombinasyonlarına, tüm sefalosporinlere, monobaktamlar ve karbapenemlere dirençli olabilmesindendir Bu suşların kolaylıkla makrolidlere, kinolonlara klindamisine, aminoglikozidlere, kloramfenikole ve tetrasiklinlere de direnç kazanabildiği gözlenmiştir (Gilmore ve ark, 2008). Betalaktamazlara dirençli metisilin benzeri antibiyotiklere de dirençli stafilokokların gelişimi, alternatif antibiyotiklere ihtiyaç geliştirmiştir (Cunha, 2014)

Yurt dışında genel olarak metisilin direnç oranları % 0.1 ile % 80 arasında gösterilmektedir (Cunha, 2014). Ülkemizde ise çeşitli alanlarda MRSA oranları %23-71 arasında, MRKNS oranları ise % 70' lere kadar verilmiştir (Tetik, 2012).

Stafilokok etkenli enfeksiyonlar için kullanılan vankomisine karşı ilk kez Japonya'da 1996 yılında orta duyarlı suşlar şeklinde ortaya çıkmıştır. Devamında ise diğer ülkerde de aynı sorun ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir. Ek olarak genelde vankomisine azalmış duyarlılık gösteren *S. aureus* suşları devam eden süreçte vankomisine yüksek dirençli şekilleri ile ortaya çıkmışlardır. Ardından glikopeptidlere dirençli *S. aureus* suşları ortaya çıkmıştır (Cunha, 2014). Nozokomiyal KNS suşlarıda glikopeptitlere azalmış duyarlılık gösteren ve günümüzde de dirençli suşlar şeklinde görülmüştür (Barbier ve ark, 2010). Vankomisin direncine oranla teikoplanin direnci daha kolay gelişir. Vankomisine duyarlı, teikoplanine azalmış duyarlılık gösteren suşlara giderek daha fazla rastlanmaktadır (Cunha, 2014).

Ülkemizin 2003-2004 yılında MRSA ve MRKNS suşlarında yüzdesel belirlenen direnç oranları, MRSA suşları için gentamisin, klindamisin eritromisin, ve rifampisine %50; MRKNS suşları için ise kilindamisin ve trimetoprim-sulfametoksazole % 45, gentamisin ve eritromisine karşı %50; direnç görülmüştür. (Tetik, 2012).

4.3.7.1. Metisilin dirençli stafilokoklar

1959 yılında penisilinaz üretimine karşı geliştirilen metisilin için 1961 yılında ilk kez direnç gelişimi olup MRSA'lar meydana gelmiştir. Geçen yakın zamanda metisilin direnci daha da yaygınlaşmıştır. Penisiline dirençli suşlarda olduğu gibi metisilin dirençli suşlar da beraberinde diğer antibiyotiklere direnç genlerini taşımıştır. Devam eden süreçte 1970'lerin sonunda klindamisin, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklin, rifampisin, aminoglikozidler gibi çok sayıda antibakteriyal ajana karşı da MRSA' lar tarafından direnç gelişimi başlamıştır. 1980'li yıllardan sonra MRSA suşları tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkeni arasında ilk sıralara

yerleşmiştir. Ayrıca daha önce hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları çok yaygın ve önemli kabul edilirken daha sonra toplumsal kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonlarının görülme sıklığı artarak dikkat çekmiştir. Günümüzde hastane kaynaklı *S. aureus*' ların yaklaşık %40' ında, toplum kaynaklı *S. aureus*'ların % 8-20' sinde metisilin direnci saptanmaktadır (Palavecino, 2014; Sowash, 2014).

4.3.7.2. Metisilin direnç mekanizmaları

Stafilokoklarda metisilin direnç gelişimi internal (kromozomal) ya da eksternal etki ile olabilir. Bu etkenler ve metisilin direnç mekanizmaları, son 10 yıldır metisilin direnç mekanizmasının anlaşılmasına yönelik olarak daha başarılı sonuçlar elde edilerek yapılmaktadır (Ünal, 2012; Gilmore, 2008).

Metisilin direnç mekanizmasını etkileyen çeşitli parametreler vardır. Bunlar genel olarak mecA geni, mecA geni varlığına bağlı PBP-2a yapımı ve bu enzim yapısının ekpresyonu ve regülasyonu ile ilgili faktörlerdir (Ünal, 2012; Gilmore, 2008).

Metisilin direncinin saptanmasında, oksasilin disk difüzyon, sefoksitin disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon, oksasilin tuz agar tarama, lateks aglunitasyon, kromojenik ve moleküler yöntemler kullanılabilmektedir (Zhu ve ark, 2006; CLSI 2011, CLSI 2014, Felten ve ark, 2002, Cavassini ve ark, 1999; Louie ve ark, 2000; Gilmore ve ark, 2008).

4.3.8. Antimikrobiyal direnç ve biyofilm

Biyofilm serbest yaşayan mikroorganizmaların uygun bir yüzeye tutunup kümeleşerek ürettikleri matriks ile oluşturdukları tabakadır. Ekstrasellüler matrikste mikroorganizmaların birbirlerine yapışmasını sağlayan bu yapı glikokaliks olarak da bilinir. Biotik ve abiotik yüzeylere adezyon yapan bu yapı Quorum sensing sinyal mekanizması molekülleri ile çevrede algılanırlar. Genel olarak bu mekanizma ile hücreler arası iletişimi sağlarlar (Tutar ve ark, 2015).

Mikroorganizmalar fagositozun yanı sıra fiziksel ve kimyasal stres altında biyofilm oluştururlar. Dahası bu formdaki bakteri grupları planktonik forma göre antibiyotiklere karşı daha dirençlidir. Bu direncin arttırılmasındaki en önemli faktör antibakteriyal ajanların etkinliğini azaltmasındandır (Tutar ve ark, 2015).

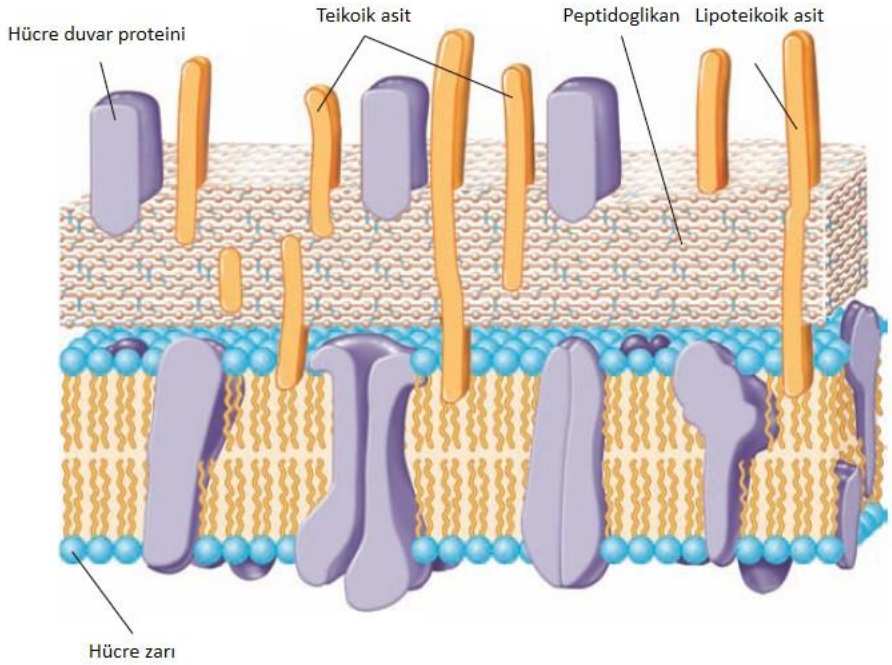
Yapılan çalışmalarda stafilokoklarda biyofilm enfeksiyonları gösterilmiştir. Stafilokoklar tarafından biyofilm oluşturulması, halk sağlığı için önemli bir sorun olan antibiyotik direncini arttırıp geliştirmektedir (Tutar ve ark, 2015).

4.3.9. Virulans faktörleri

Genel olarak Stafilokokların virulansında rol oynayan faktörler ise; hücre duvarı yapıları, kapsül, biyofilm oluşumu, yüzey proteinleri, enzimler ve toksinleridir (Gillaspy ve Jandolo, 2009).

4.3.9.1. Hücre duvarı yapıları

Bakteriler hücre duvarı özelliklerine göre Gram boyanma tekniğine dayalı olarak Gram pozitif ve Gram negatif olarak gruplandırılır. Stafilokoklar genel olarak kalın hücre duvar yapısına sahiptirler (60- 80 nm). Hücre duvar yapıları büyük oranda murein katman olarak adlandırılan peptidoglikandan oluşur. İçerik olarak çoğunluğunu oluşturan bu tabaka N- asetilglikozamin ve N- asetilmuramikasit polimerlerinden oluşur. Genel olarak peptidoglikan tabaka, stres bariyeri olarak bilinir (Şekil 5) (Schneewind ve Missiakas, 2009).



(Madigan, 2015)

Şekil 5: Gram pozitif bakterilerin hücre duvar yapısı

Bu duvar yapısı osmotik dengeyi sağlar ve bakteriye şeklini verir. İnsan vücudunda önemli savunma sistemlerinden olan lizozim enziminin hedefi de peptidoglikan tabakasıdır (Waldermar, 2015). Ayrıca insanda Gram negatif bakterilerin endotoksinlerine benzer aktivite gosterir, yani makrofajlardan sitokin salınımını uyarır, kompleman aktivasyonuna yol açar ve trombosit agregasyonuna neden olur. Polimorf nüveli lökositlerin enfeksiyon bölgesine toplanmasına ve abse oluşumuna yol açar (Lowy, 2010). Sadece Gram pozitif bakteri duvarında bulunan teikoik asit mukozalarda bulunan özgül reseptorleri (fibronektin, fibrinojen vs.) ile birleşerek stafilokokların konağa aderensini sağlar. Oldukça yüksek oranda immünojenik hücre duvar komponenti olan bu yapının *S. aureus*' ların nazal kolonizasyonunda biyofilm formasyonu ve glikopeptid antbiyotik duyarlılığında etkin rol oynadığı gösterilmiştir. Bu özellikleri ile *Staphylococcus* türlerinde hücre duvar yapısı fonksiyonel olarak oldukça etkin ve kompleks bir yapıdır (Gillaspy ve Jandolo, 2009).

4.3.9.2. Kapsül

Genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak kalınlığı değişen, hücre duvarının dış yüzeyindeki polisakkarit yapıdır. Bu ekzopolisakkarit yapıya satafilokokların birçok türünde rastlanmıştır. Suda çözünebilir, gevşek yapılı, monosakkarid, protein ve küçük peptidlerden oluşan ekstrasellüler yapı olan biyofilm tabakası özellikle KNS'lerin yaşamı için önem taşır. Bu ekstrasellüler yapı dokulara, enfekte kalp pilleri, periton ve intravenöz katater, greft ve proteaz şant gibi yabancı cisim ve materyallere bakterinin adherensini sağlamaktadır (Gemmell ve Lang, 2015).

Kapsül yapısı bakteriyofaj haricindeki küçük moleküllerin difüzyonuna izin verir. Fagositoza karşı koruma sağlar ya da ev sahibi aracılı antikorların bağlanmasını engeller (Gemmell ve Lang, 2015). Klinik öneme sahip *S. aureus* suşları kapsül antijenlerine göre 11 serotipe ayrılır. Bu klinik suşların çoğunluğu tip 5 ve 8 olarak tespit edilmiştir (Gillaspy ve Jandolo, 2009).

4.3.9.3. Biyofilm tabakası

Biyofilm stafilokoklar için önemli bir virulans faktördür (Drewry ve ark, 1990). Yapışkan amorf kapsül yapısında olan biyofilm, glikokaliks olarak da adlandırılmaktadır. Ek olarak slime terimi yerine de biyofilm terimi de kullanılmaktadır (Öçal, 2010; Gemmell ve Lang, 2015). Bu materyalin karbonhidrat oranı %40, protein oranı ise %27 dir (Doğan, 2014). Özellikle KNS'lerde görülen biyofilm bazı yazarlarca slime faktör olarak da adlandırılmaktadır. Biyofilm genel olarak mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların birbirlerine ve yüzeye yapışmasını sağlayan bir tabakadır. Fenotipik özellikleri, gen transkripsiyonuna ve mikroorganizmanın büyüme oranına göre değişiklik gösterir. Mikroorganizmalar bu ekstrasellüler matriks yapısı içine gömülüdür. Ayrıca bu yapının gelişiminde; quorum sensing moleküllerinin salınımı (çevresindeki besinlerin sınırlı hale getirilmesi ile) da etkilidir (Tetik, 2012). Biyofilm hücresel immün yanıtı baskılar ve antibiyotiklere karşı direnç gelişimini oluşmasına olanak tanır ve sonuç olarak bakterinin virulansını arttırır (Gillaspy ve Iandolo, 2009). Enfeksiyonları

eredikasyonu ile igili olarak da biyofilm önemli bir noktadır. Biyofilm üretenlerin eredikasyonu üretmeyenlere göre daha zordur (Öçal, 2010).

4.3.9.4. Stafilokoksik protein A (SpA)

S. aureus, *S. epidermidis*, ve *S.intermedius* stafilokok türleri arasında en çok protein A (Sp-A) üreten türlerdir. KNS' lerde ise Sp-A üretimi genel olarak görülmez. Hücre duvarı elementi olan bu protein genelde *S. aureus*' da görülmektedir (Öçal, 2010). Protein A'lar spesifik antikor oluşturabilir ve ayrıca IgG' nin Fc komponentine bağlanıp pseudoimmün bir reaksiyona sebep olabilir (Lee ve Bohach, 2004).

Sp-A' lar immüngloblinlerin fonksiyonunu sınırlayarak ya da bloke ederek fagositoza engel olup immün sistemi olumsuz etkileyebilmektedirler. Bu etki Sp-A' ya çok miktarda sahip *S. aureus*'larda, Sp-A içermeyen ya da az içeren diğer stafilokok suşlarına oranla fagositoza daha dirençli olduğunun görülmesi ile de desteklenmiştir. Sp-A' nın diğer bir fonksiyonu serum komplemanını inaktive etmesidir. Ek olarak kemotaktik ve mitojenik etkileri olup son zamanlarda kanser tedavisinde de kullanımı vardır (Öçal, 2010).

4.3.9.5. Enzimler

Stafilokoklar koagülaz, penisilinaz, nükleaz (DNaz), katalaz, lipaz, hiyalüronidaz (yayılma faktörü), fibrinolizin (stafilokinaz) gibi birçok enzim üretebilirler ve bu enzimler bir virulans faktörü olarak görev yaparlar (Tünger, 2012).

4.3.9.5.1. Katalaz

Stafilokokların tamamına yakını katalaz enzimini üretir. *S. sacchorolyticus* ve *S. aureus subsp. anaerobicus* stafilokok türleri içinde bilinen katalaz negatif türlerdir. (Ak ve ark, 2004). Bu enzimin katalizlediği reaksiyon hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürerek gerçekleşir. Reaksiyon sonucunda toksik etkili hidrojen

peroksitin ve serbest radikallerin inaktivasyonu gerçekleşir. Sonuç olarak bakterinin toksik hidrojen peroksitten korunmasını sağlamış olur (Becker, 2007).

4.3.9.5.2. Koagülaz

Koagülaz fibrinojeni fibrine çeviren ekstrasellüler bir proenzimdir. Bu enzim, stafilokoklarda, doğrudan patojeniteye etkili olduğundan önemli bir faktördür. Ayrıca özellikle *S. aureus*'un laboratuvar tanısında kullanılan önemli bir kriterdir (Becker, 2007). İki tip koagülaz enzimi vardır. Bunlar, serbest koagülaz ve bağlı koagülaz (clumbing faktör) şeklindedir. Serbest koagülaz fonksiyonel olarak hücre dışına salınır ve globulin yapıdaki plazma faktörü (CRF=coagulase-reacting factor = aktivasyon faktörü) ile birleşir. Bu birleşme aktivasyonu sağlayarak trombine benzer bir yapı olan stafilotrombini oluşturur. Stafilotrombin de fibrinojeni fibrine dönüştürüp plazmayı pıhtılaştırır. Bağlı koagülaz da fonksiyonel olarak stafilokokların hücre duvarına yapışık, serbestleşmeden fibrinojeni fibrine dönüştürür. Stafilokokların etrafında oluşturdukları kalın fibrin tabakası ile fagositoz gibi konak hücre savunma sistemlerinden korunur. Koagülaz enzimi bu etkisi ile de patojeniteyi arttırmaktadır (Tetik, 2012; Dönmez, 2011).

4.3.9.5.3. Lipaz

Trigliserolün, gliserole ve ağır aside hidrolizini katalizleyen, esterleşme ve ester transferini sağlayan enzim sınıfıdır. Kimyasal pozisyon özelliklerine dayalı iki yaygın lipaz enzimi tipi vardır. Bunlar 1- 3 spesifik lipaz ve non-spesifik lipaz dır. 1-3 spesifik lipaz Stafilokoklar tarafından üretilmeyip *Aspergillus, Mucor, Rhizopus* ve *Pseudomonas*'lar tarafından üretilen lipaz enzimi tipidir. Nonspesifik lipaz ise; gliserol parçalarının üç pozisyonundan, yağ asitlerini serbest bırakarak yağların tamamen serbest yağ asidi ve gliserole hidrolizi sağlar. Stafilokoklar' da da lipaz enziminin bu türüne raslanmaktadır (Saha ve Jordan, 2009). Stafilokoklardaki lipaz enziminin konak hücredeki lipidleri hidroliz ederek ciltteki yayılımının daha kolaylaşmasını sağladığı ve yüzeysel cilt enfeksiyonlarının gelişiminde etkin rol oynadıkları düşünülmektedir. Lipaz enzim yapısı stafilokok türlerinin büyük çoğunluğunda bulunmaktadır (Barkar, 2009).

4.3.9.5.4. Deoksiribonükleaz (DNaz)

DNaz ekzonükleaz aktivitesine sahip nükleik asitleri 3‟- fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. *S. aureus*'ların tamamına yakınında bulunan bir enzimdir, *S. aureus*'un diğer stafilokok türlerinden ayrımında etkili bir faktör olarak test edilmektedir. *S. aureus* suşlarına ek olarak, *S. schleiferi, S. intermedius* ve *S. hyicus* suşlarının çoğu tarafından bu enzim üretilmektedir. *S. epidermidis, S. simulans, S. carnosus* türlerinde ise DNaz aktivitesi çok azdır (Barkar, 2009; Doğan, 2014).

4.3.9.5.5. Proteaz

Proteaz, proteinleri peptid zincirlerine ya da serbest amino asitlerine parçalayan bir enzimdir (Appak, 2006). Özellikle, stafilokoklar içinde başlıca tür olan, *S. aureus* tarafından çeşitli ekstrasellüler proteaz enzimlerinin üretildiği görülmüştür. (Pancholi, 2002; Apak, 2006). Stafilokokal proteaz enzimi, bakterinin virulansına etkili olup patojenitesi için önemlidir. Etkisi *in vitro* olarak, konak savunma mekanizması üzerinedir. Süper antijen etkiye sahiptir (Appak, 2006).

4.3.9.6. Toksinler

Konak hücrenin bağışıklık sistemini etkileyen çok sayıda ekstrasellüler toksin üreten *Staphylococcus* türleri, toksinler sayesinde enflamatuar yanıt olan bölgelerde üremeye devam edebilirler (Ryan, 2004). Bunlardan bir kısmı toksik etkilerini enzimatik aktivite ile gösterirken, diğerleri süperantijen özellikleri nedeniyle sitokin salınımını indükler. Bu toksinler genel olarak; sitolitik toksinler, enterotoksinler, eksfoliyatif toksinler (eksfoliyatin), toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) olarak sıralanabilir (Kaya, 2011; Ryan, 2004).

4.3.9.6.1. Sitolitik toksinler

Çeşitli hücreler üzerinde sitolitik, deney hayvanlarında nekrotik ya da öldürücü etkili ekzotoksinlerdir (Kaya, 2011). Konak hücre membranına etkili yapılardır

(Cunha, 2014). İyi bir antijen özelliğine sahip bu toksinlere karşı organizmada nötralizan antikorlar oluşturulur. En iyi bilinen sitolitik toksin grubu ise hemolizin ve lökosidindir (Kaya, 2011).

4.3.9.6.1.1. Hemolizinler (Ekzotoksinler)

Hücre membramının lizizini sağlayan toksin yapılarıdır. Ökaryotik stoplazmik membrandaki çift katlı lipid tabakasında transmembran porları oluşturarak hücrenin ölmesine neden olurlar (Ryan, 2004).

4.3.9.6.1.1.1. Alfa toksin (Alfa hemolizin)

Hemen hemen tüm *S. aureus* suşlarının sentezlediği en güçlü membran hasar proteinidir (Ryan, 2004). Trombositler, lökositler, hepatositler, eritrositler için toksik olan ve düz kaslarda tahribata yol açan toksinlerdir (Tille, 2013). Bakteriyel kromozom ve plazmidlerde kodlanırlar. Geç logaritmik üreme safhasında hücre dışına salgılanırlar (Doğan, 2014; Dönmez, 2011).

