

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- YL- 2001- 0001

AYDIN BÖLGESİNDE İNEKLERDE MASTİTİSLERE
NEDEN OLAN KOAGULAZ NEGATİF VE POZİTİF
STAFİLOKOKLARIN BİYOTİPLENDİRİLMESİ

HAZIRLAYAN: Vet. Hek. Levent ŞAHİN

DANIŞMAN: Doç. Dr. Osman KAYA

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

AYDIN - 2001

İÇİNDEKİLER

ÖZ, ABSTRACT	I
ÇİZELGELER LİSTESİ	II
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	2
3. MATERYAL VE METOD	8
3.1. Örnekler	8
3.2. Metod	8
3.2.1. Mikrokok Stafilokok Ayırımı	8
3.2.2. Koagulaz Pozitif Stafilokokların Tiplendirilmesi	8
3.2.3. Koagulaz Negatif Stafilokokların Tiplendirilmesi	8
3.2.4. Novobiosine Duyarlılık Testi	9
3.2.5. Çabuk Üreaz Testi	9
3.2.6. Nitrat Redüksiyonu	9
3.2.7. Karbonhidrat Fermentasyonunun İncelenmesi	10
3.2.8. Arjinin Hidrolizi	10
3.2.9. Jelatinaz Varlığının İncelenmesi	10
3.2.10. Slime Faktör Varlığının İncelenmesi	10
3.2.11. Oksidaz Testi	11
3.2.12. Antibiyotik Duyarlılıkları	11
4. BULGULAR	12
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	17
ÖZET	24
SUMMARY	25
TEŞEKKÜR	26
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	36

ÖZ

Mastitisli ineklere ait 100 adet süt örneğinden 27 adet stafilocok suşu izole edildi. Elde edilen suşların 12 (% 44)'si koagulaz pozitif ve 15 (% 56)'i koagulaz negatif olarak ayrıldı. Koagulaz pozitif suşların 7 (% 58)'si *S. aureus*, 5 (% 42)'i *S. intermedius* olarak, koagulaz negatif suşların 6 (% 40)'sı *S. hyicus*, 5 (% 34)'i *S. epidermidis*, 1 (% 6.5)'i *S. haemolyticus*, 1 (% 6.5)'i *S. sciuri*, 1 (% 6.5)'i *S. lentis* ve 1 (% 6.5)'i *S. cohnii subsp. cohnii* olarak tanımlandı. Suşlara yapılan antibiyogram testleri sonucunda tüm suşların sulbactam + ampicilin'e duyarlı, suşların % 49'unun penisilin'e dirençli olduğu tespit edilmiştir.

ABSTRACT

Twenty seven Staphylococ strains were isolated from 100 milk samples obtained from dairy cows with mastitis. 12 of those strains (44%) were coagulase positive and 15 of those (56%) were coagulase negative. In coagulase positive strains, *S. aureus* and *S. intermedius* were identified in 7 (58%) and 5 (42%) of samples respectively. In coagulase negative samples, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*, *S. lentis* and *S. cohnii subsp. cohnii* were identified in 6 (40%), 5 (34%), 1 (6.5%), 1 (6.5%), 1 (6.5%) and 1 (6.5%) of samples respectively. All strains were found to be sensitive sulbactam+ ampicilline and 49% of strains were found to be resistant to penicilline in the antibiotic susceptibility tests.

Anahtar Sözcükler : Mastitis, Koagulase Pozitif Stafilocok, Koagulase Negatif Stafilocok, Antibiyogram

Key Words : Mastitis, Coagulase Positive Staphylococcus, Coagulase Negative Staphylococcus, Antibioqram

ÇİZELGELER LİSTESİ

Tablo 1. Koagulaz Pozitif Suşların Biyotipleri	12
Tablo 2. Koagulaz Pozitif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	12
Tablo 3. Koagulaz Negatif Suşunun Biyotipleri	13
Tablo 4. Koagulaz Negatif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	13
Tablo 5. Stafilocok Suşlarının Slime Değerleri	14
Tablo 6. Slime Özelliğinin Stafilocok Türlerine Göre Dağılımı	14
Tablo 7. Jelatinaz Özelliğinin Stafilocok Türlerine Göre Dağılımı	14
Tablo 8. Kullanılan Antibakteriyellerin Etki Derecelerine Göre İnhibisyon Zon Sınırları	15
Tablo 9. Antibiyotik Duyarlılıklarının Stafilocok Türlerine Göre Dağılımı	16



1. GİRİŞ

Mastitis, süt veren hayvanların meme bezinde yangı ile karakterize, süt veriminin azalmasına, süt kalitesinin bozulmasına ve önemli derecede kayıplara sebep olan hastalıktır (21, 74, 76).

Ruminantların meme bezi anatomik yapı itibariyle birçok mikroorganizmanın istilasına karşı koyan bir organdır. Sağmal ineklerin günlük sağımları ve sağım sonrası meme başı kanalının geçici bir süre kapanmaması, meme dokusunu mikroorganizmalara açık hale getirmekte ve mastitis vakalarının gelişmesine sebep olmaktadır. İnsan sağlığı ve yavruların beslenmesi açısından mastitisli süt kullanımının sakıncalı olması sebebiyle hayvanların bu hastalıktan korunması gerekmektedir. Ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalara göre, mastitislerin % 60-65'ini ve subklinik mastitislerin ise % 80-85'ini Stafilokoklar oluşturmaktadır. Stafilokokların % 60-65'ini *S. aureus* oluştururken, geriye kalanını da *Koagulaz Negatif Stafilokoklar* oluşturmaktadır (2, 7, 8, 12, 35, 36, 38, 51, 65, 78). Son yıllarda *Koagulaz Negatif Stafilokoklar*'ın önemli patojenler haline geldiği bildirilmektedir (23, 75).