4.3.9.6.1.1.2. Beta toksin (Beta hemolizin)

İnsanda birçok hücre için toksik özelliğe sahip, alfa toksin ile bağlantılı olarak çalıştığı düşünülen, hücre lizizi ile sonuçlanan membran fosfolipid hidrolizini katalizleyen bir toksindir. B grubu streptokoklar tarafından oluşturulan CAMP faktörü ile birlikte sinerjetik hemolizisten sorumludur (Tille, 2013).Koyun, insan ve tavşan eritrositleri üzerine hemolitik etkiye sahiptirler (Ryan, 2004).

4.3.9.6.1.1.3. Gama toksin (Gama hemolizin)

İlk defa 1938 yılında saf olarak elde edilen bu toksine, insan, tavşan ve koyun eritrositleri duyarlı, at eritrositleri ise dirençli bulunmuştur. Belirgin bir hemolitik etkisi vardır. Tüm *S. aureus* suşları tarafından üretilirler ve Panton valentine lökosidin (PVL) ile ilişkilidirler. Gama toksinin, beta toksin ile birlikte doku irritasyonuna neden olduğu görülmüştür. Yaygın olarak *S. aureus* türlerinin sebep

olduğu çeşitli deri ve derin doku enfeksiyonlarında, başlıca sorumlu faktörlerdendir (Tille, 2013).

4.3.9.6.1.1.4. Delta toksin (Delta hemolizin)

Tüm *S. aureus'*lar tarafından üretilir. *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus'* da delta toksin üreten stafilokok türleridir. Eritrosit, lökosit ve trombositlerin hücre membranları üzerinde hasara neden olur. Ancak eritrositlere sitolitik ve diğer memeli hücrelerine spesifik olmayan toksisite gösterir. *S. aureus*'lar tarafından sebep olunan çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu başlıca faktörlerdendir. Çeşitli kaynaklarda Delta toksin yapısının şiddetli enterit sonucu yaygın akut diare ve bağırsak enfeksiyonu patogenezinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Alfa ve beta toksinlerden farklı olarak immunolojik aktiviteye sahip değildirler. Yüzeyel etkin bir toksin olup deterjanlara benzer bir etki ile hücre membranlarını bozmaktadırlar (Tille, 2013; Cunha, 2014).

4.3.9.6.1.2. Panton valentine toksin (Lökosidin)

İnsan ve tavşan lökositleri ile makrofajları üzerine litik etkisi vardır. Mikrofajlar ve makrofajları degranüle eder. F ve S olmak üzere iki komponentten oluşur. Her iki komponentde antijeniktir. Lökositleri yok ettiğinden ve fagositozu engellediğinden dolayı virülansta rolü vardır. Toksin, hücre membranlarında porlar açarak permeabilitenin bozulmasına neden olmaktadır. Lökosidin üreten stafilokok kökenleri üretmeyenlere göre fagositoza daha dayanıklıdır. Beyaz kan hücrelerine toksik etkilidir. Genellikle metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'ların (MRSA ya da TK-MRSA) sebep olduğu, yumuşak doku enfeksiyonlarında etkilidir (Tille, 2013).

4.3.9.6.2. Enterotoksin

Stafilokokal hastalıklarda rol oynayan diğer bir önemli faktör enterotoksinlerdir. Başlıca 5 tip stafilokokal enterotoksin (SEs) vardır. Bu toksinler yüksek sıcaklıklara dirençlidir ve süper antijen olarak da sınıflandırılırlar (Gillaspy ve Iandolo, 2009).

Enterotoksinler mide ve bağırsak enzimlerinin hidrolizine dirençlidirler. Bu toksin yapıları sıklıkla süt ürünlerinde bulunup pseudomembranoz enterokolit, toksik şok sendromu ve normal immün yanıtı aşırı arttırıp doku tahribatı ve sistemik hastalıklarla ilişkilidirler (Tille, 2013).

4.3.9.6.3. Eksfoliyatif toksin (Eksfoliyatin)

Veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu epidermolitik toksin olarak bilinir. Bu toksin proteolitik özelliktedir ve epidermisin mukopolisakkarit tabakasını eriterek stafilokoksik haşlanmış deri sendromuna neden olur. Nikolsky belirtisi olan sağlam deride hafif temasta soyulma olur. Özellikle *S. aureus* ve *S. hyicus*'ta görülmektedir (Gillaspy ve Iandolo, 2009).

4.3.9.6.4. Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1)

Toksik şok sendromu toksini-1 kromozomal kaynaklıdır. Bu toksin yapısı proteolize karşı dirençli bir ekzotoksin yapısıdır. TSST-1 düşük konsantrasyonlarda endotelyal hücrelerinin geçirgenliğini artırırken, yüksek konsantrasyonda sitotoksik etki gösterir. TSST-1, vajina veya yara bölgesinden mukozal bariyerlere penetre olabildiği için toksik şok sendromu (TSS) sistemik etkisinden sorumludur (Schlievert ve ark, 2009).

4.3.9.6.5. Süperantijenler

Enterotoksin, toksik şok sendromu toksini ve eksfoliyatif toksini de içine alan ekzoproteinlerin bazıları süperantijen özelliktedir. T- lenfositler için yaygın sitokin üretimi ve mitojenik aktiviteyi teşvik edebilir ve major histocompatibility complex sınıf II (MHC-II) proteinine bağlanarak spesifik T lenfosit gruplarını aktifleştirebilirler. Aktifleşmiş hücre üretimi ve sitokin/ lenfokinaz, interferon-gaba (INF- gama) ve interlökin salınımı na yol açarlar. Geniş aktiviteye sahip olduğundan dolayı süperantijen olarak isimlendirilirler. Oluşan bu etkinliğin konak hücre yanıtını baskılayarak bakterinin virulansını arttırdığı düşünülmektedir. Buna ek olarak proteaz, lipaz, nükleaz gibi stafilokokal enzimlerin çoğunun doku yıkımı yolu ile yayılımı arttırdığı düşünülmektedir (Gillaspy ve Iandolo, 2009).

4.3.10. Stafilokokların tanımlanması

Pek çok klinik laboratuarda *S. aureus*' lar, kesin tanımlamadan önce muhtemel tanımlama için seçici besiyerindeki özelliklerine göre ayırt edilirler. 1945 yılında klinik mikrobiyoloji laboratuarında tek adımda patojen stafilokokların muhtemel tanımlaması için mannitol salt agar geliştirilmiştir. Mannitol salt agar besiyerindeki sarı kolonilerin gelişimi, yüksek tuz konsantrasyonunda mannitolü fermente edebilmesindendir. Bu yöntem *S. aureus*' ların muhtemel tanımlamasında kabul edilebilirdir. Ayrıca bu yöntem koagülaz negatif stafilokokların koagülaz pozitif stafilokoklardan ayrımında karakteristik bir fark olarak görülmektedir. Ancak bazı KNS' lerin de mannitol salt agarda sarı koloni oluşturduğu ve yakın zamanda epidemilerde, önemli insan patojeni olabildikleri görülmüştür. Bu yüzden KNS' lerin tanımlaması epidemilerin anlaşılmasında önemlidir (Shittu ve ark, 2006).

4.3.10.1. Kültivasyonu

Mikroorganizmaların bulundukları ortamdan belirli teknikler ile alınarak uygun bir besiyeri ortamına aktarılması ve geliştirilmesidir. Kültüvasyonun iki aşaması vardır, bunlar; izolasyon ve kültür yapma aşamalarıdır. Stafilokok cinsi üyelerinin izole edilebilmesi için uygun taşıma besiyerinden, ilgili seçici besiyerine ekim yapılıp ileri tanımlama aşamalarına geçilmeden önce, kültürel özelliklerine göre, uygun kolonilerden, mikroskopi için preparat hazırlanarak morfolojik analiz yapılmalıdır (Bilgehan, 2002).

4.3.10.1.1. İzolasyonu

Stafilokok türleri genel olarak başta burun mukozası, nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere bağırsak ve diğer mukozaların normal floralarında bulunan fırsatçı patojen bakteriler olup sıklıkla diğer mikroorganizmalar ile birlikte çevresel kaynaklı karşılaştığımız bakteri grubudur (Becker ve ark. 2014). Stafilokok türlerinin diğer mikroorganizma üyeleri ile karışık bulundukları çevreden izole edilmesi bu tür üyelerinin tanımlanması için ön şarttır. İzole edilen stafilokok cinsi grubu, mikrobiyolojik, biyokimyasal, serolojik ve moleküler teknikler ile tanımlanmalıdır

(Türkyılmaz, 2006). Tanımlamak istediğimiz bakteri tür grubunu izole edebilmek için çevresel alandan eküvyon çubuk yardımı ile steril peptonlu su kullanılarak sürüntü şeklinden örnek alınır ve kısa sürede laboratuvar ortamında kültürü yapılır (Bilgehan, 2002).

4.3.10.1.2. Kültürü

Staphylococcus türleri birçok besiyerinde üreyebilirler. En iyi üreme kanlı agarda olmaktadır. Kolonileri yuvarlak, düzgün, kabarık, mat, S tipinde olup *S. aureus*'un kökenlerinin çoğunluğunda sarı pigment ve beta hemoliz görülür. Diğer stafilokok türlerinin bazı kökenlerinde de sarı veya turuncu pigment ve hemoliz görülebilir. Stafilokoklar % 10 ve daha az NaCI içeren ortamlarda üreyebilirler. Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı fermentetif olarak parçalarlar ve son ürün olarak laktik asit yaparlar. Gaz oluşturmazlar. Mannitole etkisi değişken olup özellikle *S. aureus* bu şekere etkilidir. Diğer türlerin etkisi değişkendir (Tille, 2013; Bilgehan, 2002; Tünger, 2012; Gülay, 2012; Shittu, 2006).

4.3.10.2. Morfolojisi ve boyanma özellikleri

Kültivasyonu sağlanan stafilokokların morfolojik analizleri için mikroskobi gerekir. Gram boyanma özelliklerine göre 1000X'lik büyütme ile görüntüleme sağlanır. Stafilokoklar hücre duvar yapılarından dolayı Gram olumlu boyanma özelliğine sahip kok şeklinde bakterilerdir. 0.5-1.5µm (ortalama 1µm) çapında, tek tek, çiftler, veya düzensiz kümeler tarzında görünürler. *S. aureus subsp. anaerobius* ve *S. saccharolyticus* anaerobik olup genel olarak fakültatif anaerop bakterilerdir. Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz koklardır. Bazı kökenlerinde belirgin bir kapsül veya mukus katmanı olur. Genellikle kapsül oluşumu kültür işleminin ilk döneminde (3-4 saatlik dönemde) oluşur. Genç kültürler kuvvetli Gram pozitiftir, ancak eskiyen kültürler Gram negatif boyanabilir. (Bilgehan, 2002; Tünger, 2012; Gülay, 2012). Buna ek olarak Stafilokok kolonileri beta hemoliz oluşturabilirler. Ancak, bazen zon oluşumu, 24 saatte gerçekleşmeyebilir böyle durumlarda inkübasyon süresi uzatılmalıdır (Collaninno, 2009).

4.3.10.3. Biyokimyası

Stafilokokların büyük bir çoğunluğu ve mikrokoklar katalaz olumludurlar. Bu özellik onları *Streptococcaceae*' lerden ayrılan özellikleridir. Sitokromları bulunur, fakat çoğunlukla oksidaz negatiftir. Nitritleri nitratlara indirger. Lizostafin ile lizise duyarlı olmalarına karşın lizozime duyarlı değildirler. (Bilgehan, 2002; Tünger, 2012; Gülay, 2012)

4.3.10.4. Serolojisi

Serolojik test, klinik uygunluğu olmayan Stafilokok organizmalarının enfeksiyonları ile ilişkili olarak, antikorlar ile çapraz antijen reaksiyonu ve antijenler ile düşük özgüllüğü sonucudur. Hücre duvar komponenti olan teikoik asit antijenik özelliktedir. Uzun süreli ya da şiddetli stafilokok enfeksiyonlarında etkili bir antijendir (Tille, 2013).

4.3.10.5. MID 66 STAPH ID kiti ile tanımlama ve tiplendirme

Microgen Staph-ID kiti, kuyucuklar içinde standardilize edilmiş 12 biyokimyasal test ile stafilokok türlerinin identifikasyonu sağlayan bir kittir. Bu testte mikrokuyucuklar içinde ilk 6 kuyucukta (sırası ile sukroz, trehaloz, mannitol, N- Asetilglukozamin, mannoz, turanoz) karbonhidrat fermantasyonu varlığı ve asit oluşumu test edilir. 7. kuyucukta alkali fosfataz reaksiyon oluşumu test edilir. 8. ve 9. kuyucukta glukozidaz, 9a' da reaktif damlatılarak nitrattan nitrit oluşumu, 10. kuyucukta üreaz reaksiyonu, 11. kuyucukta arjinin hidrolaz reaksiyonu tespit edilir. 12. kuyucuk için de yine reaktif damlatılarak prolidolin arilaminaz hidroliz reaksiyonu test edilir.

Tablo 4: Microgen Staph-ID kitinin içerdiği testler

KUYU	REAKSİYON	TANIM
1	Sukroz	Fermantasyon ile Fenol red oluşumu
2	Trehaloz	
3	Mannitol	
4	N-Asetil Glukozamin	
5	Mannoz	
6	Turanoz	
7	Alkali Fosfataz	P-Nitrofenol Oluşumu
8	Glukozidaz	Nitrofenol oluşumu.
9	Glukoronidaz	P-Nitrofenol oluşumu.
9	Nitrat	Nitrit oluşumu.
10	Üreaz	Fenol red oluşumu
11	Arjinin	Ornitin oluşumu
12	PYR	L-Prolidonil-alfa-naftalomid hidrolizi

Microgen Staph-ID kiti renk sıkalasına göre pozitif negatif olarak kuyucuklarda oluşan renklerin değerlendirme sonuçları oluşturulur. Bu sonuçlar tüp koagülaz testi sonucu ve görünür koloni pigmentasyon gelişimi sonuçları ile birlikte Microgen tanımlama sistemi yazılımı ile veri tabanından istatistiksel oranlarla elde edilir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1 Gereçler

5.1.1.Mikroorganizmalar

5.1.1.1. İzole edilen mikroorganizmalar

Toplanan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar virulans faktörlerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının tespitinde kullanılmıştır.

5.1.1.2. Standart mikroorganizmalar

Staphylococcus aureus ATCC 25923
Staphylococcus aureus ATCC 29213
Staphylococcus aureus ATCC 43300
Staphylococcus epidermidis ATCC 35984
Bacillus subtilis ATCC 6633
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
Escherichia coli ATCC 25922
Enterococcus faecalis ATCC 29212
Staphylococcus epidermidis ATCC 11228

5.1.2. Besiyerleri

Pepton Water
% 5 Koyun Kanlı Agar (Blood Agar Base)
Mannitol Salt Agar (MSA)
Mueller-Hinton Agar (MHA)
Tryptic Soy Agar (TSA)
Brain Heart Infusion Broth (BHI)
Tryptic Soy Broth (TSB)

DNaz Test Agar

Skim Milk Agar

Tyributyrin Agar

5.1.3. Kimyasal ve organik malzemeler

Gikoz

Hidroklorik Asit

Etil alkol

Metil alkol

Liyofilize tavşan plazması

Hidrojen peroksit

Safranin

Agar

Kristal viyole

Lugol

Sulu fuksin

5.1.4. Araçlar ve gereçler

Eküvyon

Cam Tüp

Petri kutusu (14cm)

Petri kutusu (9cm)

Balon

Erlen

Mezür

Lam

Öze

Mikropleyt (96 kuyucuklu, F tabanlı, kapaklı, steril)

Vortex (IKA)

Işık Mikroskobu (OLYMPUS)

Su banyosu (NÜVE)

Buzdolabı (LG)

Derin Dondurucu (UĞUR)

Otoklav (HIRAYAMA)

İnkübatör (BINDER)

Pastör Fırını (BINDER)

Mikropleyt okuyucu (BIOTEK)

Kaba Terazi (KERN)

Hassas Terazi (PRECISA)

5.1.5. Tanımlama kiti

Microgen MID 66 STAPH ID kiti

5.1.6. Çözeltiler ve tamponlar

1 N HCl

%3'lik Hidrojen peroksit

%1'lik N,N,N′,N′-Tetramethyl-p-phenylenediamine

Fosfat tamponu (% 0.01M pH: 7.2)

5.1.7. Antibiyotikler

5.1.7.1. Antibiyotik diskleri

Amikasin (30µg)

Amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg)

Ampisilin (10µg)

Ampisilin/ sulbaktam (10/10µg)

Sefepim (30µg)

Sefotaksim (30µg)

Sefoksitin (30µg)

Seftriakson (30µg)

Sefuroksim (30µg)

Kloramfenikol (30µg)

Siprofloksasin (5µg)

Klindamisin (2µg)

Eritromisin (15µg)

Fusidik asit (10µg)

Gentamisin (10µg)

İmipenem (10µg)

Levofloksasin (5µg)

Linezolid (10µg)

Meropenem (10µg)

Moksifloksasin (5µg)

Mupirosin (200µg)

Netilmisin (10µg)

Kunopristin-dalfopristin (15µg)

Penisilin G (1IU)

Piperasilin/tazobaktam (100/10µg)

Rifampisin (5µg)

Teikoplanin (30µg)

Telitromisin (15µg)

Tetrasiklin (30µg)

Tigesiklin (15µg)

Tobramycin (10µg)

Trimetoprim-sülfametoksazol (1.25-23.75µg)

5.1.7.2. Toz antibiyotikler

Vankomisin

5.2. Yöntemler

5.2.1. Besiyerlerinin hazırlanması

%5 Koyun Kanlı Agar

Kanlı agar hazırlamak için, ticari olarak alınan Tryptic soy agar (TSA) besiyerini firma önerilerine göre hazırlandıktan sonra besiyeri 45°C' ye kadar soğutulmuş ve %5 defibrine koyun kanı ilave edilip homojen hale gelene kadar dikkatlice karıştırılarak petri kutularına dağıtılmıştır.

Skim Milk Agar

Skim milk (% 10) ---------- 25gr
Agar (%1) ---------- 10g
dH_2O ---------- 1000ml
115 °C' de 20 dk otoklavda steril edilmiştir.

Tributyrine Agar

Tributyrine agar base ---------- 23g
dH_2O ---------- 977ml
121 °C' de 15 dk otoklavlada seril edildikten sonra

Glycerole Tributyrine ---------- ----------10ml
İlave edilmiştir.
Hazırlanan besiyeri petrilere 12.5ml/petri olarak dökülmüştür.

Mikroorganizmaların saklanması için kullanılan besiyeri

% 20 Gliserol içeren Tryptic Soy Broth

Hazırlanan karışım 1.5mL olarak ependorflara aktarılarak, 121°C' de 15dk otoklavlanmıştır.

Diğer besiyerleri

Mueller Hinton Agar (MHA), Mannitol Salt Agar, DNaz Test Agar, Pepton Water, Tryptic Soy Agar, Tryptic Soy Broth besiyerleri üreticinin talimatlarına uygun olarak hazırlanmış ve steril edilmiştir.

5.2.2. Örnek alınan yerler

İstanbul'daki çeşitli semtlerden, para çekme makineleri, alış veriş merkezleri, toplu ulaşım araçları, umumi tuvaletler, asansör düğmeleri ve yürüyen merdiven bantları gibi insanların yoğun olarak temasta olduğu alanlardan örnekler alınmıştır.

Bu çalışmada kullanılan toplu kullanım alanlarının hastane bahçesi gibi hastanenin yakın çevresinden olmamasına ve örneklerin özellikle vatandaşların, toplu kullanılan alanlarında yoğun olarak bulunduğu saatlerde alınmasına, özen gösterilmiştir.

5.2.3. Örneklerin toplanması ve ekimi

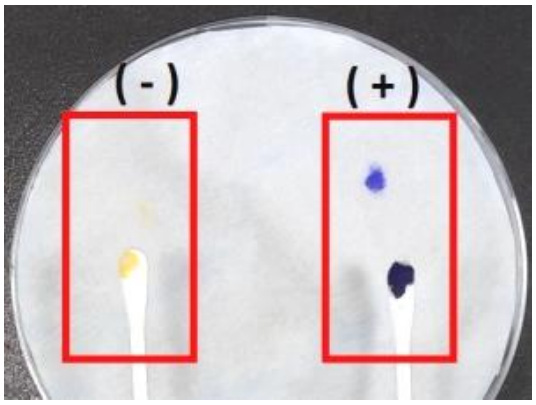
İstanbul Anadolu ve Avrupa yakasında çeşitli semtlerden, insanların yoğun olarak temasta olduğu alanlardan, steril edilmiş, 1mL peptonlu su içeren, orta boy tüp içerisindeki eküvyonla sürüntü şeklinde 500 adet örnek alınmıştır. Örnekler 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılarak, stafilokoklar için ayırt edici besiyeri olan mannitol salt agara (MSA) ekilmiş ve 37°C de 48 saat inkübe edilmiştir. Mannitolü fermente eden ve etmeyen koloniler ayrı ayrı özellikleri not edilerek TSA besiyerine pasajlanmıştır (Şekil 6, 7) (Appak, 2006).