Günümüzde, mastitislerden (22, 33, 71, 83), üriner sistem enfeksiyonlarından (37), pnömonilerden (41) ve postoperatif yara enfeksiyonlarından (67) *Koagulaz Negatif Stafilokoklar* izole edilmektedir. Ayrıca immüsupresif hastalarda görülen enfeksiyonların önemli bir bölümünde *Koagulaz Negatif Stafilokoklar* en önemli etken olarak kabul edilmektedir (87). *Koagulaz Negatif Stafilokoklar* nosocomial enfeksiyonlarda, endokarditislerde, osteomyelitlerde de patojen etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır (58).

Bu çalışma, mastitislerin primer etkeni olarak bilinen *Koagulaz Pozitif Stafilokoklar* ile *Koagulaz Negatif Stafilokoklar*ın mastitislerin etyolojilerinde ne derecede etkin rol aldığı araştırılması ve izolatların antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Staphylococcus genusu, *Eubacteriales* takımının, *Micrococcaceae* familyasına ait mikroorganizmalardır. Stafilocoklar, yuvarlak şekilli, 0.5 – 1.5 µm çapında, çoğunlukla düzensiz kümeler şeklinde, gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerobik bakterilerdir. Stafilocokların katalaz aktivitesi pozitif olup, optimal üreme ısıları 30-37 °C'dir. Anilin boyaları ile iyi boyanırlar. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalırlar. Katı besiyerlerinde 1-2 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Sporsuz bakteriler içerisinde dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı en fazla dayanabilen bakterilerdir. Kültürlerde, + 4 °C'de 2-3 ay, - 20 °C'de 3-6 ay kadar canlı kalabilirler. Stafilocok türleri 60 °C'de ancak yarım saatte, % 2'lik fenolde 15 dakikada inaktive olup, % 9'luk sodyum klorüre ve sakkarozaya tolerans gösterebilmektedirler (11, 44, 58).

İlk defa 1883 yılında Sir Alexandar Ongston bazı piyogenik apselerde etken olarak gruplar halinde koklar görerek bunları "Stafilocok" olarak isimlendirmiştir (9). Mikroorganizmanın izole edilmesi ve laboratuvar özellikleri 1884 yılında Rosenbach tarafından gerçekleştirilmiştir. Rosenbach bu mikroorganizmanın iki farklı renkte koloni oluşturduğunu gözlemiş, sarı-portakal renkli kolonileri *S. pyogenes aureus*, beyaz kolonileri *S. pyogenes albus* olarak isimlendirmiştir. 1891 yılında *S. epidermis albus* ismi kullanıma girmiştir (68). 1957'li yıllara kadar stafilocoklar mikrokok cinsi içine dahil edilmişlerdir. Bu iki cinsin anaerobik üreme ve glukozdan asit oluşturma özelliklerine bakılarak ayırt edilebileceği ortaya konmuş ve bu testler ile 1957 yılında *Bergey's Manuel*'in 7. baskısında Stafilocoklar ayrı bir cins olarak yerlerini almışlardır (68). Günümüzde stafilocok mikrokok ayırımında sadece basitrasine duyarlılık deneyinin kesin kriter olarak kullanılmasının yeterli olduğu savunulmaktadır (73).

Stafilocoklar, 1957 yılında mannitolün aerobik kullanımı ve koagülaz oluşturma yeteneklerine bakılarak *S. aureus* ve *S. epidermidis* olarak iki tür olarak tanımlanmıştır. 1959 yılında nümerik taksonominin kullanıma girmesiyle *Koagülaz Pozitif Stafilocokların* homojen bir grup olmasına karşın, *Koagülaz Negatif Stafilocokların* heterojen bir grup olduğu saptanmıştır. Koagülaz negatif

stafilokoklardaki türleri ilk defa Baird-Parker bir şema ile tanımlamıştır (25). 1975 yılında tanımlanan bu şema, Schleifer ve Kloos tarafından modifiye edilmiş ve biyokimyasal özelliklerden yararlanarak tiplendirmeler yapılmıştır (68).

İlerleyen yıllarda mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin kullanıma uygun pek çok şema hazırlanmıştır (39). Günümüzde hızlı tanı amacıyla, Micro Scan (68), API Staph Ident (40) gibi biyokimyasal testleri esas alan ticari sistemler mevcuttur. Bu şemaların yanısıra DNA hibridizasyonu, faj tiplendirmesi, plazmid profil analizi, restriksiyon enzim analizleri, izofonksiyonel enzimlerin elektroforetik karşılaştırılması (63), bakteriyolojik aktivite paternleri, antibiyotik duyarlılık paternleri (39) gibi yöntemlerle de tiplendirme yapılmaktadır.

Günümüzde birçok hızlı tanı yöntemi bulunmasına rağmen, rutin laboratuvarlarda en sık uygulanan yöntemler ise biyotiplendirme ve antibiyotik duyarlılık paternleridir (58).

Stafilokoklara laboratuvarlarda yapılacak en önemli invitro test plazma koagülaz testidir. Bunun yanında kümeleştirici faktör (clumping factor) de araştırılabilir. Antijenik yapı olarak serbest koagulazdan farklı olması testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagulaz açısından tüp testi ile de kontrolü gerekmektedir (11, 58).

Koagulaz negatif stafilokoklarda virulansın oluşumunda her ne kadar konak ve bakterinin etkisi görülse de bunun yanında slime faktör, protein A, bakteriosin, jelatinaz, DNA'az gibi invitro sistemlerde saptanabilecek ürünlerin ve çoklu antibiyotik direncinin de rol oynadığı bildirilmektedir (58). Stafilokokların ürettiği slime maddesi, stafilokokları konak savunma mekanizmalarına karşı çeşitli yollarla korur (48), makrofajların oksidatif yanıtlarını inhibe eder (39), poliklonal aktivatörlere lenfositlerin yanıtını baskılar (42), periferik mononükleer hücrelerin blastogenezisini ortadan kaldırır (39), bariyer görevi yaparak antibiyotiklerin iç kısımlara yayılımını engeller (70). Bu özelliklerden dolayı slime maddesinin varlığı patojenite kriteri olarak kabul edilmektedir (75). Ayrıca stafilokokların yapısında protein A bulunmaktadır. Bu antijen *S. aureus* suşlarında % 90, *Koagulaz Negatif Stafilokoklarda* ise en fazla % 9 oranında bulunmaktadır (19).

Stafilokokal protein A'nın antifagositik, antikomplementer etki yaratması, hipersensitivite reaksiyonlarına sebep olması, koagulaz ve nükleaz aktivitesi ile yüksek korelasyon göstermesi, antibiyotik duyarlılığını azaltması bu maddenin önemli bir patojenite kriteri olduğunu düşündürmektedir (11, 44).

Mastitis meme bezinde görülen yangıdır. Oluşan yangı sonucunda, meme bezinin travmatik etkilerine veya meme içerisine endojen veya çoğunlukla ekzojen giren mikroorganizmalara karşı süt üreten dokularda reaksiyon görülür. Böylece meme bezi fonksiyonlarının normale dönmesi amaçlanır (21, 74).

Mastitis tüm dünyada süt veren hayvanların en yaygın, ekonomik kaybın büyük olduğu ve kontrolü zor olan bir hastalıktır. Mastitisler genellikle bakteriler tarafından şekillendirilirken, nadiren viral kökenli olanlar ile mantarlar ve mayalar tarafından da oluşturulmaktadır (50, 52). Bakteriyel mastitislerin % 60-65'ini *Stafilokoklar* ve bunlarında % 60'ını *S. aureus* oluşturmaktadır (12, 35, 36, 51, 65, 76).

Mastitis, enfeksiyon sonucu süt üretiminde azalma, insan tüketimine sunulamayan sütlerin atılması, ineklerin erken kuruya çıkartılması, tedavi edilmeyen ineklerin kesilmesi, ilaç giderleri, Veteriner Hekim ücretleri, etkili antibiyotiğin belirlenmesi için laboratuvar masrafları gibi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (30, 74). Amerika Birleşik Devletlerinde mastitisin sebep olduğu 1 yıllık ekonomik kaybın 2 milyar \$ olduğu bildirilmektedir (30).

Arda ve İstanbulluoğlu mastitis üzerine yaptıkları bir çalışmada (10), % 31.1 *S. aureus*, % 15.5 *Str. agalactiae*, % 10.4 *E. coli*, % 8.8 *C. albicans*, % 8.3 *C. pyogenes*, % 7.2 *S. epidermidis*, % 6.7 *P. aureginosa*, % 6.2 anaerobik koklar, % 2.6 *Str. dysgalactia*, % 2.6 *Str. uberis*, % 1.5 *Enterobacter aerogenes*, % 1 *Diplococcus pneumoniae*, % 0.5 *Str. faecalis*, % 3.1 *Proteus vulgaris* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Aydın ve Coşkuner ise (13), 568 süt örneğinden 564 etken izole etmişler; bu etkenlerin % 23.4'ünün koagulaz pozitif stafilokok, % 7.2'sinin koagulaz negatif stafilokok, % 10.6'sının *Str. agalactiae*, % 4.2'sinin *Str. faecalis*, % 8.5'inin *E. coli*, % 7.4'ünün *C. pyogenes*, % 0.3'ünün *Cryptococcus sp.*, % 0.1'inin *Nocardia sp.* ve diğer saprofitik karakterdeki maya ve mantarların olduğunu açıklamışlardır.

Konya yöresinde yapılan bir çalışmada (53), 71 adet klinik ve subklinik mastitisli süt örneğinden yapılan bakteriyolojik ve mikolojik muayeneler sonucunda; *S. aureus* % 39.4, *E. coli* % 23.58, *Str. agalactia* % 8.88, *C. albicans* % 0.73, *K. pneumoniae* % 0.58 ve *Corynebacterium pyogenes* % 0.44 oranlarında izole edilmişlerdir. Yapılan antibiyogram testlerine göre bakterilerin en duyarlı olduğu antibiyotikler Enrofloksasin (% 95.6), Kloramfenicol (% 75.8) ve Linkospektin (% 79.4) olarak bulunmuştur.