5.2.4. Gram boyama

İzolatların Gram boyanma özelliklerinin tespiti için; petri kutusunda üremiş şüpheli kolonilerden, aseptik olarak alınarak, fizyolojik tuzlu su damlatılmış lam üzerinde süspanse edilerek lam yüzeyine yayılmıştır. Havada kurutulmuş ve alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Daha sonra preparat kristal viyole ile 1 dk, lugol ile 1 dk, %95' lik etil alkol ile 30sn, sulu fuksin ile 1dk muamele edilmiş her kimyasaldan sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. Boyanan preparatlar mikroskopta immersiyon objektifinde incelenmiş ve Gram pozitif kok olarak gözlenen mikroorganizmalar daha sonraki tanımlama aşamaları için çalışmaya dahil edilmiştir (York, 2007).

5.2.5. Oksidaz testi

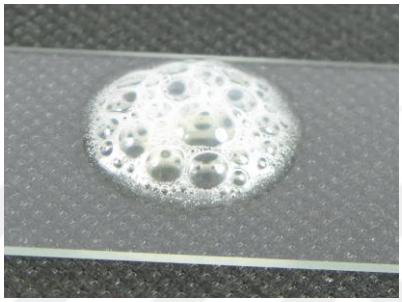
Taze olarak %1 oranında hazırlanan N,N,N′,N′-Tetramethyl-p-phenylenediamine ayracı, 0.22µm por çaplı membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Steril petrilere yerleştirilen, watman no1 filtre kağıdı üzerine pastör pipeti ile damlatılarak, filtre kağıdının tamamen ayraç solüsyonu ile ıslanması sağlanmış ve ıslanan filtre kağıtları üzerine, TSA da üretilen taze kültürde oluşan kolonilerden steril eküvyon ile alınarak filtre kağıdı üzerine sürülmüştür. İzolatın sürüldüğü yerdeki filtre kağıdında ya da eküvyon ucunda meydana gelen mor renk oluşumu pozitif sonuç olarak, renk oluşumunun gözlenmemesi negatif olarak değerlendirilmiştir (Resim 1). *P. aeruginosa* ATCC 27853 oksidaz pozitif kontrol suşu olarak, *Escherichia coli* ATCC 25922 oksidaz negatif kontrol suşu olarak kullanılmıştır (York ve ark, 2007).



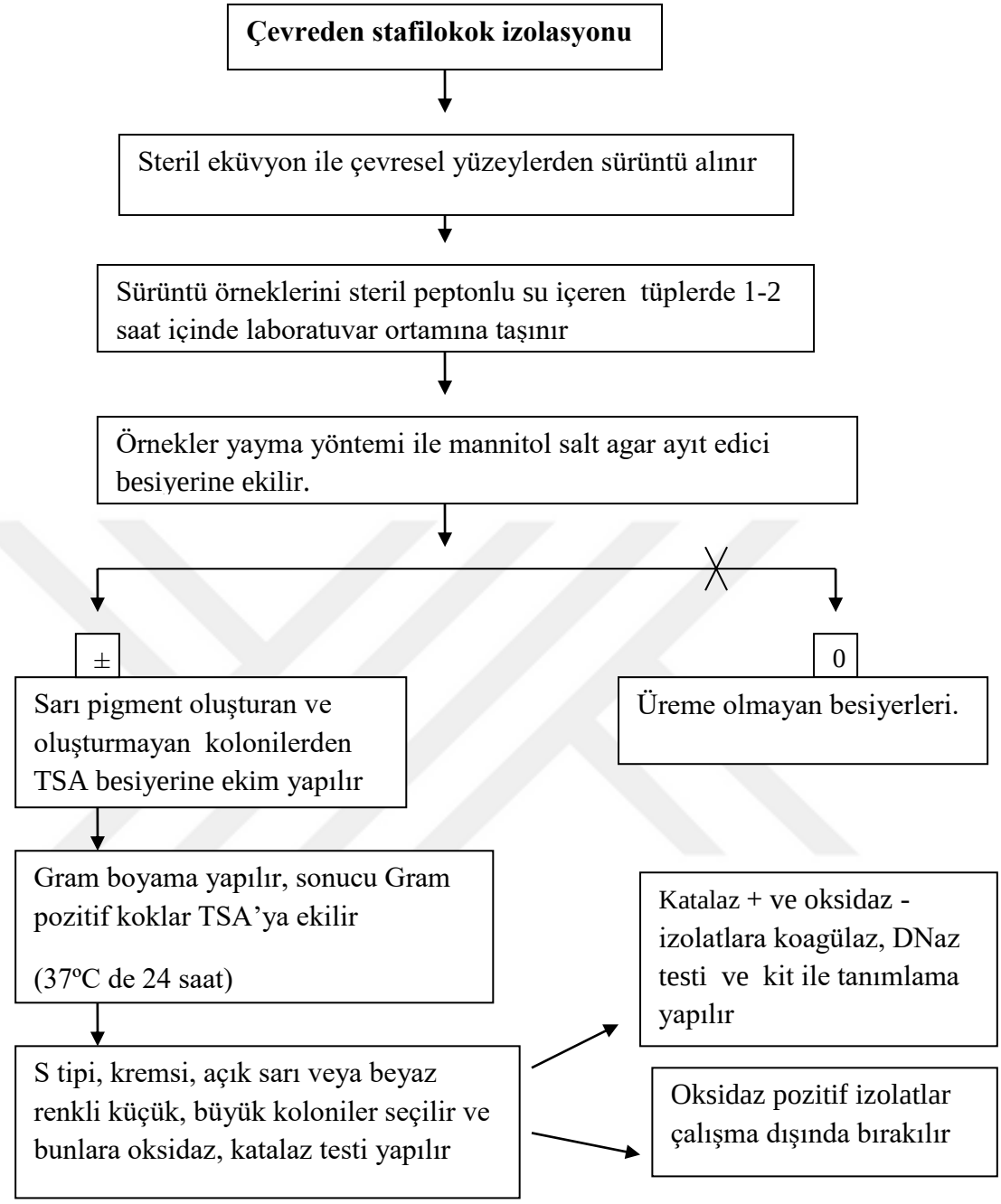
Resim 1: Oksidaz negatif ve pozitif mikroorganizmaların görünümü

5.2.6. Katalaz testi

TSA besiyerinde üretilmiş bakteri kolonilerinden alınarak lam üzerine yayılmıştır. Daha sonra mikroorganizma bulunan kısım üzerine bir damla %3'lük H_2O_2 damlatılmış ve hızlı bir şekilde meydana gelen gaz kabarcıkların oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Resim 2). Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 29213, negatif kontrol olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır(York ve ark, 2007).



Resim 2: Katalaz pozitif test sonucunun görünümü



Şekil 6: Çevreden stafilokok izolasyonu algoritması.

5.2.7. Koagülaz testi

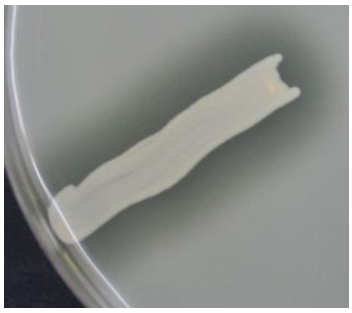
Ticari olarak alınan liyofilize tavşan plazması üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlanarak, serolojik tüplere 0.5mL olarak dağıtılmıştır. TSA besiyerinde taze olarak üretilen kültürden alınarak bu tüplere ekim yapılmış ve tüpler 37ºC'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon esnasında 4 saat boyunca her saat başı koagülasyon kontrol edilmiştir. Dört saat sonunda koagülasyon oluşmayan tüpler için inkübasyon 18 saate kadar devam ettirilmiştir. Koagülasyon gözlenen izolatlar koagülaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 3). Pozitif kontrol olarak *S.aureus* ATCC 29213, negatif kontrol olarak *S. epidermidis* ATCC 11228 kullanılmıştır (Becker, 2007).



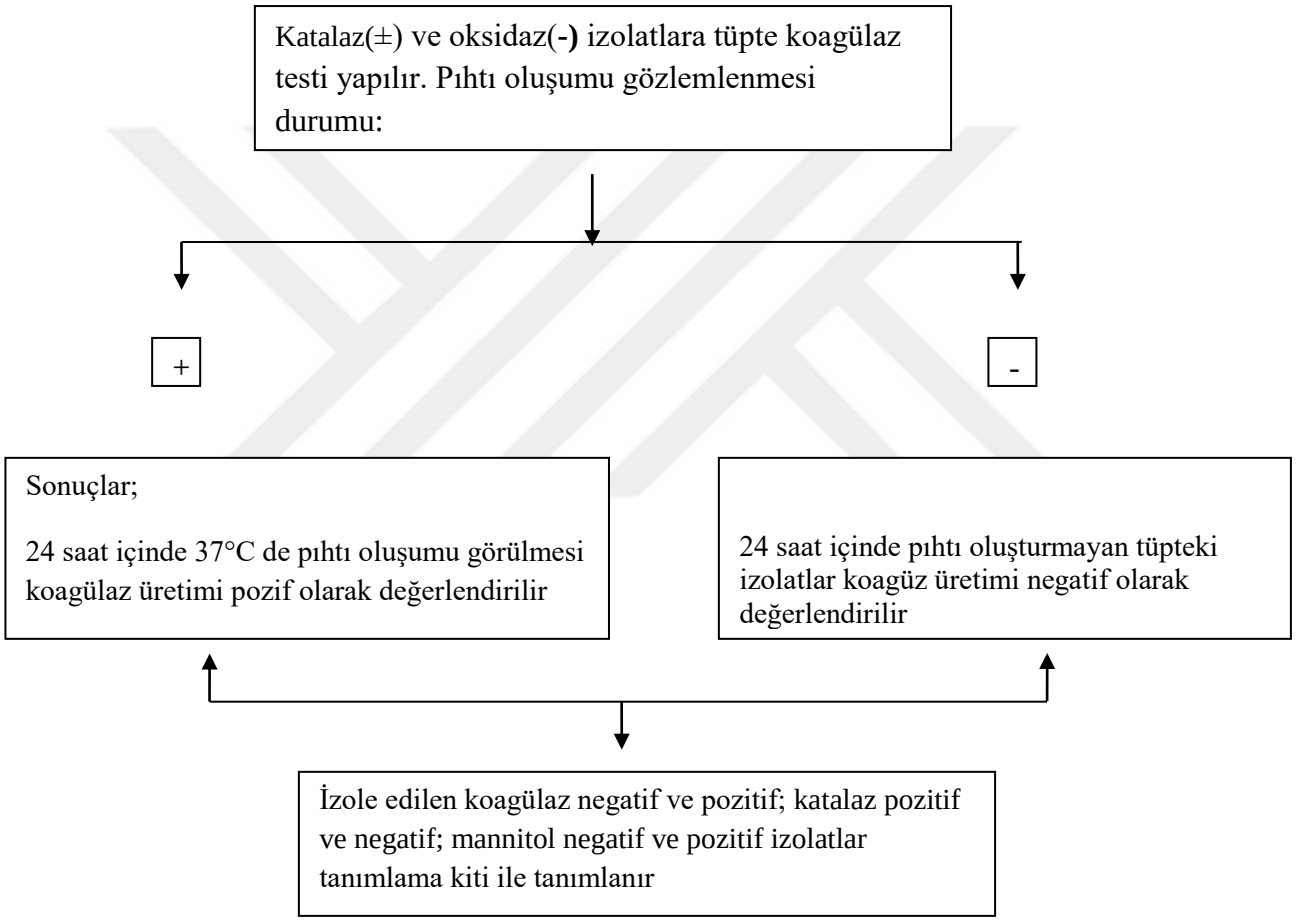
Resim 3: Koagülaz testi pozitif mikroorganizma görünümü

5.2.8. DNaz testi

DNaz aktivitesinin tespiti için ticari olarak satın alınan DNaz agar kullanılmıştır. Üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlanan bu besiyeri üzerine TSA besiyeri üzerinde üretilen bir gecelik kültürden inokulasyon yapılarak 37^0C' de bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından besiyeri yüzeyinde üreme kontrol edilerek besiyeri yüzeyine 1N HCI dökülmüş ve üreme bölgesi çevresinde berrak zon oluşumu kontrol edilmiştir (Resim 4). Zon oluşumu gözlenen izolatlar pozitif, görülmeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 29213, negatif kontrol olarak *S. epidermidis* ATCC 11228 kullanılmıştır (Appak, 2006).



Resim 4: DNaz testi pozitif sonuç görününümü



Şekil 7: Çevresel stafilokok izolatlarının tanımlanması

5.2.9. MicrogenTM Staph-ID kiti ile identifikasyon

TSA besiyerinde üretilen taze kültürden 1-2 koloni süspansiyon medyumuna McFarland 0.5 bulanıklığı elde edilecek şekilde inokule edilmiştir. Bu süspansiyondan 12 kuyucuklu test stribinin her bir kuyucuğuna 100 µL eklenerek, 37ºC'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kimyasal renk skalasına göre okunarak her bir kuyucuk için pozitif ve negatif sonuçlar kaydedilmiştir. Okumanın sonunda Nitrit (A ve B) ve PYR reagent damlatılarak kimyasal renk skalasına göre sonuçlar pozitif ve negatif olarak kaydedilmiştir. Elde edilen pozitif sonuçlar sonuç kartına yazılmış ve kartta yazılı olan puanlama sistemine göre her bir izolat için 5 haneli kodlar oluşturulmuştur. Bu kodlar tanımlama veri tabanına girilerek tür düzeyinde tanımlama elde edilmiştir (Tablo 5, 6, Şekil 8, 9, 10, Resim 1, 5) (http://microgenbioproducts.com/microgen-biochemical-identification-kits/#!)

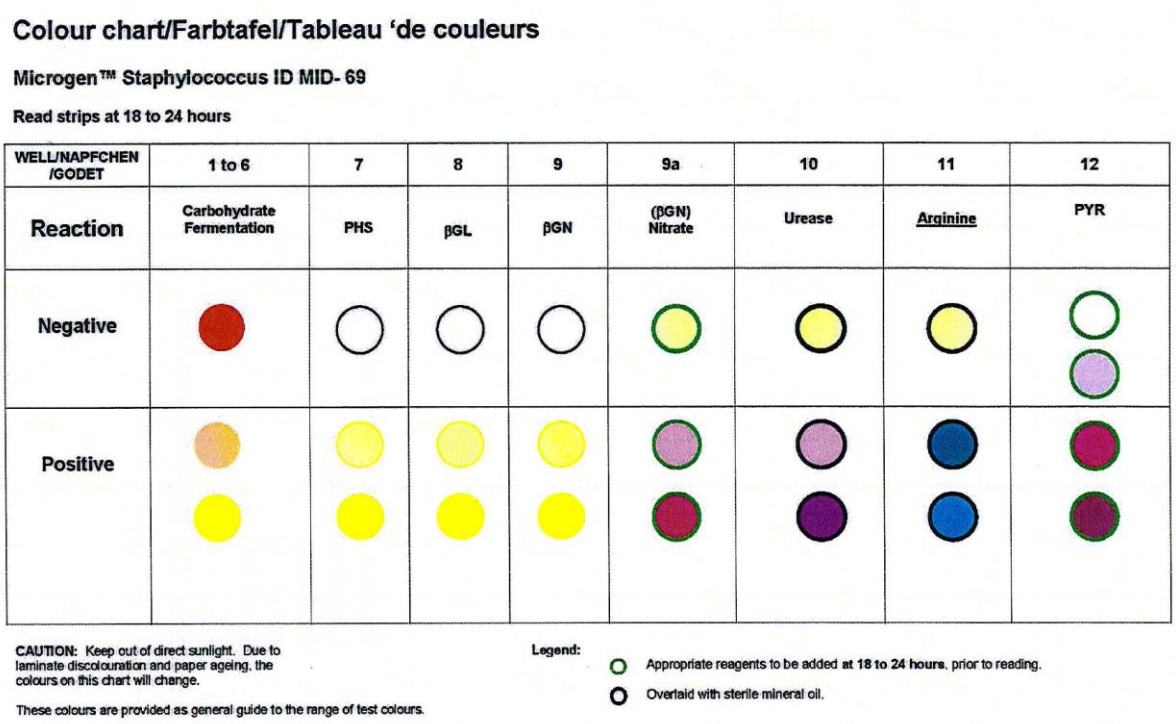
Tablo 5: MicrogenTM Staph-ID kiti uygulama tablosu

Doğrulama	Gram boyama, koloni pigment oluşumu, koagülaz test sonuçları not edilir.
Süspansiyon	Süspansiyon medyum ortamına tek koloni inokule edilir (0,5 Mac Farland bulanıklık).
İnokulasyon	Her bir kuyucuğa 3-4 damla(100 µL) damlatılır (37ºC'de 24 saat inkübasyon).
Yağ ile kaplama	10. ve 11. Ureaz ve Arjinin kuyucukları yağ ile kaplanır.
İnkübasyon derecesi ve süresi	35-37ºC'de 18-24 saat inkübe edilir.
1. Okuma	İnkübasyondan sonra kimyasal renk skalasına göre her bir kuyucuk için pozitif ve negatif sonuçlar kaydedilir.
Reaktiflerin damlatılması ve 2. okuma.	Nitrit (A ve B) ve PYR reaktif damlatılır. 9. kuyucuk: Beta Glukuronid testi okumasından sonra (İlk 24 saatlik), 1 damla nitrit(A), 1 damla nitrit(B) damlat ve 30-60 sn sonra Nitrat okumasını yapılır. 12. kuyucuk: 1 damla PYR reaktifini damlat ve 10 dk sonra okuma yapılır.
Son okuma	Sonuçları veri tabanında istatistiksel olarak oluştur.

Tablo 6: Microgen Staph-ID içeriğinde yer alan testler

KUYU	REAKSİYON	TANIM
1	Sukroz	Fermantasyon ile Fenol red oluşumu
2	Trehaloz	
3	Mannitol	
4	N-Asetil Glukozamin	
5	Mannoz	
6	Turanoz	
7	Alkali Fosfataz	P-Nitrofenol Oluşumu
8	Glukozidaz	Nitrofenol oluşumu.
9	Glukoronidaz	P-Nitrofenol oluşumu.
9	Nitrat	Nitrit oluşumu.
10	Üreaz	Fenol red oluşumu
11	Arjinin	Ornitin oluşumu
12	PYR	L-Prolidonil-alfa-naftalomid hidrolizi

(http://microgenbioproducts.com/microgen-biochemical-identification-kits/#!)



Colour chart/Farbtafel/Tableau 'de couleurs

Microgen™ Staphylococcus ID MID- 69

Read strips at 18 to 24 hours

WELL/NAPFCHEN /GODET	1 to 6	7	8	9	9a	10	11	12
Reaction	Carbohydrate Fermentation	PHS	βGL	βGN	(βGN) Nitrate	Urease	Arginine	PYR
Negative								
Positive								

CAUTION: Keep out of direct sunlight. Due to laminate discolouration and paper ageing, the colours on this chart will change.

These colours are provided as general guide to the range of test colours.

Legend:

Appropriate reagents to be added **at 18 to 24 hours**, prior to reading.

Overlaid with sterile mineral oil.

(http://www.kemitekskimya.com.tr/pdfler/4699.pdf)

Şekil 8: Microgen Staph-ID sistem için renk skalası.

MICROGEN STAPHYLOCOCCUS-ID

REPORT FORM

MICROGEN BIOPRODUCTS

Lab. No.

Specimen Type: _____

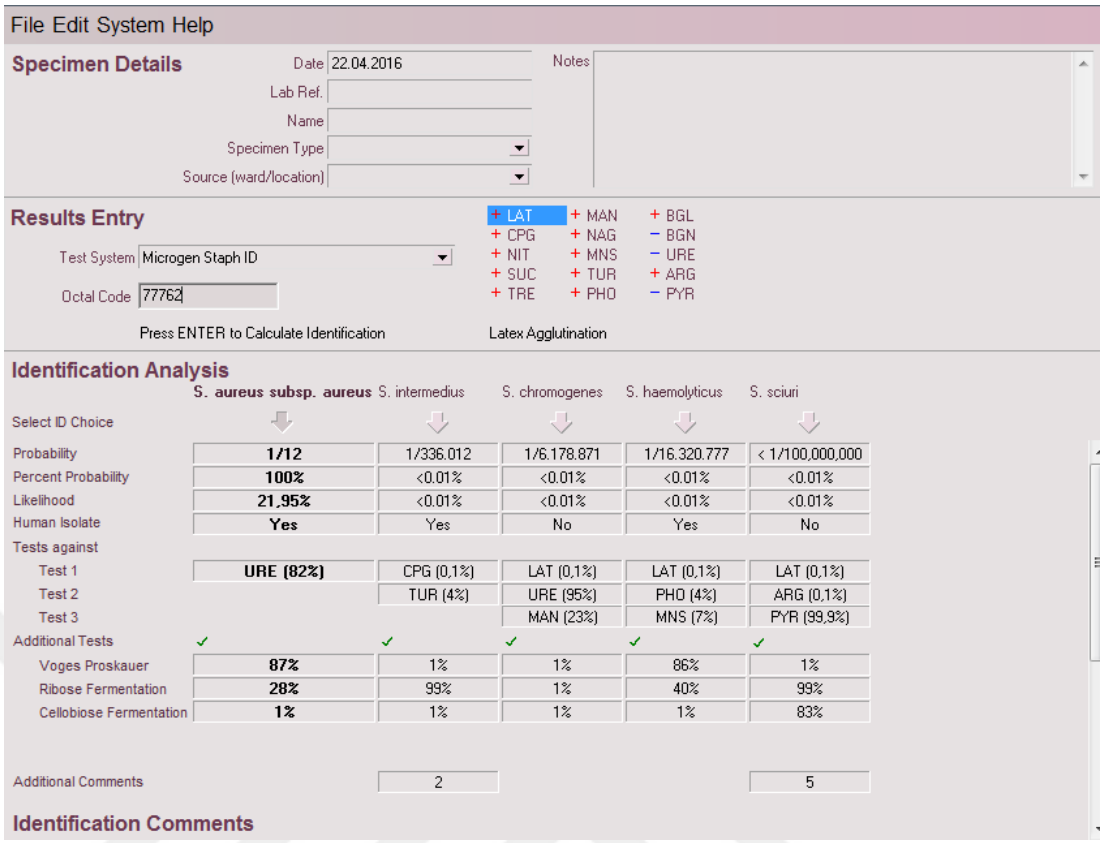
Date: _____

	Staphylococcus ID														
Well No.			9a	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	LAT	CPG	NIT	SUC	TRE	MAN	NAG	MNS	TUR	PHO	βGL	βGN NIT	URE	ARG	PY
24 hours															
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions															

Profile No: _____ Final Identification: _____

(http://microgenbioproducts.com/microgen-biochemical-identification- kits/#!)

Şekil 9: Microgen Staph-ID sistemi rapor formu



Resim 5: Microgen Staph-ID sistemi veri tabanı görüntüsü

5.2.10. Virulans faktörlerin tespiti

5.2.10.1. Biyofilm tespiti

Biyofilm faktör tespiti için mikro plak yöntemi kullanılmıştır. Tryptic soy broth besiyeri kullanılarak her bir izolat için 10^5 kob/ml yoğunlukta bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonları 96 kuyucuklu F tabanlı polisitiren pleytlerin çukurlarına 0.2 mL aktarılmıştır. Negatif kontrol kuyucuğuna tek başına besiyeri ilave edilmiştir. Mikropleytler 24 saat 37°C' de aerobik şartlarda inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrasında çok kanallı pipet ile dikkatlice boşaltılmıştır. Boş kuyucuklar 0.2 mL fosfat tamponu (PBS/ pH: 7.2) ile 3 kez yıkanmış (Kulaksız, 2000) ve yıkama işlemi sonrasında bakteri fiksasyonu için % 99 metanolden her bir kuyucuğa 0.2 mL aktarılarak ve 15 dk bekletilmiştir. Süre sonunda metanol uzaklaştırılmış (Stepanovic ve ark, 1999) ve kuyucuklar % 0.25 lik 0.2 mL safranin ile 5 dk muamele edilmiştir. Süre sonunda boya yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Daha sonra plate havada kurutularak (Türkyılmaz ve Eskiizmirliler, 2005) ELISA

okuyucuda 570 nm'de üç tekrar olacak şekilde okutulmuş ve bulunan değerlerin ortalaması alınmıştır. Uygulanan yönteme göre besiyeri içermeyen kontrol kuyucuklarının optik dansite değerleri ölçülerek ortalama değeri alınarak aşağıda belirtilen formüle göre eşik değer belirlenmiştir.

Eşik Değer = A + (3×B)

A: Kontrol kuyucuklarının O.D. ortalaması
B:Kontrol kuyucuklarının standart sapma değeri

Çalışılan izolatların optik dansite değeri ortalamaları eşik değerden büyük ise biyofilm pozitif olarak, küçük veya eşit ise biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *S. epidermidis* ATCC 35984 kullanılmıştır (Stepanovic ve ark, 1999).

5.2.10.2. Proteaz tespiti

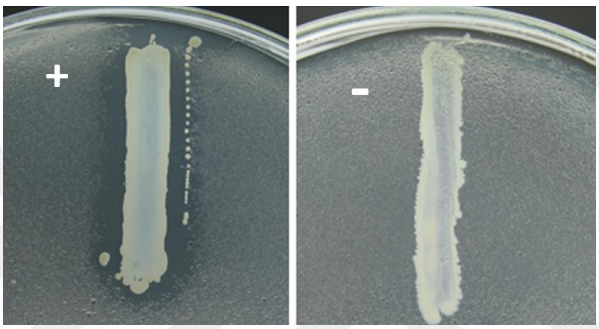
İzolatların proteaz üretme yetenekleri "skim milk agar" kullanılarak tespit edilmiştir. TSA besiyerinde üretilen taze kültürdeki kolonilerden alınarak skim milk agar besiyerine ekim yapılarak 37°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, üreme alanları çevresinde zon oluşumu incelenmiş ve ekim alanı çevresinde zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Resim 6). Pozitif kontrol olarak *Bacillus subtilis* ATCC 6633, negatif kontrol olarak da *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır (Appak, 2006).



Resim 6: Skim milk besiyerinde proteaz pozitif (+) ve negatif (-) kontrol görüntüsü.

5.2.10.3. Lipaz tespiti

TSA besiyerinde üretilen taze kültürdeki kolonilerden alınarak tributyrin agar besiyeri üzerine ekim yapılarak besiyerleri 37ºC'de 24 saat de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ekim çizgisi çevresinde oluşan şeffaf zon oluşumu lipaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 7). Pozitif kontrol olarak *Bacillus subtilis* ATCC 6633, negatif kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır (Appak, 2006).



Resim 7: Tributyrin agar besiyerinde lipaz üretiminin tespit edilmesi, soldaki resim pozitif (+), sağdaki Resim negatif (-) lipaz aktivitesini göstermektedir.

5.2.10.4. Hemolizin tespiti

TSA üzerinde üretilen taze kültürdeki kolonilerden alınarak %5 koyun kanlı olarak hazırlanan TSA besiyerine ekimi yapılmıştır. Besiyerleri 37ºC'de 24 saat inkübe edilerek inkübasyon sonrasında üreme bölgesi çevresindeki ışığı tam olarak geçiren şeffaf zon oluşumu beta hemoliz, ışığı tam geçirmeyen yeşilimsi bulanık zon oluşumu alfa hemoliz, hemoliz zonu oluşmamasıda non-hemolitik olarak değerlendirilmiştir (Türkyılmaz ve Kaya, 2006).

5.2.11. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Duyarlılık tespiti için disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemi tercih edilmiştir.

5.2.11.1. Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon testi CLSI direktiflerine uygun olarak yapılmıştır. İzolatlar TSA besiyerine pasajlanarak 24 saat 37^0C' de inkübe edilmiştir. Taze olan bu bakteri izolatlarından, FTS (Fizyolojik tuzlu su) içinde McFarland 0.5 standartına göre bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan eküvon yardımı ile alınarak 4mm kalınlığındaki MHA besiyeri yüzeyine yayılmış ve 15 dk geçmeyecek şekilde kurumaya bırakılmış ve süre sonunda, antibiyotik diskleri aseptik koşullarda pens yardımı ile besiyeri yüzeyine yerleştirilmiştir. Besiyerleri 35^0C' de 16-18 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda diskler etrafında oluşan inhibisyon zonları dijital kumpas ile mm olarak ölçülmüştür. İzolatların denenen antibiyotiklere olan duyarlılık durumları, CLSI kılavuzunda yer almayan eritromisin, linezolid, mupirosin, penisilin ve tigesiklin için EUCAST krtiterlerine göre diğer antibiyotikler ise CLSI kriterlerine göre değerlendirilerek tespit edilmiştir. (CLSI, 2014; http://www.tmc-online.org/userfiles/file/EUCAST_Disk_Difuzyon_Testi_El_Kitabi(v3_0_24_January_2014).pdf; http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_5.0_EUCAST_Disk_Test.pdf; Munro, 2007).

5.2.11.1.1. Sefoksitin disk difüzyon testi ile metisiline dirençli stafilokokların belirlenmesi

İzolatların metisilin direnci sefoksitin (30µg) kullanılarak 5.2.11.1 de anlatılan disk difüzyon yöntemi ile yapılmış ve oluşan zon mm cinsinden ölçülerek metisilin direnci tespit edilmiştir.

KPS izolatlarından, zon çapı 22 mm' den küçük olanlar dirençli, büyük ve eşit olanlar duyarlı, KNS izolatlarından, zon çapı 25 mm' den küçük olanlar dirençli, büyük ve eşit olanlar duyarlı olarak değerlendirilmişti (CLSI, 2014).

5.2.11.2. Agar dilüsyon yöntemi ile vankomisin duyarlılığının saptanması

Agar dilüsyon testi CLSI direktiflerine uygun olarak yapılmıştır. Öncelikle farklı konsantrasyonlarda vankomisin içeren (0.015-16µg/mL) MHA besiyerleri hazırlanark 4mm kalınlığında olacak şekilde petri kutularına dökülmüştür. İzolatlar TSA besiyerine pasajlanarak 24 saat 37^0C' de inkübe edilmiştir. Taze olan bu bakteri izolatlarından, FTS (fizyolojik tuzlu su) içinde McFarland 0.5 standartına göre bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlar FTS ile 1:10 oranında sulandırılarak (10^7kob/ml) inokulasyon için kullanılacak olan bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonlarından 200 µL alınarak 96 kuyucuklu U tabanlı mikropaklara dağıtılmıştır. Mikroplak kuyucuklarındaki bakteri süspansiyonları 96 adet 3mm çapında metal çubuk içeren replikatör (Resim 2) ile farklı konsantrasyonlarda vankomisin içeren besiyerleri üzerine aktarılmıştır. İnoküle edilen petriler 35ºC' de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İzolatların farklı miktarda vankomisin içeren besiyerlerindeki konsantrasyonlardaki üremeleri kontrol edilerek üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyon MİK olarak tespit edilmiştir. (CLSI, 2014).



Resim 8: Agar dilüsyon yönteminde MİK değerlerinin belirlenmeside mikroplaklardan besiyerlerine ekim işlemlerinde kullanılan replikatör.

6. BULGULAR

6.1. Örneklerin toplanması ve ekimi

Çevreden eküvyonla alınan örnekler mannitol salt agara ekilip inkübe edildikten sonra mannitol kullanımı (pozitif ya da negatif) olarak kaydedilmiştir (Resim 9) .

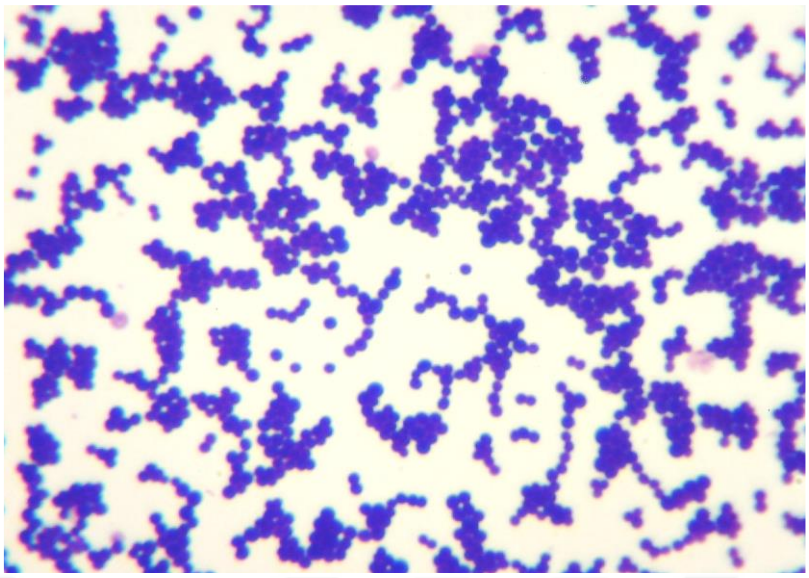


Resim 9: Mannitol salt agar besiyerinde mannitol negatif ve pozitif izolatların görünümü

6.2. İzolatların Özelliklerinin Belirlenmesi

6.2.1. Gram boyama

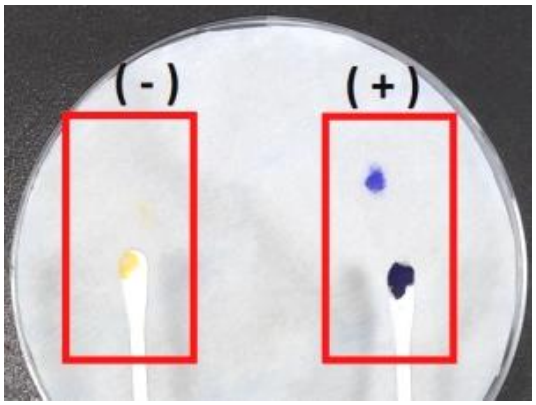
Çalışmamızda mannitol salt agarda üreyen kolonilerden Gram boyama yapılmış ve Gram pozitif kok görnümünüdeki mikroorganizmalar dahil edilmiştir (Resim 10).



Resim 10: Gram boyama yöntemi uygulanmış bir Stafilokok izolatının mikroskoptaki görünümü (1000x)

6.2.3. Oksidaz testi

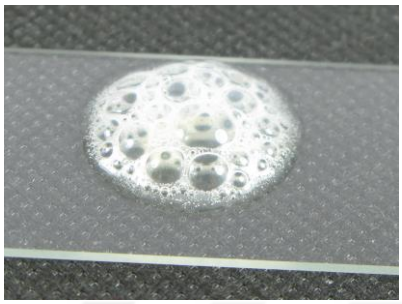
İzolatların *Staphylococcaceae* ailesi üyesi olduğunun doğrulanması için izolatlara oksidaz testi yapılmış ve oksidaz negatif olanlar çalışmaya dahil edilmiştir (Resim 11).



Resim 11: Oksidaz negatif ve pozitif mikroorganizmaların görünümü

6.2.4. Katalaz testi

İzolatların *Staphylococcaceae* ailesi üyesi olduğunun doğrulanması için izolatlara katalaz testi yapılmış ve katalaz pozitif olanlar çalışmaya dahil edilmiştir (Resim 12).



Resim 12: Katalaz pozitif test sonucunun görünümü

6.2.5. Koagülaz testi

Çalışmamızda yer alan 233 izolattan 38'i (%16) koagülaz pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 7, Resim 13).

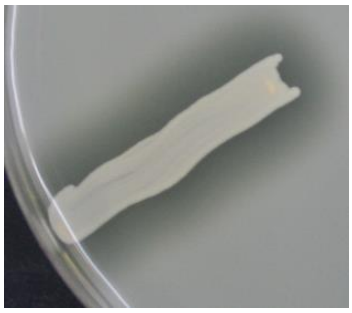


Resim 13: Koagülaz testi pozitif mikroorganizma görünümü

6.2.6. DNaz testi

İzolatların 46 (%20)'sı DNaz pozitif, 187(%81)'si DNaz negatif olarak bulunmuştur (Resim 14).

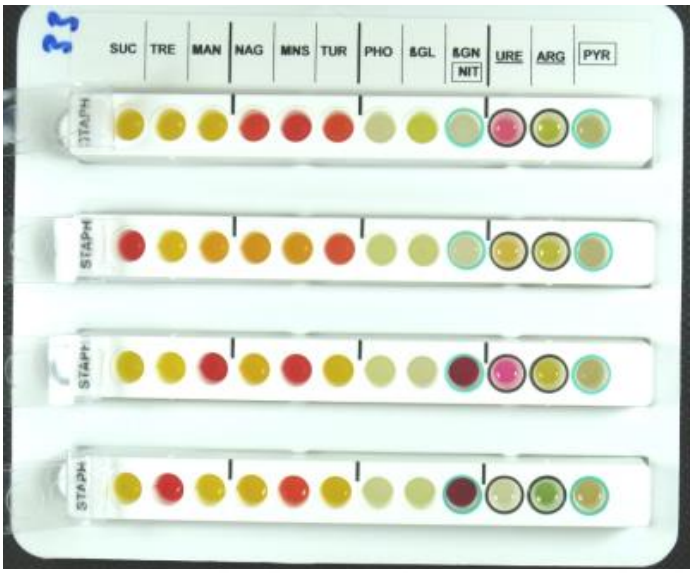
Elde edilen izolatlardan KPS'lerin %100 (38 tane)'ü, KNS'lerin % 4 (8 tane)'ü DNaz pozitif, olarak saptanmıştır.



Resim 14: DNaz testi pozitif olan bir izolatın görününümü

6.3. Stafilokokların Tür Tayininin Yapılması

Çevreden alınan örneklerden *Staphylococcaceae* cinsine ait 15 farklı türden toplam 233 izolat elde edilmiştir. Bu türlerden 3 tanesi alt tür olup, *S. capitis* türü ise iki ayrı alt tür içermektedir. 15 türün 4 tanesi KPS *(S. aureus, S. intermedius, S.schleiferi subsp. coagulans, S. hyicus),* 11 tanesi KNS *(S. haemolyticus, S. warneri, S. hominis subsp. hominis, S. chromogenes, S. saprophyticus, S. cohnii subsp. urealyticum, S. epidermidis, S. capitis, S. lentus, S. xylosus, S. sciuri)* olarak tespit edilmiştir. Total stafilokok izolatlarının 38 tanesi KPS olup 195 tanesi KNS'dir. 233 izolat içerisinde en yüksek oranda 3 tür sıra ile *S. haemolyticus* (%24), *S. warneri* (19.31*), S. hominis subsp. hominis* (%16) olarak bulunmuştur. Ayrıca *S. saprophyticus* (%5.15), *S. epidermidis* (%3.43) gibi klinik açıdan önemli olabilecek türlere de rastlanmıştır. Tüm izolatlar içinde KNS türlerinin oranı (%84), KPS türlerine(%16.30) göre yüksek bulunmuştur. KPS türleri içerisinde en yüksek oranda bulunan *S.aureus* türü (%61) olmuştur (Resim 15, Tablo 7).



Resim 15: Stafilokokların tanımlamasında 4 farklı izolat için biyokimyasal reaksiyonların sonuçlarının görünümü. Her kuyucuk farklı bir biyokimyasal reaksiyonu test etmektedir.

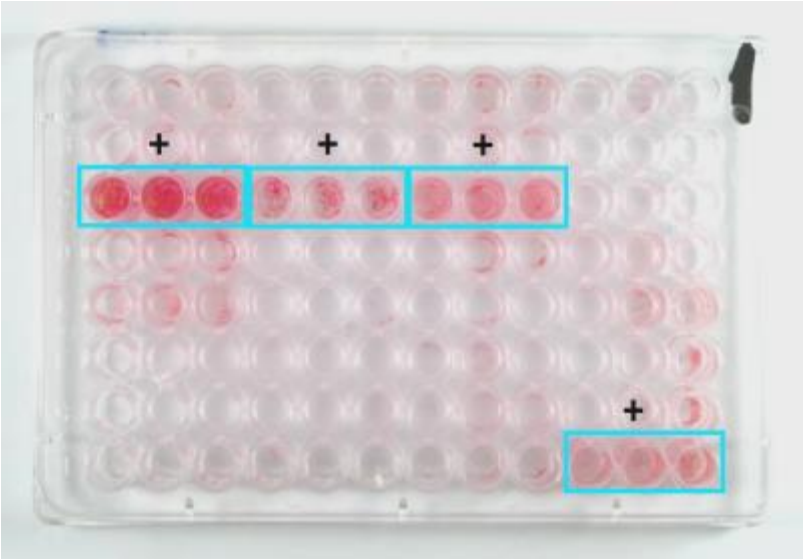
Tablo 7: *Staphylococcus* izolatlarının sayı ve yüzdeleri

Mikroorganizma	Sayı	%
S. haemolyticus	56	24.03
S. warneri	45	19.31
S. hominis subsp.hominis	37	15.87
S. aureus	23	9.87
S. chromogenes	13	5.57
S. saprophyticus	12	5.15
S. cohnii subsp. urealyticum	9	3.86
S. schleiferi subsp. coagulans	9	3.86
S. epidermidis	8	3.43
S. capitis subsp. urealyticus	4	1.71
S. capitis subsp. capitis	2	0.85
S. lentus	4	1.71
S. xylosus	4	1.71
S. intermedius	3	1.28
S. hyicus	3	1.28
S. sciuri	1	0.42

6.4. Virulans Faktörlerin Tespiti

6.4.1. Biyofilm tespiti

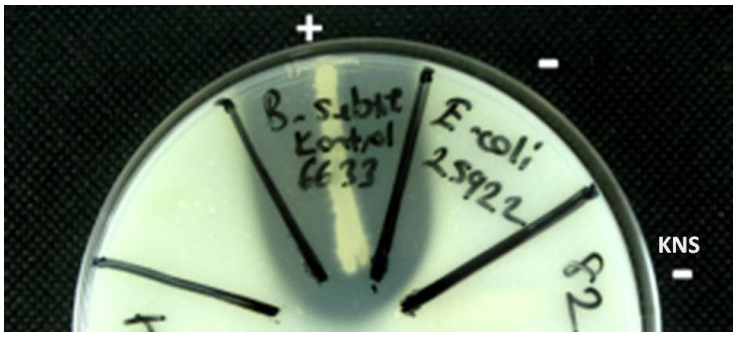
Çalışmamızda yer alan 233 izolatın 142'sinde (%61) biyofilm tespit edilmiştir (Resim 16, Tablo 8, 9). Biyofilm pozitif izolatların 29'u KPS ve 113'ü KNS'dir.