Erganiş ve ark. (36), mastitisli sığır ve koyunlardan elde edilen 26 (% 47.3)'ü koagulaz pozitif, 28 (% 50.9)'ü koagulaz negatif ve 1 (% 1.8)'i otoaglutinojen izolat olan toplam 55 *Stafilokok* suşunu biyotiplendirmişlerdir. Biyotiplendirme sonucunda, koagulaz pozitif suşların % 53.8'i (14 suş) *S. aureus*, % 42.3'ü *S. intermedius* ve 1'i *S. hyicus ssp. hyicus* olarak; koagulaz negatif suşların ise % 17.9'u (5 suş) *S. capitis*, % 14.3'ü (4 suş) *S. simulans*, % 14.3'ü (4 suş) *S. coxii*, % 10.7'si (3 suş) *S. caprae*, % 10.7'si (3 suş) *S. hyicus ssp. chromatogenes*, % 10.7'si (3 suş) *S. saprophyticus*, % 7.1'i (2 suş) *S. epidermidis*, % 7.1'i (2 suş) *S. warnei* ve % 7.1'i (2 suş) *S. caseolyticus* olarak tanımlanmışlardır.

Aydın bölgesinde yapılan bir çalışmada (54), 141 adet klinik mastitisli süt örneğinin, 80 (% 57.0)'inden *S. aureus*, 12' (% 8)'sinden *Streptococcus sp.*, 7 (% 5.0)'sinden *E. coli*, 7 (% 5.0)'sinden *Lactobacillus sp.*, 7 (% 5.0)'sinden *K. pneumoniae*, 6 (% 4.0)'sinden *C. pyogenes*, 4 (%3.0)'ünden *Pseudomonas aureginosa*, 18 (% 13)'ünden *C. albicans* izole ve tanımlanmıştır.

Aydın ve Coşkuner (13), 568 mastitisli süt örneğinden 564 etken izole etmişler ve koagulaz pozitif stafilokok suşlarını % 43.2'sinin tetrasiklin, % 60.6'sının ampisilin, % 55.5'inin eritromisin, % 64.7'sinin penisilin, % 71.6'sının neomisin'e duyarlı bulunduğunu belirlemişler ve *S. aureus* suşlarının % 87.5'inin penisiline dirençli olduğunu saptamışlardır.

Messadi ve ark. (66)'nın, 259 süt örneğinin 96'sında *S. aureus*, 25'inde diğer *Staphylococcus sp.*, 66'sında *Streptococcus sp.*, 30'unda *E. coli*, 11'inde *Klebsiella sp.*, 7'sinde *Proteus sp.*, 5'inde *Corynebacterium sp.*, 4'ünde *Enterobacter sp.*, 4'ünde *Actinomyces pyogenes*, 3'ünde *Bacillus sp.*, 2'sinde *P. aeruginosa*, 3'ünde

Morexella phenylpyruvica ve *Salmonella typhimurium*, 1'inde *Citrobacter sp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pasterurella haemolytica* izole etmişler, suşların çoğunun değişik antibiyotiklere dirençli olduğunu bulmuşlar ve en az dirençliliği cefaperozona karşı tespit etmişlerdir.

Holmberg (43), mastitisli inek sütlerinden izole ettiği 218 *S. epidermidis* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılığını incelediğinde, 202'sinin ampisilin, 167'sinin kloramfenikol, 213'ünün klortetrasiklin, 189'unun neomisin, 195'inin oksitetrasiklin ve 202'sinin streptomisin'e, ayrıca incelenen 46 *S. aureus* suşundan ise 42'sinin ampisilin, 41'inin kloramfenikol, 46'sının klortetrasiklin, 45'inin neomisin ve oksitetrasikline, 40'ının penisilin ve 44'ünün de streptomisin'e duyarlı olduğunu açıklamıştır.

İsrail'de yapılan bir çalışmada (22), 60 mastitisli süt örneğinin 25'inden stafilocok izolasyonu yapılmış ve bu suşların 5'ini koagulaz pozitif stafilocokların (*S. aureus*) ve 20'sini koagulaz negatif stafilocokların (12 suş *S. intermedius*, 7 suş *S. haemolyticus* ve 1 suş *S. chromogenes*) oluşturduğu bildirilmektedir.

Fransa'da değişik işletmelere ait ineklerden alınan mastitisli süt örneklerinden 46 *S. aureus*, 1 *S. hyicus* ve 76 koagulaz negatif stafilocok (14 farklı türü içeren) suşunun identifiye edildiği bildirilmektedir (71).

İsveç'te yapılan bir çalışmada (72), % 26'sını *S. haemolyticus*'un oluşturduğu 100 koagulaz negatif stafilocok suşuna yapılan antibiyogramlar sonucunda, suşların 14 çeşit antibiyotiğe dirençli olduğunun saptandığı bildirilmektedir. Suşların % 45'i penisilin ve ampisiline ve % 11'i oksitetrasiklin'e dirençli bulunmaktadır.