Resim 16: 96 kuyucuklu plakta % 0,25 safranin muamelesi. Muamele ile plağın görünümü, mavi kutucuk içindeki izolatlar biyofilm faktör pozitif olarak tespit edilmiştir).

6.4.2. Proteaz tespiti

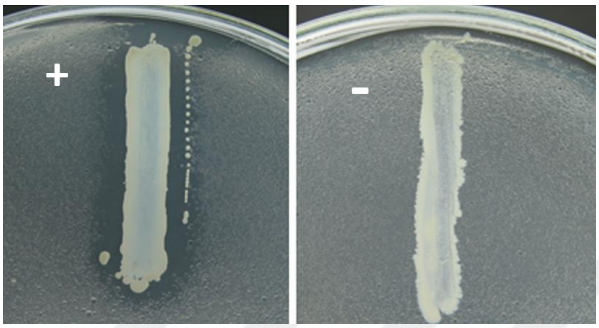
Çalışmaya alınan 233 izolatın 7'sinde (%3) proteaz aktivitesi tespit edilmiştir (Tablo 8, 9). Bu 7 izolat KNS grubunda yer almakta olup KPS'lerde proteaz aktivitesi tespit edilmemiştir (Resim 17).



Resim 17: Skim milk besiyerinde proteaz pozitif (+) ve negatif (-) kontrol ve bir KNS izolatının negatif proteaz görüntüsü.

6.4.3. Lipaz tespiti

Çalışmaya alınan 233 izolatın 217'sinde (%93) lipaz üretimi tespit edilmiştir. Bu izolatların 37'si KNS ve 180'i KPS'dir (Resim 18, Tablo 8, 9).



Resim 18: Tributyrin agar besiyerinde lipaz üretiminin tespit edilmesi, soldaki resim pozitif (+), sağdaki Resim negatif (-) lipaz aktivitesini göstermektedir.

6.4.4. Hemolitik aktivitenin tespiti

Çalışmaya alınan 233 izolatın 87'sinde (%37.3) hemoliz aktivitesi saptanmıştır (Tablo 12-13). İzolatların 55'inde alfa hemoliz, 32'sinde beta hemoliz görülmüştür. KPS'lerde alfa ve beta hemoliz gösteren izolatlar sırası ile 13 ve 14 iken KNS'lerde 42 ve 18 tanedir (Tablo 8, 9).

6.5. Türler Açısından Virulans Faktörleri

İzole edilen 233 adet stafilokok izolatı içinde sayısal olarak en fazla olarak izole edilen türler olan *S. haemolyticus, S. warneri* ve *S. hominis subsp. hominis* türleri için lipaz üretimi diğer test edilen virulans faktörlere göre daha fazla sayıda bulunmuştur. Bu üç izolatta virulans faktör yönünden, ikinci en yüksek oranda biyofilm üretimi görülmüştür. Üç izolatın da çoğunluğu non hemolitik yetenektedir. Ancak alfa ve beta hemoliz yapan türlerine de rastlanmıştır. Proteaz üreten *S.*

haemolyticus da yalnızca 1 izolatta ve *S. hominis subsp. hominis* alt türünün 5 izolatında proteaz üretimi görülmüştür (Tablo 8, 9).

İnsan sağlığını genel olarak en fazla tehdit eden stafilokok türü olan *S. aureus* izolatlarında biyofilm üretimi 18 (%78) izolatta görülmüştür. Bunun yanında tüm *S. aureus* izolatları lipaz yapma yeteneğine sahiptir ve 15 izolatta hemolitik aktivite tespit edilmiştir. Hemolitik aktivitenin 2'si alfa hemoliz, 13'ü beta hemolizdir (Tablo 8, 9).

İnsan sağlığı açısından en fazla tehdit oluşturan stafilokok türlerinden *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* türü için ise bulgular benzer nitelikte olup *S. saprophticus* izolatlarının tamamı lipaz üreten non hemolitik türler şeklinde bulunmuştur. Ayrıca çoğunlunun biyofilm oluşumu görülmüştür. İzole edilen tüm *S. epidermidis* izolatlarında da lipaz üretimi ve alfa hemolitik aktivite görülmüştür. Ayrıca çoğunluğunda (%62) biyofilm oluşumuna da rastlanmıştır. *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* türlerinde proteaz üretimi görülmemiştir (Tablo 8, 9).

Genel olarak bakıldığında ortalama olarak izole edilen tüm stafilokok suşlarında test edilen virulans faktör bulguları açısından en yüksek oranda lipaz üretimine ikinci olarak biyofilm üretimine rastlanmıştır. Proteaz üreten türlere nadir rastlanmıştır. Büyük oranda izole edilen stafilokok türlerinden, *S. haemolyticus, S. hominis subsp. hominis* türleri içinde proteaz üretenler tespit edilmiştir. Ek olarak 1 adet proteaz üreten *S.capitis* türü de izole edilmiştir. Hemolitik aktivite yönünden nonhemolitik türler çoğunluktadır. İkinci olarak alfa hemolitik türlere rastlanmıştır. Ayrıca beta hemolitik aktivite yeteneği gösteren türlere de rastlanmıştır (Tablo 8, 9).

6.6. Koagülaz pozitif ve koagülaz negatif türler açısından virulans faktörleri

Çalışmamızda izole edilen 38 adet (%16) KPS'lerin tamamına yakınında lipaz üretimi (%97) ve çoğunda biyofilm üretimi pozitif (%76) olarak bulunmuştur. Proteaz üreten KPS türüne rastlanmamıştır. Hemolitik aktivite yönünden değişkenlik söz konusu olup *S. aures* türlerinde en fazla Beta hemoliz; *S. schliferi* türlerinin tamamında alfa hemoliz; *S. intermedius* türlerinin 1 tanesinde alfa, 1 tanesinde beta,

1 tanesinde de nonhemoliz; *S. hyicus* türlerinde ise alfa ve non-hemoliz görülmüştür (Tablo 8, 9).

Çalışmamızda izole edilen 195 adet (%84) izole edilen KNS grubu (*S.haemolyticus, S.warneri, S. hominis subsp. hominis, S. saprophyticus, S epidermidis, S. capitis, S. lentus, S. xylosus, S. cohnii subsp. urealyticum, S. chromogenes, S. sciuri*) izolatların çoğunun lipaz üretimi (%92) ve biyofilm üretimi (%58) pozitif olarak bulunmuştur. Proteaz üreten KNS türlerine çok nadir rastlanmıştır. KPS grubunda olduğu gibi KNS grubunda da hemoliz aktivitesi yönünden değişkenlik söz konusu olup çoğunluğu nonhemolitik aktivite göstermiştir. Ancak bazı türlerinde (*S. haemolyticus, S. epidermidis*) alfa hemoliz aktivitesi daha yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 8, 9).

Tablo 8: KPS ve KNS izolatlarının virulans faktör yönünden (%) yüzdesel değerlendirme tablosu.

Grup	Sayı / %	**Biyofilm** Sayı / %	**Proteaz** Sayı / %	**Lipaz** Sayı / %	**Hemolitik Aktivite** Sayı / %		
					Alfa Hemoliz	Beta Hemoliz	Non Hemoliz
KPS	38/ 16	29/76	-	37/97	13/4	14/37	11/29
KNS	195/ 84	113/58	7/ 4	180/92	42/22	18/9	135/69

Not: Bu tabloda gruplar kendi içinde değerlendirilmiştir

Tablo 9: İzolatların tür bazında virulans faktörlerinin dağılımı

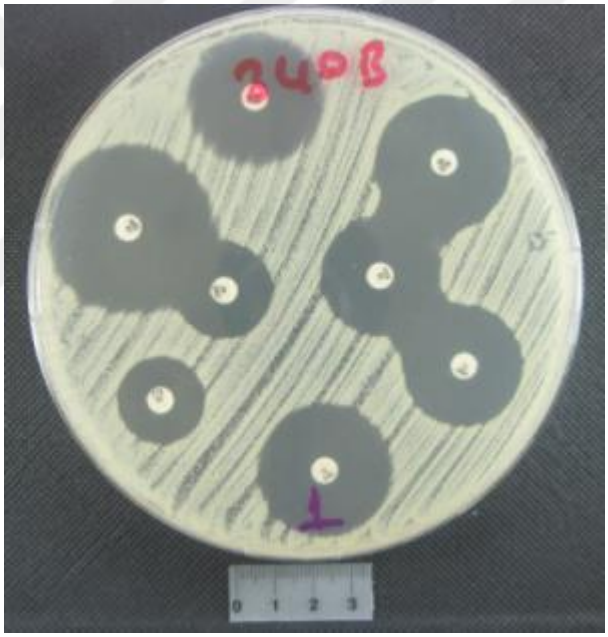
Tür	Biyofilm Sayı/ %	Proteaz Sayı/%	Lipaz Sayı/%	Hemolitik Aktivite Sayı/ %		
				Alfa Hemoliz	Beta Hemoliz	Non Hemoliz
S.haemolyticus	35/63	1/1,8	52/93	15/27	9/16	32/57
S.warneri	19/42	0	44/98	13/29	2/4	30/67
S. hominis subsp. hominis	20/54	5/14	33/89	2/5	1/3	34/92
*S aureus**	18/78	0	23/100	2/8,7	13/57	8/35
*S.intermedius**	2/67	0	3/100	1/33	1/33	1/33
*S.schleiferi subsp. coagulans**	6/67	0	8/89	9/100	0	0
S.saprophyticus	9/75	0	12/100	0	0	12/100
S. epidermidis	5/62,5	0	8/100	8/100	0	0
S.capitis subsp. capitis	1/50	1/50	2/100	0	0	2/100
S.capitis subsp. urealyticus	1/25	0	4/100	1/25	0	3/75
S.lentus	4/100	0	4/100	1/25	0	3/75
S.xylosus	3/75	0	2/50	0	0	4/100
S.cohnii subsp. urealyticum	5/56	0	6/67	0	2/22	7/78
S.chromogenes	10/77	0	12/92	2/15	3/23	8/62
S. sciuri	1/100	0	1/100	0	1/100	0
*S.hyicus**	3/100	0	3/100	1/33	0	2/67

*KPS grubu üyesi tür.

6.7. İzolatların Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Belirlenmesi

6.7.1. Disk difüzyon yöntemi

İzolatların disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 10 ve 11'de gösterilmiştir (Resim 15). İzolatlarda yüksek oranda penisilin, eritromisin, ampisilin, mupirosin, tetrasiklin ve kinupristin/dalfopristin dirençli suşlar tespit edilmiştir. Özellikle penisilin ve eritromisin direnci 15 türde de görülmüştür. En düşük oranda direnç imipenem, netilmisin ve tigesiklin için bulunmuştur. Total olarak bakıldığında test edilen antibiyotiklere dirençli suş sayısı büyük oranda KNS grubuna ait olarak görülmüştür.



Resim 19: Disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış bir izolatın görünümü

Tablo 10: İzolatların disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık sonuçları.

	%															
	AK		AUG		AMP		AMS		FEP		CTX		FOX		CRO	
	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN
S. haemolyticus	0	0	0	8.92	0	66.07	0	0	0	3.6	7.14	21.42	19.6	0	7.14	17.85
S. warneri	0	0	0	0	0	71.11	0	0	0	0	0	6.6	0	8.88	0	0
S. hominis subsp. hominis	0	2.7	0	2.7	0	48.64	0	0	0	0	24.32	5.4	0	16.21	16.21	2.7
S. aureus	0	4.3	0	27	0	82.6	0	0	0	0	8.7	4.3	0	8.7	0	0
S. chromogenes	0	0	0	15.3	0	69.2	0	0	0	0	0	23.07	0	23.07	15.4	7.7
S. saprophyticus	0	0	0	0	0	66.6	0	0	0	0	33.3	0	0	22.2	11.1	0
S. cohnii subsp. urealyticum	0	0	0	0	0	22.22	0	0	0	0	0	66.6	0	22.22	11.11	0
S. schleiferi subsp. coagulans	0	0	0	0	0	66.6	0	0	0	0	33.3	0	0	22.2	11.1	0
S. epidermidis	0	37.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12.5	0	0
S. capitis subsp. urealyticus	0	0	0	0	0	75	0	0	0	0	0	25	0	25	0	25
S. capitis subsp. capitis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. lentus	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. xylosus	0	15.3	0	0	0	69.2	0	0	0	0	0	23.07	0	23.07	7.7	15.4
S. intermedius	0	0	0	0	0	66.6	0	0	0	0	33.3	0	0	33.3	0	0
S. hyicus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. sciuri	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*OD: Orta Duyarlı, DRN: Dirençli, AK: Amikasin, AUG: Amoksisilin-klavulonik asit, AMP: Ampisilin, AMS: Ampisilin-sulbaktam, FEP: Sefepim, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, CRO: Seftriakson

Tablo 10: İzolatların disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık sonuçları (devamı)

	%															
	CXM		C		CIP		CD		E		FC		CN		IMI	
	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN
S. haemolyticus	7.14	1.78	3.6	0	7.14	1.78	3.6	3.6	0	67.9	0	35.7	1.78	1.78		
S. warneri	0	0	0	2.22	0	0	0	2.22	0	55.5	0	15.5	0	0	0	0
S. hominis subsp. hominis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43.24	0	0	0	0
S. aureus	0	0	0	0	0	0	4.3	0	13.04	17.39	0	13.04	0	0	0	0
S. chromogenes	0	7.7	0	0	0	7.7	7.7	7.7	0	46.15	0	38.4	0	7.7	0	7.7
S. saprophyticus	0	0	0	0	0	0	11.1	0	22.2	0	0	44.4	0	0	0	0
S. cohnii subsp. urealyticum	0	0	0	0	0	25	44.44	11.11	0	88.88	0	55.55	0	0	0	0
S. schleiferi subsp. coagulans	0	0	0	0	0	0	11.1	0	0	22.2	0	44.4	0	0	0	0
S. epidermidis	0	0	0	0	0	0	0	12.5	0	75	0	37.5	0	0	0	0
S. capitis subsp. urealyticus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. capitis subsp. capitis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. lentus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75	0	25	0	0	0	0
S. xylosus	0	7.7	0	0	0	7.7	7.7	7.7	0	46.15	0	38.4	0	0	0	0
S. intermedius	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66.6	0	0	0	0	0	0
S. hyicus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. sciuri	0	100	0	0	0	0	0	100	0	100	0	100	0	0	0	0

OD: Orta Duyarlı, DRN: Dirençli, CXM: Sefuroksim, C: Koramfenikol, CIP: Siprofloksasin, CD: Klindamisin, E: Eritromisin, FC: Fusidik asit, CN: Gentamisin, IMI: İmipenem

Tablo 10: İzolatların disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık sonuçları (devamı)

	%															
	LEV		LNZ		MRP		MXF		MUP		NET		QDA		P	
	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN
S. haemolyticus	0	7.14	0	1.78	0	1.78	1.78	1.78	10.71	8.92	0	0	14.28	1.78	0	74.4
S. warneri	0	0	0	0	0	0	0	2.22	13.3	17.77	0	0	0	22.2	0	80
S. hominis subsp. hominis	0	0	0	0	0	0	0	0	21.62	18.91	0	0	0	13.51	0	59.45
S. aureus	4.3	0	0	0	0	30.4	0	0	30.4	0	0	0	60.9	0	0	82.6
S. chromogenes	0	0	0	7.7	0	7.7	0	7.7	7.7	7.7	0	0	23.07	7.7	0	84.6
S. saprophyticus	0	0	0	0	0	0	0	11.1	0	22.2	0	0	22.2	11.1	0	77.7
S. cohnii subsp. urealyticum	0	0	0	0	0	0	0	0	11.11	44.44	0	0	11.11	0	0	100
S. schleiferi subsp. coagulans	0	0	0	0	0	0	0	11.1	0	22.2	0	0	22.2	11.1	0	77.7
S. epidermidis	0	0	0	0	0	0	0	12.5	0	25	0	0	0	25	0	50
S. capitis subsp. urealyticus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	75
S. capitis subsp. capitis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. lentus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75
S. xylosus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. intermedius	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33.6	0	0	0	66.6
S. hyicus	0	0	0	0	0	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	0	0	100
S. sciuri	0	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	100	0	100

OD: Orta Duyarlı, DRN: Dirençli, LEV: Levofloksasin, LNZ: Linezolid, MRP: Meropenem, MXF:Moksifloksasin, MUP: Mupirosin, NET: Netilmisin, QDA: Kinopristin/dalfopristin, P: Penisilin

Tablo 10: İzolatların disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık sonuçları (devamı)

	%															
	TZP		RD		TEC		TEL		TE		TGC		TOB		SXT	
	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN	OD	DRN
S. haemolyticus	0	3.6	0	1.78	0	1.78	3.6	5.35	0	23.21	0	0	0	1.78	0	1.78
S. warneri	0	0	0	2.22	0	0	0	0	0	24.4	0	0	0	0	0	2.22
S. hominis subsp. hominis	0	0	0	0	0	0	0	0	2.7	21.62	0	0	0	0	2.7	8.1
S. aureus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. chromogenes	0	0	0	7.7	0	7.7	7.7	7.7	0	30.7	0	0	0	0	0	7.7
S. saprophyticus	0	0	0	7.7	0	7.7	0	11.1	11.1	33.3	0	0	0	0	0	11.1
S. cohnii subsp. urealyticum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. schleiferi subsp. coagulans	0	0	0	0	0	0	0	11.1	11.1	33.3	0	0	0	0	0	11.1
S. epidermidis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37.5	0	0	0	0	0	0
S. capitis subsp. urealyticus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0
S. capitis subsp. capitis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. lentus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
S. xylosus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. intermedius	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33.3
S. hyicus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.3
S. sciuri	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0

OD: Orta Duyarlı, DRN: Dirençli, TZP: Piperasillin-tazobaktam, RD: Rifampisin, TEC: Teikoplanin, TEL: Telitromisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, TOB: Tobramisin, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol

Tablo 11: Test edilen antibiyotiklere göre, KNS ve KPS'lerin dirençlilik oranları*

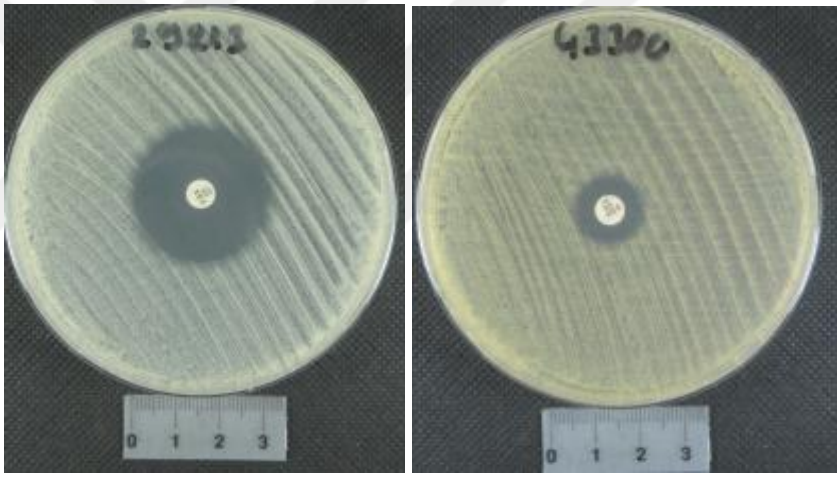
	KPS		KNS	
Antibiyotik	**Dirençli Suş Sayısı**	**Dirençli Suş Yüzdesi (%)**	**Dirençli Suş Sayısı**	**Dirençli Suş Yüzdesi (%)**
AK	1	0.4	4	1.7
AUG	6	2.6	8	3.43
AMP	29	12.44	81	34.8
AMS	0	0	32	14
FEP	0	0	2	0.9
CTX	2	0.9	24	10.3
FOX	6	3	30	13
CRO	0	0	5	2.1
CXM	0	0	1	0.42
C	0	0	2	0.9
CIP	0	0	6	2.6
CD	0	0	14	6
E	10	4.2	124	53.2
FC	8	3.4	71	30.4
CN	0	0	3	1.3
IMI	0	0	1	0.4
LEV	0	0	6	2.6
LNZ	0	0	3	1.3
MRP	0	0	2	0.9
MXF	1	0.42	4	1.71
NET	1	0.42	0	0
QDA	1	0.42	42	18.02
P	31	13.3	143	61.37
TZP	0	0	2	0.9
RD	0	0	4	1.71
TEC	0	0	2	0.9
TEL	0	0	4	1.71
TE	3	1.2	42	18.02
TEG	0	0	1	0.42
TOB	0	0	3	1.28
SXT	2	0.9	10	4.29

AK: Amikasin, AUG: Amoksisilin-klavulonik asit, AMP: Ampisilin, AMS: Ampisilin-sulbaktam, FEP: Sefepim, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, CRO: Seftriakson, CXM: Sefuroksim, C: Koramfenikol, CIP: Siprofloksasin, CD: Klindamisin, E: Eritromisin, FC: Fusidik asit, CN: Gentamisin, IMI: İmipenem, LEV: Levofloksasin, LNZ: Linezolid, MRP: Meropenem, MXF:Moksifloksasin, MUP: Mupirosin, NET: Netilmisin, QDA: Kinopristin/dalfopristin, P: Penisilin, TZP: Piperasillin-tazobaktam, RD: Rifampisin, TEC: Teikoplanin, TEL: Telitromisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, TOB: Tobramisin, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol

***Total izolat sayısına (233 adet) göre yüzde değerleri verilmiştir.**

6.7.1.1. Sefoksitin disk difüzyon testi ile metisiline dirençli stafilokokların belirlenmesi

Metisilin direnci tespiti için kullanılan sefoksitin disk difüzyon testi sonucunda, klinik önemi olan *S.aureus*'ların birinde direnç görülmüştür. Genel olarak 15 tür de %15.45 oranında metisiline dirençli suş (36 tane) görülmüştür. Sefoksitin direncinin en fazla görüldüğü türler sırası ile *S.haemolyticus* %31 (11 tane), *S. hominis subsp. hominis* %17 (6 tane), *S.chromogenes* %8.3 (3 tane) olarak tespit edilmiştir. Metisilin dirençli türlerden KNS türleri % 83 (30 tane), KPS türleri %17 (6 tane) orana sahiptir. Yani, metisiline dirençli KNS suşu, metisiline dirençli KPS suşlarına, göre daha yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 12, 13, Resim 19).