Bu çalışmada özellikle meme dokusunda, derinin normal florasını oluşturan koagulaz pozitif ve negatif stafilocokların mastitislerin etiyolojisinde nasıl bir rol oynadığını araştırmak hedeflenmiştir. Bu nedenle biyotiplendirme metodları ve antibiyotik duyarlılık paternleri kullanılarak identifikasyona gidilmesi ve özellikle koagulaz negatif stafilocok türlerinin mastitislerde ne derece etkin olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Örnekler

Aydın yöresinde bulunan değişik çiftliklerdeki ineklere ait süt örnekleri CMT (California Mastitis Test) ayırıcı ile muayene edilerek pozitif bulunan 100 adet süt örneği incelenmek üzere Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir uygulanarak getirildi

3.2. Metod

Laboratuvara getirilen süt örnekleri % 5 koyun kanlı agara (Difco) ekilip, 37°C de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, üreme görülen, gram boyası ile boyandığında gram pozitif gruplar halinde gözlenen ve % 3 H₂O₂ ile katalaz aktivitesi pozitif olan mikroorganizmalar *Micrococcaceae* ailesinden kabul edildi (58).

3.2.1. Mikrokok-Stafilokok Ayırımı

İncelenecek olan mikroorganizma 1 ml Tryptic soy broth (Oxoid) içerisinde çoğaltıldıktan sonra, Mueller-Hinton (Oxoid) agara ekimleri yapıldı. Ekim bölgesinin üzerine Bacitrasin (Oxoid) (0.04 U/ml) diskleri yerleştirildi. 37°C'de 18 saat inkübasyonu takiben disklere dirençli olan suşlar stafilokok, duyarlı olan suşlar ise mikrokok olarak isimlendirildi (58,73).

Stafilokok olarak ayrılan suşlar, 1/5 oranında sulandırılmış sitrathlı tavşan plazması ile lam ve tüp koagulaz testi yapılarak koagulaz pozitif ve koagulaz negatif olanlar ayrıldılar.

3.2.2. Koagulaz Pozitif Stafilokokların Tiplendirilmesi

Koagulaz pozitif stafilokolar, klamping faktör, fosfataz, asetoin, üreaz, hemolizin, mannitol, O/F ve glikoz O/F özelliklerine göre *S. aureus*, *S. intermedius* olarak tanımlanmışlardır (44).

3.2.3. Koagulaz Negatif Stafilocokların Tiplendirilmesi

Koagulaz negatif stafilocoklar novobiosine duyarlılıkları, üreaz aktivitesi, nitrat redüksiyonu, maltoz, mannoz, trehaloz, mannitol, sukroz ve laktoz fermentasyonu ve arjinin hidrolizi açısından değerlendirildi (44).

3.2.4. Novobiosine Duyarlılık Testi

Stafilocoklar içerisinde 3 ml Tryptic Soy Broth (Oxoid) bulunan tüplere inoküle edildi. Kontrol tüpü hariç diğer tüplere 5 µg novobiosin (Oxoid) içeren diskler konulduktan sonra antibiyotiğin besiyerine salınması için 4-5 saniye çalkalanarak, 37°C'de 5 saat inkübasyona bırakıldı. Tüpler bulanıklık açısından gözlemlendi, bulanıklığın olmadığı tüpler novobiosine duyarlı olarak değerlendirildi (64).

3.2.5. Çabuk Üreaz Testi

Besiyeri olarak içerisinde litrede 0.1 g Bacto-yeast extract, 9.1 g potasyum fosfat-monobazik, 9.5 g sodyum fosfat-diabazik, 20 g üre, 0.01 g Bacto-fenol kırmızısı bulunan hazır üre besiyerinden (Difco) 38.7 g 1 L distile suda çözülerek, 0.2 mikron por çaplı membran filtreden süzöldükten sonra tüplere 0.5'er ml dağıtıldı. Ekim yapıldıktan sonra tüpler 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 15., 30. ve 60. dakikalarda besiyerinin pembe veya kırmızı renk alması pozitif olarak değerlendirildi. 60. dakikada renk değişikliği görölmeyen tüpler 4 saate kadar bekletildi (58).

3.2.6. Nitrat Redüksiyonu

Nitrat redüksiyonu için besiyeri olarak 5 g tripton (Oxoid), 5 g neopepton (Difco) 1 L distile suda kaynatılarak çözüldükten sonra pH 7.3'e ayarlandı ve 1 g potasyum nitrat (Sigma), 0.1 g glukoz (Merck) eklenerek 5'er ml'lik miktarlarda tüplere dağıtıldı. 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Tüplere ekimler yapıldıktan sonra 48 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üç damla A ayırıcından (4 g sülfonilik asit, 500 ml 5 M asetik asit) ve üç damla B ayırıcından (3 ml N,

N-dimetil-1-naftilamin) tüplere damlatılarak 30 dakika beklendi. Tüplerde kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (58).

3.2.7. Karbonhidrat Fermentasyonunun İncelenmesi

Karbonhidrat fermentasyonunun incelenmesi için tek şekerli besiyeri kullanıldı. 5 g pepton (Oxoid), 2.5 g NaCl (Merck) 500 ml distile suda çözülerek % 1'lik peptonlu su hazırlanarak, pH 7.2'ye ayarlandı. 100 cc. peptonlu su içerisine % 1 oranında ilgili şeker ve % 1 oranında Andrade ayracı katılarak tekrar pH kontrolü yapıldıktan sonra küçük tüplere dağıtıldı. Tüpler 100°C'de 3 gün üst üste tinalizasyon ile sterilize edildi. Ekilen tüpler 37°C'de 48 saatlik inkübasyonu takiben besiyerinin rengindeki kızarma, içeriği olan şekerin kullanıldığını göstermektedir (73).