Resim 19: Sefoksitin disk difüzyon yöntemi ile metisilin direncinin tespit edilmesi. Soldaki Resim duyarlı, sağdaki ise dirençli mikroorganizmadır.

Tablo 12: Stafilokok izolatlarının türlerine göre metisiline dirençli izolat sayısı ve yüzdesi *

Mikroorganizma	Sayı	%
S.haemolyticus	11	19.6
S.warneri	4	9
S. hominis subsp.hominis	6	16.21
S aureus	1	4
S.chromogenes	3	23.07
S.saprophyticus	0	0
S.cohnii subsp. urealyticum	2	22.2
S.schleiferi subsp. coagulans	2	22.2
S epidermidis	1	12.5
S.capitis subsp.urealyticus	1	25
S.capitis subsp.capitis	0	0
S.lentus	0	0
S.xylosus	2	50
S.intermedius	1	33.3
S.hyicus	1	33.3
S sciuri	0	0

*Yüzde değerleri metisiline dirençli izolatlar içindeki değerlerdir.

Tablo 13: Metisilin direncinin KPS ve KNS gruplarına göre dağılımı*

	Sayı	%
KPS	5	13
KNS	30	15

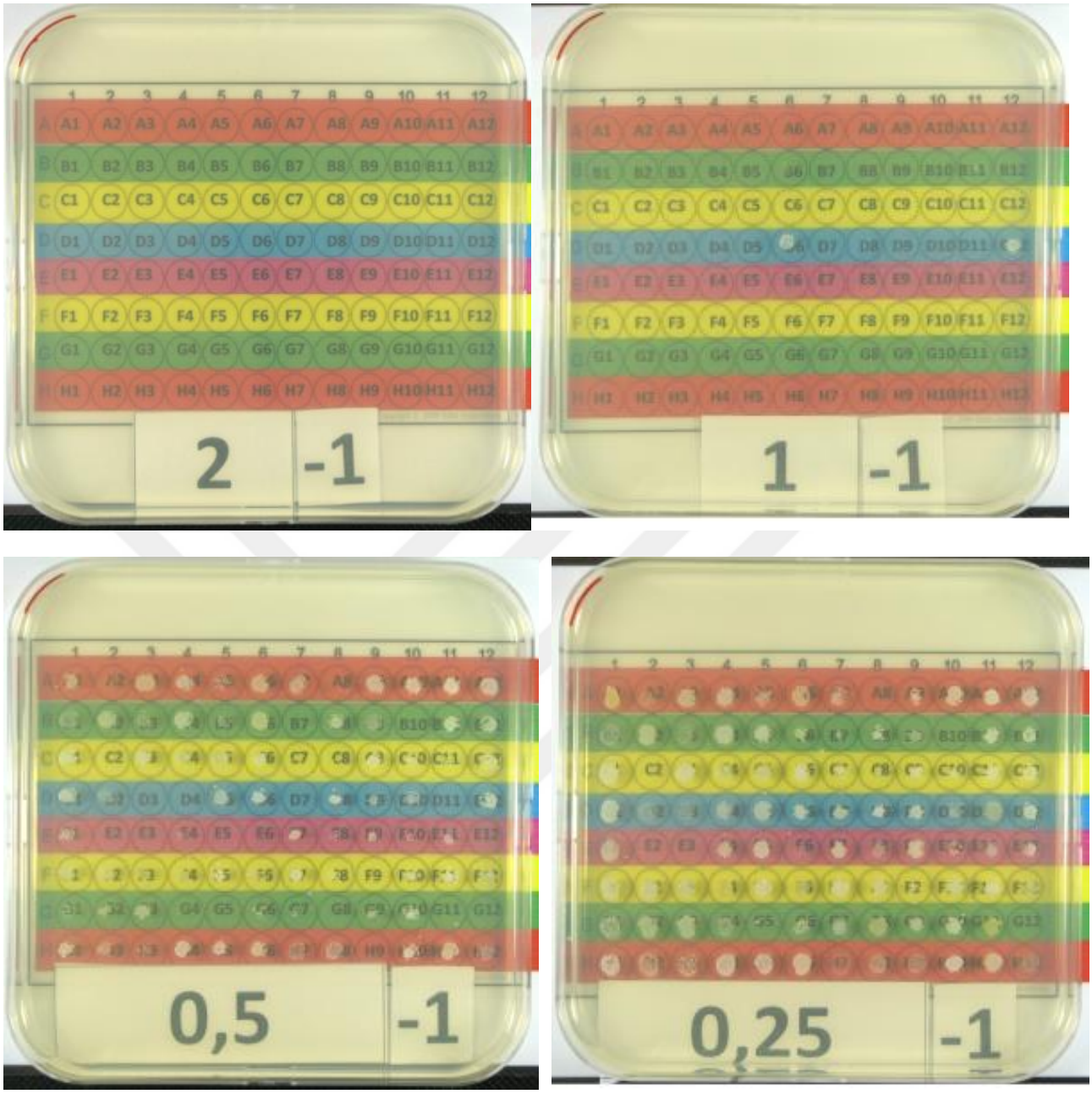
* Gruplar kendi içinde değerlendirilmiştir.

6.7.2. İzolatların vankomisin duyarlılığının agar dilüsyon yöntemi ile saptanması

İzolatların vankomisin duyarlılığı agar difüzyon yöntemi ile saptanmış ve tüm izolatlar vankomisine duyarlı olarak bulunmuştur. Sonuçlar tablo 14'te görülmektedir (Resim 20). İzolatların vankomisin için $MİK_{50}$ değeri 0.5 µg/mL iken $MİK_{90}$ değeri 1 µg/mL'dir.

Vankomisin MİK değerleri oransal olarak, 0.125 µg/mL (%3), 0.25 µg/mL (%12), 0.5 µg/mL (%72), 1 µg/mL (%13) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar CLSI vankomisin sınır değerlerine göre değerlendirilip tüm izole edilen stafilokok suşları vankomisine duyarlı bulunmuştur.

KNS türlerinde vankomisine karşı MİK değerleri; 1 µg/mL (%13), 0.5 µg/mL (%73), 0.25 µg/mL (%11), 0.125 µg/mL (%3) olarak tespit edilmiştir. KPS türlerinde ise vankomisine karşı MİK değerleri; 1 µg/mL (%16), 0.5 µg/mL (%68), 0.25 µg/mL (%16) olarak tespit edilmiştir. 233 stafilokok izolatında ortalama en fazla 0.5 µg/mL (% 73) MİK değeri görülmüştür.



Resim 20: 2, 1, 0.5 ve 0.25 µg/mL konsantrasyonlarda vankomisin içeren MHA besiyerinde 96 farklı stafilokok izolatının üreme durumları.

Tablo 14: Vankomisinin stafilokok izolatlarına karşı olan MİK değerleri *

MİK (µg/mL)	**KPS**	**KNS**
	%	%
1	%16	%13
0.5	%68	%73
0.25	%16	%11

*Gruplar kendi içinde değerlendirilmiştir

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Staphylococcus türleri, genel olarak insan ve hayvanların normal florasında bulunan, kolay üreyebilen ve yaygın olarak görülen mikroorganizmalardır. *Staphylococcus* cinsinde yer alan türlerin çoğunluğu gerek basit yüzeysel enfeksiyonlar ve gerekse hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara sebep olabilen fırsatçı patojen mikroorganizmalardır (Foster ve Georghgane, 2015; Schneewind ve Missiakas, 2009).

Staphylococcus cinsinde yer alan mikroorganizmaların temel ayrımı koagülaz özelliğine göre yapılmaktadır. Koagülaz pozitif türlerin sayısı oldukça az olmasına rağmen, bu cins içindeki en patojen tür koagülaz pozitif olan *S. aureus*'tur. Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) farklı özelliklere sahip olan birçok türü kapsamaktadır. Bu mikroorganizmalar, çoğunlukla fırsatçı patojen ve vücuda yerleştirilen yabancı cisimler üzerinde gelişerek enfeksiyonlara yol açmalarının yanısıra, günümüzde daha ciddi sorunlar yaratmaya başlamış olduğu anlaşılmış ve *S. aureus* ile birlikte hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenlerinden biri olmuşlardır (Becker ve ark. 2014).

Stafilokoklar, 1800'lerin sonlarından beri bilinmelerine rağmen, grup olarak oldukça değişim ve gelişim geçirmiş ve geçirmekte olan mikroorganizmalardır. Meydana gelen bu değişim ve gelişimler sonucu geçmişten günümüze stafilokoklar hakkında bildiğimiz pek çok bilgide de değişmeler görülmüştür. Özellike KNS'lerde yeni türler keşfedilmiş ve daha önceleri patojen olmayan ya da nadir olarak enfeksiyon etkeni olarak karşılaşılan türlerle etken olarak daha sık olarak karşılaşılmaya başlanmıştır. Günümüzde bazı KNS türlerinin mannitol fermentasyonu yaparak mannitol salt agarda sarı renkli koloniler oluşturduğu, *S. aureus* dışında bazı türlerin de koagülaz pozitif oldukları tespit edilmiştir (Bayındır, 2012; Ak ve ark, 2004; Shittu ve ark, 2006; Becker, 2007; Becker ve ark. 2014).

Mikroorganizmalarla olan ilişkimizde, çağımızda yaşadığımız en büyük sorun olan antibiyotik direnci *Staphylococcus* cinsinde de sıklıkla görülmektedir. Başlıca

S.aureus'da görülen ve betalaktam grubu antibiyotiklere direnci temsil eden metisilin direnci, bu durumun en tipik örneğidir. Metisilin direnci sadece *S. aureus*'ta görülen bir durum olmayıp insanlarda, hayvanlarda ve çevrede yer alan *Staphylococcus* cinsi türlerinde, yaygın olarak görülen bir sorundur. Hatta KNS'lerin metisilin direncinin yayılmasını sağlayan rezervuar olduğunu ileri süren görüşler bile vardır (Palavecino, 2014; Anstead ve ark, 2014; Sowash ve Uhlemann, 2014).

Stafilokokların enfeksiyon yapma esnasında birçok virulans faktörünü kullanmaktadır. Bunlardan en önemlileri hücre duvarı yapıları, kapsül, biyofilm oluşumu, yüzey proteinleri, enzimler ve toksinleridir. Stafilokoklarda patojeniteyi etkileyen virulans faktörleri ve mekanizmaları da tam olarak anlaşılamamıştır (Gillaspy ve Iandolo, 2009; Becker ve ark. 2014;).

Farklı stafilokok türlerinin izolasyonu ve tanımlanması; bu türlerin değişen ve gelişen antibiyotik duyarlılık ve virulans faktörü özelliklerinin daha iyi anlaşılabilmesi için çalışmaların arttırılması gerekmektedir. Özellikle hastane kaynaklı stafilokok türleri ile ilgili yapılan çok fazla sayıda çalışma olmasına rağmen, çevresel kaynaklı stafilokoklar ile igili yeterince çalışma yoktur. Stafilokoklarda antibiyotik duyarlılık ve virulans faktörleri üzerine yapılan çalışmalar genel olarak klinik izolatlar ile ilgili olup, ağırlıklı olarak antibiyotik duyarlılık ile biyofilm arasında ilişki araştırılmıştır. Ayrıca hayvan ve gıda kaynaklı türler üzerinde yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Ortak yaşam alanlarında olan stafilokoklar ve özellikleri hakkındaki sınırlı sayıdaki çalışmada çoğunlukla bilgisayar klavye ve fareleri üzerinde bulunan mikroorganizmalar ile ilgilidir (Gillaspy ve Jandolo, 2009; Becker ve ark., 2014; Uçan, 2014; Tel ve Keskin, 2009; Öçal, 2010; Widerström, 2010; Cunha ve ark., 2004; Shittu ve ark., 2006; Keskin ve ark., 2003; Türkyılmaz ve Kaya, 2006; Güldaş ve ark., 2013; Gündoğan ve Devren, 2010; Stepanovic ve ark., 2005; Alemu ve ark., 2015; Basso ve ark., 2014; Yücel ve Anıl, 2011). Çalışmamızda çevresel kaynaklı stafilokokların, yüzeyden izole edilip tanımlanması ve elde edilen muhtemel stafilokok izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespiti, biyofilm, lipaz üretimi, proteinaz üretimi ve hemoliz gibi virulans faktörlerinin tespiti üzerinde yoğunlaşmıştır

Bu konu ile ilgili başlıca çalışmalara bakıldığında;

Hastane personeli ve öğrencilerin burunlarından alınan örneklerle yapılan bir çalışmada; 240 burun örneğinden 84 mannitol pozitif stafilokok izolasyonu yapılmıştır. Bu izolatların 15'i KNS ve 69 adedi ise *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen mannitol pozitif KNS türleri; 7 adet *S. haemolyticus*, 2 adet *S. epidermidis*, 2 adet *S. hominis*, 2 adet *S. saprophyticus*, 1 adet *S. cohnii* ve 1 adet *S. warneri* şeklindedir (Shittu ve ark., 2006).

Otellerde çalışan kişiler ile yapılan bir çalışmada, personelin %10.2'sinin burunlarında *S. aureus* varlığı saptanmış ve bunların %0.4'ünde metisilin direnci tespit edilmiştir (Erdoğan ve Arslan, 2011).

İdrar örneklerinden izole edilen stafilokok izolatlarının çoğunun KNS türleri oldukları ve bunlardan biri olan *S. xylosus*'un proteaz ve hemoliz özelliğine sahipken lipaz üretmediği tespit edilmiştir (Al-Mathkhury ve ark., 2008).

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilolok türleri ile ilgili yapılan bir çalışmada, 139 *S. aureus* ve 94 KNS izolatı elde edilmiştir. Slime faktör *S. aureus*'larda %39 iken KNS'lerde %30 oranında saptanmıştır. *S. aureus*'ların %24'ü ve KNS'lerin %32'si metisiline dirençli olarak bulunmuştur (Yaşar ve ark., 2011).

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen KNS'lerde %75'in üzerinde slime faktör üretimi gözlenmiş ve slime üreten izolatların oksasilin, kloramfenikol ve levofloksasine karşı daha dirençli oldukları tespit edilmiştir. Vankomisin ve teikoplanine direnç gözlenmemiştir (Yıldırım ve ark., 2008).

Klinik örneklerden izole edilen KNS izolatları ile ilgili yapılan bir çalışmada, 16 KNS türü izole edilmiştir. Bunlar; *S. epidermidis, S. saprophyticus, S. caprae, S. haemolyticus, S. simulans, S. xylosus, S. hyicus, S. hominis, S. warneri, S. auricularis, S. lugdunensis, S. felis, S. capitis, S. chromogenes, S. carnosus* ve *S.*

gallinarum. Bu türler içinde en fazla *S. epidermidis* (17%), *S. saprophyticus* (15%), *S. caprae* (11%) ve *S. haemolyticus* (9%) türleri elde edilmiştir (Rahman ve ark., 2012).

Kan kültürlerinden izole edilen 236 KNS'nin %49'u *S. epidermidis*, %42'si *S. hominis*, %9'u *S. haemolyticus* olarak tespit edilmiştir. İzolatların tümünde metisilin direnci %82 oranında bulunmuştur. Vankomisin, teikoplanin, daptomisin, tigesiklin ve linezolide direnç tespit edilmemiştir. Penisiline %95, eritromisine %81, tetrasikline %66, klindamisine %61, gentamisine %42, levofloksasine %38, moksifloksasine %35 ve trimetoprimsülfametoksazole %20 oranında direnç saptanmıştır (Çiftçi ve ark., 2016).

Kan kültürü örneklerinden izole edilen KNS türleri *S.epidermidis* (%36), *S. choromogenes* (*S. hyicus subs. chromogenes*) (%12), *S. haemolyticus* (%10) dir. İzolatların %40'ında (20 adet) metisilin direnci saptanmıştır (Yiğit ve Aktaş, 2008).

Subklinik mastitis inekler ile yapılan bir çalışmada 108 adet KPS, 50 adet KNS izolatı elde edilmiş ve bunların DNaz, termonukleaz (TNaz), kapsül, biyofilm üretimi, hemoliz özellikleri incelenmiştir. KPS izolatlarının sırası ile 98 (%90), 72 (%66), 62 (%57), 76 (%70), 84 (%77); DNaz, TNaz, kapsül, biyofilm üretimi, hemoliz pozitif bulunmuştur. KNS izolatları için ise sırası ile 4 (%8), 11 (%22), 4 (%8), 26 (%52), 21 (%42) pozitif sonuç elde edilmiştir. Sonuç olarak KPS'ler, KNS'lere göre virulans faktör yönünden daha güçlü olarak bulunmuştur (Tel ve Keskin, 2009).

Süpermarketlerden toplanan et örnekleri ile yapılan bir çalışmada 208 KNS izole edilmiş ve bunların % 23.6'sının DNaz pozitif, % 0.5'inin TNaz pozitif, % 33.3'ünün protein-A'ya sahip oldukları, % 32.2'sinin slime faktör oluşturdukları saptanmıştır. Yapılan araştırmada slime oluşumunun KNS'lerde iyi bir virulans faktör olarak değerlendirilmesi gerektiği ve özellikle metisilin direncinin slime faktörü oluşturan KNS'lerde daha fazla olması slime faktör ile metisilin direnci arasında sıkı bir ilişki olduğu vurgulanmıştır (Öçal, 2010).

Mastitisli inek sütlerinden ve patolojik bozuklukları olan tavuklardan 60'şar adet KNS izole edilmiştir. Bu izolatlarda ve kontrol olarak sağlıklı inek ve tavuklardan izole edilen 20'şer adet KNS izolatında, slime oluşturma ve aderans özellikleri araştırılmıştır. Patojen KNS izolatlarının, kontrol olarak kullanılan izolatlara göre daha fazla oranda slime faktör ürettikleri ve daha aderan oldukları görülmüştür. Slime üretimi ve aderans özelliğinin, KNS suşlarının hastalık yapabilme özellikleri ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Keskin ve ark. 2003).

Sığırlardan, dış kulak iltihaplı köpeklerden, çeşitli enfeksiyonlara sahip tavuklarla yapılan bie çalışmada 180 stafilokok izole edilmiştir. Elde edilen türler; *S. aureus* (%29.4), *S. hyicus* (%16.7), *S. intermedius* (%3.9), *S. chromogenes* (%16.1), *S. lentus* (%13.3), *S. epidermidis* (%11.1), *S. simulans* (%7.8) ve *S. haemolyticus* (%1.7). Virulans faktörler ile ilgili pozitif sonuçlar; DNaz, termonukleaz (TNaz), kapsül varlığı, slime ve biofilm oluşumu, hemoliz ve hemaglutinasyon testi için KPS suşları % 42.2, % 43.3, %53.3, %77.8, %74.4, %58.9, %46.7 oranlarında pozitif ve KNS suşları için %54.4, %5.6, %13.3, %44.4, %36.7, %28.9ve %41.1 oranlarında pozitif olarak bulunmuştur. Sonuçta KNS'lerin KPS'ler kadar tehlikeli olabileceği görülmüştür (Türkyılmaz ve Kaya, 2006).

Subklinik mastitisli keçi sütünden elde edilen KNS'lerin %19 u *S. lentus*, %17' si *S. warneri*, %12' si *S. haemolyticus,* %8'i *S. xylosus,*%4'ü *S. schiferi*, %3'ü *S. caprae,* %2'si *S. hyicus* olarak tespit edilmiştir (Uçan, 2014).

Dana kıyması, tavuk ve köfte gibi gıda örneklerindeki *S. aureus* izolatlarında proteinaz ve lipaz aktivitesi saptanmış ve proteaz üretiminin, lipaz üretimine göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Gündoğan ve Devren, 2010).

Çiğ süt ve peynir örneklerinden 236'sı KPS, 94'ü KNS olmak üzere toplam 330 stafilokok izolatı elde edilmiştir. KPS türleri olarak *Staphylococcus intermedius* ve *S.aureus,* KNS türleri olarak S.*saprophyticus* ve *S.caseolyticus* izole edilmiştir. KPS

izolatları ampisilin % 62.4 ve penisiline %47 oranında, KNS izolatları ise metisilin ve penisiline %39 oranında dirençli bulunmuştur (Yücel ve Anıl, 2011).

Ortak kullanıma açık ve şahsi bilgisayarların klavye ve farelerinde bulunan mikroorganizmaların araştırıldığı bir çalışmada; 300 adet örnek alınmış ve 339 bakteri suşu izole edilmiştir. Bu izolatların 205 (% 60.47)'i KNS, 111 (%32.74)'i otoaglünitasyon gösteren stafilokoklar, 2 (%0.58)'si *S. aureus*, 2 (%0.58)'si diğer bakteriler ve mantarlar olarak tespit edilmiştir (Yener, 2011).

Bir üniversite hastanesindeki bilgisayarların klavye ve farelerinden alınan örneklerle yapılan bir çalışmada; sürüntü şeklinde alınan 206 örnekten, 344 bakteri izole edilmiştir. Bunlardan 83'ü KNS ve 49'u *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. Bu bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarına bakılmış ve KNS'lerin penisilin, amoksisilin, oksasilin ve ampisiline %73-87 aralığı gibi yüksek oranlarda dirençli olduğu bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarında da benzer olarak penisilin, amoksisilin ve oksasiline %80-87 aralığında dirençli olduğu bulunmuştur. Seftriakson'a %97, siprofloksasine %91, vankomisine %100' duyarlı bulunmuştur. Ayrıca *S. aureus* izolatları % 87.5 oranında 2 ya da daha fazla antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. KNS'lerde de çoklu antibiyotik direnci gözlemlenmiştir. Bilgisayarlar üzerindeki patojen mikrorganizma varlığı yazarlar tarafından endişe verici olarak yorumlanmıştır (Alemu ve ark. 2015).

Güney Brezilya'da bir dereden 14 stafilokok türüne ait 88 izolat elde edilmiştir. Bu türlerin %93.8'i KNS, %6.8'i KPS olarak tespit edilmiştir. Bunların içinde *S. cohnii* (%30.48) ve *S. haemolyticus* (%21.95) türleri en çok izole edilen türlerdir. İzolatların %37'sinin eritromisine, %27.27'sinin penisiline, %12.50'sinin klindamisine, %6.81'nin trimetoprim-sufometaksazola, %5.68'inin kloramfenikol'e ve %2.27'sinin norfloksasine dirençli olduğu bulunmuştur. Gentamisin ve siprofloksasine karşı dirence rastlanmamıştır (Basso AP ve ark. 2014).

Çevresel kaynaklı stafilokoklar hakkında yeterli çalışma olmasa da hastane izolatları, hayvan ve hayvansal ürünlerden elde edilen izolatlar ve bilgisayarlar ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmaktazıdır. Hastane personeli ve öğrencilerin burunlarından izole edilen mannitol pozitif 84 izolatın, 15'i KNS ve 69 adedi ise *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen mannitol pozitif KNS türleri; 7 adet *S. haemolyticus,* 2 adet *S. epidermidis*, 2 adet *S. hominis*, 2 adet *S. saprophyticus,* 1 adet *S. cohnii* ve 1 adet *S. warneri* şeklindedir (Shittu ve ark., 2006). Otellerde çalışan kişilerin %10.2'sinin burunlarında *S.aureus* varlığı saptanmıştır (Erdoğan ve Arslan, 2011), idrar örneklerinden izole edilen stafilokok izolatlarının çoğunun KNS türleri oldukları ve bunlardan birinin *S. xylosus* olduğu (Al-Mathkhury ve ark., 2008), klinik örneklerden 16 KNS türü izole edilmiştir, bu türler; *S. epidermidis, S. saprophyticus, S. caprae, S. haemolyticus, S. simulans, S. xylosus, S. hyicus, S. hominis, S. warneri, S. auricularis, S. lugdunensis, S. felis, S. capitis, S. chromogenes, S. carnosus* ve *S. gallinarum*'dir. Bu türler içinde en fazla *S. epidermidis* (%17), *S. saprophyticus* (%15), *S. caprae* (%11) ve *S. haemolyticus* (%9) türleri elde edilmiştir (Rahman ve ark., 2012), kan kültürlerinden izole edilen 236 KNS'nin %49'u *S.epidermidis*, %42'si *S.hominis*, %9'u *S.haemolyticus* olarak tespit edilmiştir (Çiftçi ve ark., 2016), yine kan kültürlerinden *S.epidermidis* (%36), *S. choromogenes* (*S. hyicus subs. chromogenes*) (%12), *S. haemolyticus* (%10) izole edilmiştir (Yiğit ve Aktaş, 2008), sığırlardan, dış kulak iltihaplı köpeklerden, çeşitli enfeksiyonlara sahip tavuklarla yapılan bir çalışmada 180 stafilokok izole edilmiştir. Elde edilen türler; *S. aureus* (%29.4), *S. hyicus* (%16.7), *S. intermedius* (%3.9), *S. chromogenes* (%16.1), *S. lentus* (%13.3), *S. epidermidis* (%11.1), *S. simulans* (%7.8) ve *S. haemolyticus* (%1.7) dir (Türkyılmaz ve Kaya, 2006), subklinik mastitisli keçi sütünden %19 oranında *S. lentus*, %17 oranında *S. warneri*, %12 oranında *S. haemolyticus,* %8 oranında *S. xylosus,*%4 oranında *S. schiferi*, %3 oranında *S. caprae,* %2 oranında *S. hyicus* elde edilmiştir (Uçan, 2014), çiğ süt ve peynir örneklerinden KPS türleri olarak *S. intermedius* ve *S. aureus,* KNS türleri olarak S. *saprophyticus* ve *S. caseolyticus* izole edilmiştir (Yücel ve Anıl, 2011), ortak kullanıma açık ve şahsi bilgisayarların klavye ve farelerinden 339 bakteri suşu izole edilmiştir ve bu izolatların 205 (% 60.47)'i KNS, 111 (%32.74)'i otoaglünitasyon gösteren stafilokoklar, 2 (%0.58)'si *S. aureus*, 2 (%0.58)'si diğer bakteriler ve

mantarlar olarak tespit edilmiştir (Yener, 2011), bir üniversite hastanesindeki bilgisayarların klavye ve farelerinden 344 bakteri izole edilmiş ve bunların 83'ü KNS ve 49'u *S. aureus* olarak tespit edilmiştir (Alemu ve ark. 2015), güney Brezilya'da bir dereden 14 stafilokok türüne ait 88 izolat elde edilmiştir. Bu türlerin %93.8'i KNS, %6.8'i KPS olarak tespit edilmiştir. Bunların içinde *S. cohnii* (%30.48) ve *S. haemolyticus* (%21.95) türleri en çok izole edilen türlerdir (Basso AP ve ark. 2014). Çalışmamızda 4'ü KPS ve 11'i KNS olan toplam 15 türe ait, 233 stafilokok izolatı elde edilmiştir. İzolatların %83.6'sı KNS türleridir (Tablo 8). Bu bulgu diğer çalışmalarda da elde edilen yüksek KNS oranı ile uyumludur. Çalışmamızda en yüksek oranda izole edilen 5 tür sıra ile *S. haemolyticus* (%24), *S. warneri* (%19,31), *S. hominis subsp. hominis* (%16), *S. aureus* (%9.87) ve *S. chromogenes*'tir (%5.57) (Tablo 7). Diğer çalışmalara bakıldığında genellikle farklı türlerin elde edildiği görülmüştür. Bunun yanında birçok çalışmada en sık izole edilen türlerden olan ve çalışmamızda da en yüksek oranda gözlenen *S. haemolyticus* olduğu görülmüştür. Diğer çalışmalarda izole edilen türlerdeki farklılıkların izolasyon yapılan yerlerin farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda izolatların biyofilm oluşturma yeteneklerine bakıldığında genel olarak tüm izolatlar içinde %60.9 oranında biyofilm oluşumu görülmüştür. KPS'lerde bu oran %76 iken KNS'lerde %58 dir. Bu bulgulara bakıldığında KPS türlerinde biyofilm oluşumunun daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 8). Stafilokok türleri için en önemli virulans faktörü olan ve antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde büyük katkısı olan biyofilmin birçok izolat tarafından oluşturulabildiği görülmüştür. Bu durum bu mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturma yeteneğini arttırabilir. Bu konuda yapılan benzer çalışmaların sonuçlarına bakıldığında; çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus*'ların %39'unda ve KNS'lerin %30'unda slime faktör üretimi olduğu (Yaşar ve ark., 2011), yine çeşitli klinik örneklerden izole edilen KNS'lerde %75'in üzerinde slime faktör üretimi olduğu (Yıldırım ve ark., 2008), subklinik mastitis ineklerden elde edilen KPS izolatlarının %70'inde ve KNS izolatlarının %52'sinin biyofilm oluşturduğu (Tel ve Keskin, 2009), süpermarketlerden toplanan et örneklerinden elde edilen KNS izolatlarının %32.2'sinin slime faktör oluşturdukları (Öçal, 2010), mastitisli inek sütlerinden ve

patolojik bozuklukları olan tavuklardan izole edilen KNS lerin kontrol olarak kullanılan sağlıklı hayvanlardan izole edilen KNS türlerine göre daha fazla oranda slime faktör ürettiği saptanmıştır (Keskin ve ark. 2003). Çalışmalara genel olarak bakıldığında insan ve hayvanlardan elde edilmiş klinik örneklerden izole edilen KPS türlerinin KNS türlerine göre daha fazla oranda biyofilm oluşumu gösterdiği görülmüştür. Bulgularımız stafilokok türleri ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda proteaz üretimi açısından izolatlara bakıldığında KPS'lerde proteaz üretimi görülmezken, KNS'lerde %4 oranında proteaz üretimi gözlenmiştir. Klinik KNS izolatlarında yapılan bir çalışmada özellikle *S. xylosus* izolatlarının (10 adet) tümünde proteaz aktivitesi saptanmıştır (Al-Mathkhury ve ark., 2008). Bunun yanında kıyma örneklerinden izole edilen KNS'lerde de proteaz aktivitesi saptanmıştır (Gündoğan ve Devren, 2010). İzolatlarımız arasında yer alan 4 adet *S. xylosus*'ta proteaz aktivitesi gözlenmemiştir (Tablo 9). Bu fark diğer çalışmalarda yer alan izolatların klinik örneklerde, enfeksiyon etkeni olarak saptanan türler olduğundan daha güçlü virulans faktörlerine sahip olması gerekliliği ve kıymadan izole edilen izolatlar için ise zengin protein ortamında proteaz üretebilen izolatların daha kolay yerleşip gelişebileceğinden dolayı olabilir.

Çalışmamızda lipaz üretimi açısından izolatlara bakıldığında, genel olarak izolatların %93.1'inde lipaz üretimi gözlenmiştir. KPS'lerde bu oran %97 iken, KNS'lerde %92'dir. Daha önce yapılan çalışmalarda idrar örneklerinden izole edilen KNS türlerinden olan *S. xylosus*'un lipaz aktivitesine sahip olmadığı (Al-Mathkhury ve ark., 2008), dana kıyması, tavuk ve köfte gibi gıda örneklerindeki *S. aureus* izolatlarında lipaz aktivitesi olduğu saptanmıştır (Gündoğan ve Devren, 2010). Stafilokoklar genel olarak insan ve hayvanların deri floralarında yer almaktadır. Bu durum çalışmamızda lipaz üretiminin bu kadar yüksek oranda görülmesini açıklayabilir.

Çalışmamızda hemolitik aktivite açısından izolatlara bakıldığında, genel olarak beta hemoliz %24, alfa hemoliz %14 oranında gözlenmiştir. Beta ve alfa hemoliz

sırası ile KPS'lerde %37 ve %4, KNS'lerde %9 ve %22 oranında görülmüştür (Tablo 8). KPS'lerde beta hemoliz, KNS'ler ise alfa hemoliz daha çok gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında idrar örneklerinden izole edilen KNS türlerinden olan *S. xylosus*'un hemolitik aktiviteye sahip olduğu (Al-Mathkhury ve ark., 2008), subklinik mastitis ineklerden elde edilen KPS izolatlarının %77, KNS izolatlarının ise %42 oranında hemolitik aktiviteye sahip olduğu (Tel ve Keskin, 2009), sığırlardan, dış kulak iltihaplı köpeklerden, çeşitli enfeksiyonlara sahip tavuklardan izole edilen KPS izolatlarının %58.9'unun ve KNS izolatlarının %28.9'unun hemolitik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Türkyılmaz ve Kaya, 2006). Önceden yapılan çalışmalara genel olarak bakıldığında hayvanlardan elde edilen edilen izolatlar ile yapılan çalışmalarda KPS'lerde hemolitik aktivite görülme oranı %58.9-%77 oranında iken, KNS'lerde bu oran %28.9-%42 olarak saptanmıştır. Total hemolitik aktivite olarak bakıldığında izolatlarımızdan elde ettiğimiz bulgular diğer araştırıcılar ile benzerdir.

Çalışmamızda DNaz aktivitesi açısından izolatlara bakıldığında, İzolatların 46 (%19)'sı DNaz pozitif, 187(%81)'si DNaz negatif olarak bulunmuştur. Ek olarak elde edilen izolatlardan KPS'lerin %100 (38 adet)'ü DNaze pozitif, KNS'lerin % 4 (8 tane)'ü DNaz pozitif, KNS'lerin %96 (187 adet)' sı DNaz negatif şeklinde görülmüştür. Öceden yapılan çalışmalara bakıldığında; subklinik mastitisli ineklerden elde edilen KPS izolatlarının %98'inin ve KNS izolatlarının %8'inin DNaz aktivitesine sahip olduğu (Tel ve Keskin, 2009), süpermarketlerden toplanan et örneklerinden elde edilen KNS izolatlarının % 23.6'sının DNaz pozitif olduğu (Öçal, 2010), sığırlardan, dış kulak iltihaplı köpeklerden, çeşitli enfeksiyonlara sahip tavuklardan elde edilen KPS izolatlarının %42.2'sinin, KNS izolatlarının %54.4'ünün DNaz aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır (Türkyılmaz ve Kaya, 2006).

Antibiyotiklere direnç sorunu çağımızda yaşadığımız en büyük sağlık problemlerinden biridir ve stafilokok türlerinde de yaygın olarak görülmektedir. Stafilokoklar hakkında yapılan duyarlılık çalışmalarında, klinik örneklerden,

hayvanlardan, bilgisayarlardan, et ve süt ürünlerinden ve çeşitli çevresel alanlardan izole edilen stafilokok türlerinde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişimi görülmektedir (Alemu ve ark. 2015; Basso AP ve ark. 2014; Tel ve Keskin, 2009; Öçal ŞC, 2010; Uysal, 2006; Yücel ve Anıl, 2011). Çalışmamızda, penisilin, eritromisin, ampisilin, fusidik asit, mupirosin, kinopristin/dalfopristin ve tetrasikline karşı yüksek oranda direnç görülmüştür. Bunların yanında pek çok orta duyarlı izolat tespit edilmiştir. Özellikle penisilin ve eritromisin direnci 15 türde de görülmüştür. En düşük oranda direnç imipenem, netilmisin ve tigesiklin için bulunmuştur. Vankomisine karşı tüm izolatlar duyarlı bulunmuştur. İlginç olarak KNS'lerdeki direnç oranları KPS'lere göre çok daha fazla oranlarda görülmektedir (Tablo 10). Daha önce stafilokok izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ile yapılan çalışmalara bakıldığında; kan kültürlerinden izole edilen KNS izolatlarında penisiline %95, eritromisine %81, tetrasikline %66, klindamisine %61, gentamisine %42, levofloksasine %38, moksifloksasine %35, trimetoprimsülfametoksazole %20 ve metisiline %82 oranında dirençli olduğu (Çiftçi ve ark., 2016), çiğ süt ve peynir örneklerinden izole edilen KPS izolatlarının ampisiline % 62.4 ve penisiline %47 oranında, KNS izolatlarının ise metisilin ve penisiline %39 oranında oranında dirençli olduğu (Yücel ve Anıl, 2011), bir üniversite hastanesindeki bilgisayarların klavye ve farelerinden izole edilen a KNS izolatlarının penisilin, amoksisilin, oksasilin ve ampisiline %73-87 aralığı gibi yüksek oranlarda, *S. aureus* izolatlarının da benzer olarak penisilin, amoksisilin ve oksasiline %80-87 aralığında, seftriaksona %97, siprofloksasine %91 oranında oranında dirençli olduğu, vankomisine %100' duyarlı oldukları. KNS'lerde de çoklu antibiyotik direncinin gözlendiği (Alemu ve ark. 2015), güney Brezilya'da bir dereden izole edilen stafilokok türlerinin %37'sinin eritromisine, %27.27'sinin penisiline, %12.50'sinin klindamisine, %6.81'nin trimetoprim-sufometaksazola, %5.68'inin kloramfenikol'e ve %2.27'sinin norfloksasine dirençli olduğu bulunmuştur. Gentamisin ve siprofloksasine karşı dirence rastlanmamıştır (Basso AP ve ark. 2014). Otellerde çalışan persollerden izole edilen *S. aureus*'ların %0.4'ünde (Erdoğan ve Arslan, 2011), çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus*'ların %24'ü ve KNS'lerin %32'sinde (Yaşar ve ark., 2011), kan kültürü örneklerinden izole edilen KNS İzolatların %40'ında (20 adet) metisilin direnci saptanmıştır (Yiğit ve Aktaş, 2008). Daha önceki çalışmalarda

da görüldüğü gibi çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokok türlerinin birçok antibiyotiğe karşı direnç gösterebildiği açıktır. Çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmaların çoğunda klinik izolatlar kullanılmış ve direnç oranları oldukça yüksek bulunmuştur.

Metisilin direnci beta laktam antibiyotiklere direnci temsil eden bir durumdur. Hastane kaynaklı mikroorganizmalar yanında, toplum kaynaklı mikroorganizmalarda da görülmektedir. Aynı durum KNS'lerde de görülmekte ve bazı yazarlar KNS'lerin metisilin direncinin yayılmasında rezervuar görevi yaptığını ileri sürmektedir. Metisilin direncinin hastane kaynaklı izolatlarda yoğun olarak görülmesinin yanı sıra çevreden, hayvanlardan ve hayvansal ürünlerden izole edilen stafilokok türlerinde de gürüldüğü bildirilmiştir (Widerström, 2010; Öçal, 2006; Uysal, 2006; Nihal ve Anıl, 2011; Yaşar ve ark., 2011). Çalışmamızda metisilin direnci, *S.aureus* izolatlarının birinde tespit edilmiştir. Total olarak izolatların %15.45'inde (36 adet) metisiline dirençli izolat saptanmıştır. Bu izolatlar 12 farklı türe aittir. İzolatlarımız arasında metisilin direncinin en fazla görüldüğü 3 tür sırası ile *S. haemolyticus* (11 adet-%33), *S. hominis subsp. hominis* (6 adet-%17), *S. chromogenes* (3 adet-%8.3) olarak tespit edilmiştir. Metisilin dirençli türlerin %83'ü KNS (30 adet) iken %17'si KPS (6 adet) türleridir. Kısacası metisilin direnci KNS'lerde daha fazla görülmüştür (Tablo 12, 13).