3.2.8. Arjinin Hidrolizi

5 g pepton (Oxoid), 5 g beef extract (Difco), 0.625 g bromkrezol moru (Merck), 14 ml krezol kırmızısı (Merck), 5 g pridoksal (Merck), 10 g L. Arjinin (Merck) 1 L distile su içerisinde çözülerek, pH 6.5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra tüplere 3'er ml dağıtılarak 121°C'de 10 dakika sterilize edildi. Ekim yapılan tüpler 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve 3 gün süreyle takip edildi. Besiyerinin mor olan renginin sararması, ardından kırmızısı renk alması pozitif, sarı renkte kalması ise negatif olarak değerlendirildi (58).

3.2.9. Jelatinaz Varlığının İncelenmesi

Hazırlanan beef extract solusyonuna % 12 jelatin katılarak pH= 7' ye ayarlanıp, tüplere paylaştırdıktan sonra sterilizasyon için 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben tüpler buzdolabına kaldırıldı, 15 dakika sonra besiyerinin tekrar katılaşmadığı tüplerdeki stafilokoklar, jelatinaz pozitif olarak değerlendirildi (58).

3.2.10. Slime Faktör Varlığının İncelenmesi

Slime faktör, Christensen yöntemi ile incelendi (16). Koyun kanlı agarda üretilmiş suşlar 5 ml Tryptic soy broth (Oxoid) içeren cam tüplere ekilerek 48 saat 37°C'de inkübe edildi. Tüplerin içerisindeki besiyeri boşaltıldıktan sonra yerlerine % 0.1'lik safranin çözeltisi konarak çalkalandı ve 5 dakika bekletildi. Daha sonra boya çözeltisi boşaltılarak, tüpler birkaç kez su ile çalkalandı. Tüp çeperinde gözle görülür bir tabaka oluşmuşsa bu tüplere ekilmiş olan suşlar slime (+) olarak değerlendirildi. Besiyerinin tüpte ulaştığı düzeyde bulunan halka şeklindeki boyanma slime olarak kabul edilmedi (58).

3.2.11. Oksidaz Testi

Ayıraç olarak Dimetilsulfoksit içerisinde eritilerek hazırlanan % 6'lık tetramethpherülen diamine hydrochloride kullanıldı. Ayıraç, TSA ve/veya nutrient agar da üretilen koloniler üzerine damlatıldığında 1-2 dakika içerisinde mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (58).

3.2.12. Antibiyotik Duyarlılıkları

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Müeller-Hinton Agar (Difco) kullanılarak Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi uygulandı (17).

Hazırlanan Müeller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra donmaya bırakıldı. Stafilokokların 0.5 Mc Farland eşeline göre hazırlanan buyyon kültürlerinden plak besiyerinin yüzeyine her tarafa yaydırılacak şekilde ekimleri yapıldı. Ekim yüzeyinin kuruması için birkaç dakika beklenildikten sonra diskler ucu alevden geçirilerek steril edilmiş pensetle kenardan 1.5 cm, birbirlerinden 1.5 cm olacak şekilde yerleştirildi. Kullanılan antibiyotik diskleri ve disk içerikleri şunlardır :

Penicillin G (Oxoid, P=10 U), Kanamycine (Oxoid, K=30 µg), Erythromycin (Oxoid, E=15 µg), Ciprofloxacin (Oxoid, CIP=5 µg), Sulbactam+Ampicillin (Oxoid, SAM=Sulbactam 10 µg, Ampisilin 10 µg), Oksitetrasiklin (Oxoid, OT=30 µg), Danofloxacin (Oxoid, DFX=5 µg), Amoxicillin- Clavulanic Acid (Oxoid, AMC= 10 µg).

Plaklar 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra, 37°C'de 24 saat inkübe edilerek, disk çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek Tablo 9'da gösterilmiştir (17).



4. BULGULAR

Bu araştırmada Aydın y6resinde bulunan iftliklerdeki CMT ile pozitif bulunan subklinik mastitisli ineklere ait 100 adet s6t 6rneğinden 27 adet stafilokok suşu izole edildi. Stafilokok suşlarının 12 (% 44)'si koagulaz pozitif ve 15 (% 56)'i koagulaz negatif olarak belirlendi.

Koagulaz pozitif suşlarının 7 suş (% 58) *S. aureus*, 5 suş (% 42) *S. intermedius* olarak identifiye edildi (Tablo 1). İdentifiye edilen koagulaz pozitif stafilokokların k6lt6rel ve biyokimyasal 6zellikleri Tablo 2'de g6sterilmektedir.

TABLO 1. Koagulaz Pozitif Suşların Biyotipleri (n=12)

Koagulaz Pozitif Suşlarının Biyotipleri	İdentifiye Edilen Biyotiplerin Sayısı (adet)	İdentifiye Edilen Biyotiplerin Y6zdesi (%)
<i>S. aureus</i>	7	58
<i>S. intermedius</i>	5	42

TABLO 2. Koagulaz Pozitif Stafilokokların K6lt6rel ve Biyokimyasal 6zellikleri (n= 12)

Testler	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>
Oxidase	-	-
Raffinose	-	-
Sucrose	+	+
Maltose	+	bilinmiyor
D-mannitol	+	(d)
D-Trehalose	+	+
Nitrat red6ksiyonu	+	+
Arjinin hidrolizi	zayıf pozitif	bilinmiyor
Ureaz	zayıf pozitif	+
Koagulaz	+	+
Klumping fakt6r	+	d
Hemoliz	+	d
DNase agar	+	+
Novobiocin direnci	-	-

Koagulaz negatif suşların ise 6 suş (% 40) *S. hyicus*, 5 suş (% 34) *S. epidermidis*, 1 suş (% 6.5) *S. haemolyticus*, 1 suş (% 6.5) *S. sciuri*, 1 suş (% 6.5) *S. lentis* ve 1 suş (% 6.5) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak tanımlanmıştır (Tablo 3). Tanımlanmış koagulaz negatif stafilokokların kültürel ve biyokimyasal özellikleri Tablo 4’de gösterilmektedir.

Tablo 3. Koagulaz Negatif Suşunun Biyotipleri (n=15)

<i>Koagulaz Negatif Suşlarının Biyotipleri</i>	<i>İ tanımlanmış Edilen Biyotiplerin Sayısı (adet)</i>	<i>İ tanımlanmış Edilen Biyotiplerin Yüzdesi (%)</i>
<i>S. hyicus</i>	6	40
<i>S. epidermidis</i>	5	34
<i>S. haemolyticus</i>	1	6.5
<i>S. sciuri</i>	1	6.5
<i>S. lentis</i>	1	6.5
<i>S. cohnii subsp. cohnii</i>	1	6.5

Tablo 4. Koagulaz Negatif Stafilokokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri (n= 12)

Testler	<i>S. hyicus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. lentis</i>	<i>S. cohnii subsp. cohnii</i>
Oxidase	-	-	-	+	+	-
Raffinose	-	-	-	-	+	-
Sucrose	+	+	+	+	+	-
Maltose	-	+	+	d	d	d
D-mannitol	-	-	d	+	+	d
D-Trehalose	+	-	+	+	+	+
Nitrat redüksiyonu	+	zayıf +	d	+	+	-
Arjinin hidrolizi	+	zayıf +	+	-	-	-
Ureaz	d	+	-	-	-	-
Koagulaz	-	-	-	-	-	-
Klumping faktör	-	-	-	-	-	-
Hemoliz	-	zayıf -	+	-	-	d
DNase agar	+	zayıf -	bilinmiyor	zayıf +	zayıf +	zayıf -
Novobiocin direnci	-	-	-	+	+	+

Stafilokok suşlarının slime değerleri Tablo 5' de gösterilmiştir.

Tablo 5. Stafilokok Suşlarının Slime Değerleri

Slime Değerleri	Koagulaz Pozitif Stafilokoklar		Koagulaz Negatif Stafilokoklar	
	Suşlar	%	Suşlar	%
	Slime (+)	2	17	1
Slime (++)	1	8	4	27
Slime (+++)	4	33	3	20
Slime (-)	5	42	7	46

Slime özelliğinin stafilokok türlerine göre dağılımı Tablo 6' da gösterilmiştir.

Tablo 6. Slime Özelliğinin Stafilokok Türlerine Göre Dağılımı

TÜRLER	TOPLAM	n	%
S. aureus	7	5	71
S. intermedius	5	2	40
S. hyicus	6	3	50
S. epidermidis	5	4	80
S. cohnii subsp. cohnii	1	1	100
S. haemolyticus	1	-	0
S. lentis	1	-	0
S. sciuri	1	-	0

%= Tür içindeki yüzde

Koagulaz pozitif ve negatif stafilokok suşlarının jelatinaz varlığı Tablo 7' de gösterilmektedir.

Tablo 7. Jelatinaz Özelliğinin Stafilokok Türlerine Göre Dağılımı

Patojenite Kriterleri	Koagulaz Pozitif Stafilokoklar		Koagulaz Negatif Stafilokoklar	
	n	%	n	%
Jelatinaz Varlığı	2	17	4	27

Stafilokokların antibakteriyellere duyarlılıkları değerlendirilirken verilen inhibisyon zon sınırları gözönünde bulundurulmuştur (17). Bu bulgular Tablo 8 de gösterilmiştir.

Tablo 8. Kullanılan Antibakteriyellerin Etki Derecelerine Göre İnhibisyon Zon Sınırları

Antibiyotikler	Dirençli (R)	Az Duyarlı (İ)	Duyarlı (S)
P (10 U)	≤ 28	-	≥ 29
K (30 µg)	≤ 19	21 – 23	≥ 26
E (15 µg)	≤ 13	14 – 17	≥ 18
CIP (5 µg)	≤ 15	16 – 20	≥ 21
SAM (Sulbactam 10 µg) (Ampisilin 10 µg)	≤ 11	12 – 13	≥ 14
OT (30 µg)	≤ 8	17 – 19	≥ 21
DFX (5 µg)	≤ 15	16 – 20	≥ 21
AMC (Amoksisilin 20 µg) (Clavulanik asit 10 µg)	≤ 19	-	≥ 20

Antibiyotik duyarlılıklarının stafilokok türlerine göre dağılımı Tablo 9' da gösterilmiştir.