Sonuç olarak;

Çalışmamızın bulgularına göre, çevresel stafilokok izolatlarımızdaki biyofilm oluşumu, hemoliz, lipaz ve metisilin direnci ve ampisilin, eritromisin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere yüksek oranda direnç görülmesi endişe vericidir. İzolatlarımızın çoğunun insan kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Bu nedenle bulgularımız insanlarda bulunan stafilokok türlerinin durumunu da yansıtabilir. Metisilin direncinin de KPS'lerde ve daha fazla oranda KNS izolatlarında görülmesi, toplum kaynaklı stafilokokların gelecekte ciddi sağlık sorunlarına yol açma potansiyeline işaret etmekte ve bu mikroorganizmaların fırsat bulduğunda enfeksiyonlara yol açabilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca bulgularımız günlük

yaşantımızda bu türler ile sürekli temas halinde olduğumuz ve ortak kullanım alanlarının uygun şekilde dezenfeksiyonun gerekli olduğunun ve hijyen kurallarına uyulmasının önemini ortaya koymaktadır.

8. KAYNAKLAR

Ak Ö, Benzonana Na, Balkan İİ, Özer S. Katalaz Negatif *Staphylococcus aureus*'a Bağlı Bir Yumuşak Doku Enfeksoyonu: Olgu Sunumu. Kartal E.A.H. Tıp Dergisi. 2004; 15: 170- 171.

Alemu A, Misganaw D, Wondimeneh Y. Bacterial Profile and Their Antimicrobial Susceptibility Patterns of Computer Keyboards and Mice at Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia. SciEP. 2015; 3: 1-7.

Al-Mathkhury HJF, Flaih MT, Al-Ghrairy ZKA. Pathological study on *Staphylococcus xylosus* isolated from patients with urinary tract infections. Journal of Al-Nahrain University, 2008; 11(2):123-130.

Anstead GM, Cadena J ve Javeri H. Treatment of Infections Due to Resistant *Staphylococcus aureus.* In: Ji Y., eds. Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols. 2 nd ed. London: Springer; 2014, p: 259-274.

Appak S. Bıochemical and Molecular Characterızatıon Of Extracellular Enzyme Producıng Staphylococcı Isolated From Dıfferent Orıgıns. İzmir Mühendislik Üniversitesi Teknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2006, İzmir (Danışman: Prof. Dr. Hatice Güneş)

Barbier F, Ruppe´ E, Hernandez D, Lebeaux D, Francois P, Felix B, Desprez A, Maiga A, Woerther PL, Gaillard K, Jeanrot C, Wolff M, Schrenzel J, Andremont A ve Ruimy R. Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci in the Community: High Homology of SCCmec IVa between *Staphylococcus epidermidis* and Major Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus.* JID. 2010; 202(2): 270–281.

Barkar S. Toplum Kaynaklı Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) Suşlarında Kromozomal Kaset Tiplerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemler ile Araştırılması. Ankara Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2009, Ankara (Danışmanı: Prof. Dr. A. Murat Aksoy).

Basso AP, Martıns PD, Nachtıgall G, Van Der Sand S, Moura TMD, Frazzon APG, Antibiotic resistance and enterotoxin genes in *Staphylococcus* sp. isolates from polluted water in Southern Brazil. An Acad Bras Cienc. 2014; 86(4): 1813-1820.

Bayındır Y. Toplum Kökenli Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus İnfeksiyonları. Ulusoy S, eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2 nd ed. Ankara; 2012, p: 108-109.

Bayındır Y. Toplum Kökenli Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus İnfeksiyonları. Ulusoy S, eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2 nd ed. Ankara; 2012, p: 80-84.

Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase- Negative Staphylococci. CRM. 2014; 24: 870-926.

Becker K, Skov RL ve Eiff CV. *Staphylococcus, Micrococcus*, and Other Catalase-Positive Cocci. In: Jorgensen JH, Pfaller MA. MCM. 11th. ed. Washington: ASM; 2007, p: 362-364.

Becker K, Skov RL ve Eiff CV. *Staphylococcus, Micrococcus*, and Other Catalase-Positive Cocci. In: Jorgensen JH, Pfaller MA. MCM. 11th. ed. Washington: ASM; 2007, p: 362-374.

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 3. baskı, Barış Yayınları; 2002, p:495-523.

Cavassini M, Wenger A, Jaton K, Blanc D, Bille J. Evaluation of MRSA-Screen, a Simple Anti-PBP 2a Slide Latex Agglutination Kit, for Rapid Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. JCM. 1999; 37: 1591–1594.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, M100-S24. CLSI, Wayne, Pa. 2014.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement, M100-S21. CLSI, Wayne, Pa. 2011.

Collaninno PM. Identification of Gram- Positive Organisms. In: Goldman E and Gren LH, eds.Practical Handbook of Microbiology. 2 nd ed. London: CRC; 2009, p: 53- 55.

Cunha MLRS, Antimicrobial Resistance. In: Cunha MLRS, eds. Staphylococcus aureus and Coagulase- Negative Staphylococci Virulance, Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology. New York: Nova; 2014, 61-90.

Çiftçi N, Türkdağı H, Demircan A, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokokların tür tayini ve antibiyotiklere direnç oranları. ANKEM Derg, 2016;30(1): 7-11.

Demirtürk N. Demirdal T. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi 5: 17- 21 Mayıs 2004.

Doğan SŞ. Koagülaz Pozitif Ve Koagülaz Negatif Stafilokokların Glikopeptid Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Otomatize Yöntem, Disk Difüzyon ve E-Test Yöntemleriyle Araştırılması. K.S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2014, Kahramanmaraş (Danışman: Prof. Dr. Murat Aral).

Dönmez İ. Toplum ve Hastane Kaynaklı Stafilokok İzolatlarında İndüklenebilir Klindamisin Direnci. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2011, Zonguldak (Danışmanı: Doç. Dr. Elif Aktaş).

Drewry DT,Galbraıth L,Wılkınson BJ ve Wılkınson SG. Staphylococcal Slime: a Cautionary Tale. JCM. 1990; 28: 1292-1296.

Enright MC. Epidemiology of MRSA and MSSA: Emerging Clinical Syndromes. In: Ala' Aldeen D, Hıramatsu K, eds. Staphylococcus aureus Molecular and Clinical aspects. 1 st ed. Japan: Horwood; 2004, 30-53.

Erdoğan H, Arslan H. Otel Personelinin Burun ve Boğaz Kültüründe *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının Araştırılması ve Risk Faktörlerinin İrdelenmesi. Klimik Dergisi 2011; 24: 90-93.

Felten A, Grandry B, Lagrange PH ve Casin I. Evaluation of Three Techniques for Detection of Low-Level Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A Disk Diffusion Method with Cefoxitin and Moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-Screen Latex Agglutination Test. JCM. 2002; 40: 2766–2771.

Foster TJ, Georghgane JA. Staphylococcus aureus. In: Tang YW, Susman M, Liu D, Poxto J ve Schwartzman J, eds. Molecular Medical Microbiology. 2 nd ed. USA: Elsevier; 2015, p: 653- 656.

Gemmell CG, Lang S. Coagulase- Negative Staphylococci and Their Role in İnfection. In: Tang YW, Susman M, Liu D, Poxto J ve Schwartzman J, eds. Molecular Medical Microbiology. 2 nd ed. USA: Elsevier; 2015, p: 793- 806.

Gillaspy AF, Iandolo JJ, *Staphylococcus*. In: Schaecther M, eds. The Desk Encyclopedia of Microbiology. 2 nd. USA: Elsevier; 2009, p: 1039-1045.

Gillaspy AF ve Iandolo JJ. *Staphylococcus*. In: Schaechter M. Encyclopedia of Microbiology. 3 thd ed. USA: Elsevier Inc; 2009, p: 294-915.

Gilmore KS, Gilmore MS ve Sahm DF. Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. In: Wax RG, Lewis K, Salyers AA, Taber H, eds. Bacterial Resistance to Antimicrobial. 2nd ed. London: CRC; 2008, p: 291-303.

Gülay Z. Koagülaz- Negatif Stafilokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. In: Ulusoy S, eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2 nd ed. Ankara; 2012, p: 133-147.

Gündoğan N, Devren A. Protease and lipase activity of *Staphylococcus aureus* obtained from meat, chicken and meatball samples. 2010; GU J Sci, 23(4): 381-384.

John JF. Staphylococcal Infection: Emerging Clinical Syndromes. In: Ala' Aldeen D, Hıramatsu K, eds. Staphylococcus aureus Molecular and Clinical aspects. 1 st ed. Japan: Horwood; 2004, 1-2.

Kaya I. Koagülaz Pozitif ve Koagülaz Negatıf Stafilokok Suşlarında Makrolid Linkozamid Streptogramin B (MLSB) Grubu Antibiyotiklere Direncin Araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011, İstanbul (Danışmanı: Prof. Dr. Çiğdem Kayacan).

Keskin O, Altay G, Akan M. Farklı Hayvansal Kaynaklardan İzole edilen Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Slime Üretimi ve Aderans. Turk J Vet Anim Sci, 2003;27: 253-257.

Kohlerschmidt DJ, Musser KA ve Dumas NB. Identification Aerobic Gram-Negative. In: Goldman E and Gren LH, eds. Practical Handbook of Microbiology. 2 nd ed. London: CRC; 2009, p: 71- 72.

Kulaksız BH. Greftlerde ve İntravenöz Kateterlerde İnfeksiyona Neden Olan *Staphylococcus epidermidis*'lerdeki Slaym (Slime) Faktörünün Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2000, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Müzeyyen Mammal Torun)

Lee JC, Bohach GA. Pathogenesis of disease. In: Ala' Aldeen D, Hıramatsu K, eds. Staphylococcus aureus Molecular and Clinical aspects. 1 st ed. Japan: Horwood; 2004, 182-184.

Lory S. The Family Staphylococcaceae. In: The Prokaryotes. Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F eds, 4th ed, USA: Springer; 2014, p:364-368.

Louie L, Matsumura So, Choı E, Louıe M ve Sımor AE. Evaluation of Three Rapid Methods for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. JCM. 2000; 38: 2170–2173.

Lowy FD. Staphylococcal İnfections. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, eds. Harrison's Infectious Diseases. 17 th ed. USA: McGraw-Hill; 2010, p: 386-389.

Ludwig W, Klenk HP. Overview: A Phylogenetic Backbone and Taxonomic Framework for Procaryotic Systematics. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume II Part A. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT eds, 2nd ed. USA: Springer; 2005, p:58.

Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB. Revised road map to the phylum *Firmicutes*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume III. De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB eds, 2 nd ed. USA: Springer; 2009, p:2.

Lui D. Enterotoxin-Producing Staphylococcus aureus. In: Tang YW, Susman M, Liu D, Poxto J ve Schwartzman J, eds. Molecular Medical Microbiology. 2 nd ed. USA: Elsevier; 2015, p: 979- 981.

Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. BROCK Biology of Microorganisms. 14th ed. USA: Pearson; 2015, p: 44.

Munro S, Hindler JF. Antimicrobial Susceptibility Testing. In: Garcia LS. and Isenberg HD., Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3 thd ed. Washington: ASM; 2007, p: 5.1.1-5.1.14.

Öçal ŞC, Koagülaz Negatif *Staphylococcus*'larda Slime Yapımı, Protein-A Oluşumu ve Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Ankara (Danışman: Assoc. Prof. Dr. Sumru Çıtak).

Palavecino EL. Clinical, Epidemiologic, and Laboratory Aspects of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. In: Ji Y., eds. Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols. 2 nd ed. London: Springer; 2014, p: 1-14.

Pancholi V. Staphylococcal Extracellular/ Surface Enzymatic Activity. In: Honeyman A, Friedman H, Bendinelli M, eds. *Staphylococcus aureus* Infection and Desease. USA: Kluwer Academic; 2002, p:143-145.

Pham TX. Transference Of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* Using Antibiotic Challenge. Wichita State University, Master of Science Thesis, 2008, Wichita (Danışmanı: Dr. T Glass).

Rahman A, Hosaain MA, Mahmud C, Paul SK, Sultana S, Haque N, Kabir MR, Kubayashi N. Species distribution of coagulase negative staphylococci isolated from different clinical specimens. Mymensingh Med J. 2012 ;21(2):195-199.

Ryan KJ. Staphylococci. In: Ryan KJ, Ray CG, Sherris JC, eds. Sherris Medical Microbiology. 4 th ed. USA: McGraw-Hill; 2004, p: 261-271.

Saha BC, Jordan DB. Enzymes, Industrial (overview). In: Schaechter M. Encyclopedia of Microbiology. 3 thd ed. USA: Elsevier Inc; 2009, p: 289-290.

Sancak B, *Staphylococcus aureus* ve Antibiyotik Direnci. Mikrobiyol bul. 2011; 45(3): 565-576.

Sancak B. *Staphylococcus aureus*' ta metisilin ve vankomisin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi. 2007;38: 127-134.

Schaffer A ve Lee JC **.** Vaccine-based Strategies for Prevention of *Staphylococcus aureus* Infection In: Crossley KB ve ark. Staphylococci in Human Disease. 2 nd ed. USA: Blackwell Publishing Ltd., 2009, p: 594-606.

Schleifer KH, Bell JA. Family VIII. *Staphylococcaceae* fam. nov. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume III. De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB eds, 2 nd ed. USA: Springer; 2009, p:392.

Schlievert PM, McCormick JK, Bohach GA ve Ohlendorf DH. Exotoxins. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG, eds. Staphylococci in Human Disease. 2 nd ed. USA: Blackwell Publishing Ltd; 2009, p: 128- 129.

Schneewind O, Missiakas D. *Staphylococcus aureus* and Related Staphylococci. In: Goldman E and Gren LH, eds.Practical Handbook of Microbiology. 2 nd ed. London: CRC; 2009, p: 275- 288.

Shittu A, Lin J, Morrison D ve Kolawole D. Identification and molecular characterization of mannitol salt positive, coagulase-negative staphylococci from nasal samples of medical personnel and students. JMM. 2006; 55: 317-324.

Şimşek M. Klinik Örneklerden İzole Edilen MRSA Suşlarında Panton-Valentine Lökosidin Virülans Faktörünün Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. MEÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2010, Mersin, (Danışman: Doç. Dr. N. Delialioğlu)

Somerville GA ve Proctor RA. The Biology of Staphylococci In: Crossley KB ve ark. Staphylococci in Human Disease. 2 nd ed. USA: Blackwell Publishing Ltd. ; 2009, p: 4-5.

Sowash MG ve Uhlemann AC, Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Case Studies In: Ji Y., eds. Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols. 2 nd ed. London: Springer; 2014, p: 25-26.

Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic- Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. Jmicmeth. 2000; 40: 175-179.

Yaşar KY, Aybar Bilir Y, Pehlivanoğlu F, Şengöz G. Stafilokok suşlarında slaym faktör pozitifliği, metisilin ve antibiyotik direnci. ANKEM Derg 2011;25(2):89-93.

Yücel N, Anıl Y. Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. Turk Hij Den Biyol Derg: 2011; 68 (2): 73–78.

Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim Kaya NB. (2009). Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. FÜ Sağ Bil Vet Derg, 23(2): 101-106.

Tetik T. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Stafilokok İzolatlarında Slime Oluşumu ve Antibiyotik Direnci Arasındaki İlişki. Ankara Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012, Ankara (Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet Akın).

Tille MP. Bailey Scott's Diagnostic Microbiology. 13th ed. USA: Mosby: 2013, p:232-246.

Tünger A. Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. In: Ulusoy S, eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2 nd ed. Ankara; 2012, p: 1-15.

Türkyılmaz S ve Eskiizmirli S. Detection of Slime Production and Antibiotic Resistance in Staphylococcus Strains Isolated from Various Animal Clinical Samples. Turk J Vet Anim Sci. 2006; 30: 201-206.

Türkyılmaz S, Kaya O. Determination of some Virulence Factors in Staphylococcus spp. Isolated from Various Clinical Samples. Turk J Vet Anim Sci. 2006; 30: 127-132.

Tutar U, Çelik C, Ataş M, Tunç T, Gözel MG. Evaluation Of Biofilm Formation Activity Of Standard Microorganism Strains. J Clin Exp Invest. 2015; 6(2): 135-139.

Uçan N. Subklinik Mastitisli Keçilerdeki Koagulaz Negatif Stafilokokların Saptanması ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, Aydın (Danışman: Prof. Dr. Osman Kaya).

Usluer G. *Staphylococcus aureus*' un Neden Olduğu İnfeksiyonlar. In: Ulusoy S, eds. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2 nd ed. Ankara; 2012, p: 49-57.

Ünal S. *Staphylococcus aureus* Direnç Mekanizmaları. İçinde: Ulusoy S, editörler. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2. baskı. Ankara; 2012, p: 19-29.

Velasco D, Tomas MM, Cartelle M, Beceiro A, Perez A, Molina F, Moure R,Villanueva R ve Bou G. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. JAC. 2005; 55: 379–382.

Yener O. Çeşitli yaş gruplarınca kullanılan bilgisayar klavye ve mauslarında mikro floranın araştırılması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011, Konya (Danışman: Prof. Dr. Uçkun Sait UÇAN).

Yiğit N, Aktaş AE, Doğruman-Al F, Ayyıldız A. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokokların tiplendirilmesi ve metisilin direnci. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2008; 65 (2): 61-66.

Yücel N, Anıl Y. Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. Turk Hij Den Biyol Derg: 2011; 68 (2): 73–78.

Wagner A. Antibiotic Susceptibility Testing. In: Goldman E and Gren LH, eds. Practical Handbook of Microbiology. 2 nd ed. London: CRC; 2009, p: 155- 156.

Waldemar V. Peptidoglycan. In: Tang YW, Susman M, Liu D, Poxto J ve Schwartzman J, eds. Molecular Medical Microbiology. 2 nd ed. USA: Elsevier; 2015, p: 105- 115.

Widerström M, Molecular epidemiology uf coagulase negative staphylococci in hospitals and in the community. Sweeden: Umeå University; 2010, p: 1-74.

Yıldırım N, İ. Sezen İY, Ardıç N, İleri Ç. Farklı klinik örneklerden izole edilen koagülaz-negatif stafilokokların slıme faktör üretimlerinin ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi, 2008; 22 (4): 209-214.

York MK ve ark. Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria In: Garcia LS. and Isenberg HD., Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3 thd ed. Washington: ASM; 2007, p: 3.17.39.0-3.17.39.3.

York MK ve ark. Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria In: Garcia LS. and Isenberg HD., Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3 thd ed. Washington: ASM; 2007, p:4.6.4.0-4.6.4.2.

York MK. Staining Procedures. In: Garcia LS. and Isenberg HD., Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3 thd ed. Washington: ASM; 2007, p: 3.2.1.18-3.2.1.23.

Zhu LX, Zhang ZW, Wang C, Yang HW, Zhang Q ve Cheng J. Evaluation Of The CLSI Cefoxitin 30-Lg Disk-Diffusion Method For Detecting Methicillin Resistance İn Staphylococci. CMI. 2006; 12: 1039–1042.

9. EKLER

Ek-1

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI: Ortak Yaşam Alanlarından İzole Edilen Stafilokok Suşların Antibiyotiklere Duyarlılıkları ve Virulans Faktörleri
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Yrd.Doç.Dr. Erkan RAYAMAN
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR: Bahar KOCA
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 24.12.2014-19

Sayın Yrd.Doç.Dr. Erkan RAYAMAN

132 protokol nolu "Ortak Yaşam Alanlarından İzole Edilen Stafilokok Suşların Antibiyotiklere Duyarlılıkları ve Virulans Faktörleri" isimli projeniz Enstitümüzün Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Komisyon Başkanı

Prof. Dr. İnci ALİCAN

Prof. Dr. Serap AKYÜZ

Yrd. Doç. Dr. Betül OKUYAN

Prof. Dr. Aysel PEHLİVAN

Doç. Dr. Neşe BAHÇECİK

Doç. Dr. Hakkı ARIKAN

Yrd. Doç. Dr. Ümit UĞURLU

Doç. Dr. Dilşad SAVE

Doç. Dr. Zübeyir SARI

Doç. Dr. Tolga GÜVEN

Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Sağlık Bilimleri Enstitüsü 34688 Kadıköy / İSTANBUL
0 (216) 414 44 23/12 (Faks)
0 (216) 414 44 23
Ayrıntılı bilgi için:
saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr

Ek-2

Bahar Koca, Rayaman Erkan, Pervin Rayaman, Ümran Soyoğul Gürer. Ortak Yaşam Alanlarından İzole Edilen Staphylococcus aureus İzolatlarının Virulans Faktörleri ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. (poster bildiri, bildiri no: P-114), 2nd İVEK International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, 27-29 Kasım 2015, İstanbul, Türkiye.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Bahar	**Soyadı**	Koca
Doğum Yeri	İstanbul	**Doğum Tarihi**	01.04.1985
Uyruğu	T.C.	**Tel**	05423509318
E-mail	baharkoca1718@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart	2010
Lise	İbrahim Turhan Y.D.A	2004

İş Deneyimi

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
	VGE	İstanbul Halk Sağlığı Müdürlüğü	Eylül 2012- Ekim 2013
	ARGEDEP-Mikrobiyolog	Koçak Farma İlaç ve Kimya A.Ş.	Aralık 2015- Mart 2016
	Analist	İntertek Test Hizmetleri.	Mayıs 2016- DEVAM

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Ms Office (Worl, Excel, PowerPoint)	Çok iyi.

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.