Tablo 9. Antibiyotik Duyarlılıklarının Stafilokok Türlerine Göre Dağılımı

Stafilokok Türleri	ANTİBİYOTİKLER																							
	P			K			E			CIP			SAM			OT			DFX			AMC		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>S. aureus</i>	6	-	1	2	5	-	2	-	5	-	7	-	-	-	7	-	-	6	-	-	7	2	-	5
<i>S. intermedius</i>	2	-	3	1	3	1	-	-	5	-	5	-	-	-	5	-	-	5	-	-	5	1	-	4
<i>S. hyicus</i>	1	-	5	-	4	2	-	-	6	-	6	-	-	-	6	-	-	6	-	-	5	2	-	4
<i>S. epidermidis</i>	2	-	3	1	2	2	1	-	4	1	4	-	-	-	5	1	-	4	-	2	3	-	-	5
<i>S. haemolyticus</i>	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1
<i>S. sciuri</i>	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	1	-	-
<i>S. lentis</i>	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1

P : Penisilin

K : Kanamisin

E : Eritromisin

CIP : Siprofloksasin

SAM : Sulbaktam + Ampisilin

OT : Oksitetrasiklin

DFX : Danofloksasin

AMC : Amoksisilin + Klavulanik Asit

S = Duyarlı

I = Az Duyarlı

R = Dirençli

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Stafilokoklar, Micrococcaecae ailesi içinde yer alan ve üzerinde uzun yıllardır tıbbi açıdan önemli araştırmalar yürütülen cinsi oluşturlar (9). Klinik çalışmalarda önceleri saprofit ve değersiz kontaminantlar olarak kabul edilen *koagulaz negatif stafilokoklar*, son 30 yıl içerisinde çok önemli infeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedirler (1, 46, 49, 69, 77, 82).

Son yıllara kadar kültürde üreyen *koagulaz negatif stafilokoklar*, çoğu laboratuvarlar tarafından deri ve mukoza florasında en sık bulunan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmekteydi (4, 14). Bugün için *koagulaz negatif stafilokokların* patojenitesinin anlaşılması, çeşitli çalışmalarda *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri* gibi türlerin infeksiyon etkeni olarak bildirilmesi (4, 75), türler arasında gözlenen farklı antibiyotik paternleri ve dirençli suşların artması *koagulaz negatif stafilokokların* tiplendirilmesinin epidemiyolojik ve klinik açılarından gerekliliğini ortaya koymaktadır (29, 32, 61, 88).

Çok önemli patojenler olan *koagulaz negatif stafilokokların* tiplendirilmesi için yeterli bir şema hala saptanamamıştır (81). Bazı araştırmacılar (84) *koagulaz negatif stafilokokların* fajla tiplendirilmeleri gerektiğini savunurken, fajla yapılan tiplendirmelerin yanlış sonuçlar verdiğini gösteren başka araştırmalarda bulunmaktadır (25).

Bugün için mikrokok stafilokok ayırımında sadece basitrasin duyarlılık testinin yeterli bir kriter olduğu savunulmaktadır (73).

Bu çalışmada gram pozitif ve katalaz aktivitesi pozitif sonuç veren suşlara basitrasin duyarlılık testi uygulanıp mikrokoklardan kesin ayrımları yapıldı.

İlk kez Christensen ve ark. ları (26) patojen *S. epidermidis* suşlarının kültür tüpünün iç yüzeyini kaplayarak bir ağ (slime) oluşturdıklarını göstermişlerdir. Jones (49), slime maddesi oluşturan suşlar arasında en fazla *S. epidermidis*'e rastlandığını bildirmiştir. Christensen (25), *S. warneri* suşları hariç, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* ve *S. hominis* suşlarında da slime pozitifliği tespit etmiştir. Ponce de Leon (75) slime pozitifliğini *S. epidermidis* suşlarında % 73, *S. hominis* suşlarında

% 57 ve *S. haemolyticus* suşlarında % 67, *S. warneri* suşlarında ise % 0 olarak bildirmektedir. Barcs ve ark. (16), *S. epidermidis*'den sonra en sık *S. hominis* ve *S. saprophyticus* türlerinde slime pozitifliği saptamıştır.

Bu çalışmada *S. aureus* suşlarında % 71, *S. intermedius* % 40, *S. hyicus* % 50, *S. epidermidis* % 80, *S. cohnii subsp. cohnii* türünde % 100 slime pozitifliği saptanırken, *S. haemolyticus*, *S. lentis* ve *S. sciuri*'de ise slime pozitifliğine rastlanılmamıştır.

Yukarıdaki bilgilerin ışığı doğrultusunda slime oluşturma özelliğinin tek başına tiplendirmede kullanılmaktan çok, bir patojenite testi olarak kullanılması daha uygun gözükmektedir (16,75).

Birçok çalışmada (6, 16, 18, 24, 45, 55) patojen olduğu kesinleşmiş koagulaz negatif stafilokok suşlarında slime testi pozitifliği, saprofit stafilokoklara oranla daha yüksek olarak saptanmıştır. Christensen (25), klinik önemi olan kan izolatlarında % 60 oranında slime pozitifliği saptarken, kontaminantlarda bu oranı % 37 olarak saptamıştır. Akova ve ark. (6), izole ettikleri koagulaz negatif stafilokok suşlarında belirledikleri slime faktör sıklığı ile infeksiyon oluşturma sıklığı arasında bir korelasyon tespit etmişlerdir.

Yurdumuzda bu konu ile ilgili tek bir çalışma (5) olup, araştırmacı slime yapımının infeksiyonun patogenezini göstermesi yönünden yararlı olduğunu bildirmiştir. Stafilokoklardaki bu özellik scanning ve transmission elektron mikroskopi, mannoz spesifik lektin aglutinasyon test (60) ve spektrofotometrik yöntemlerle (27) de gösterilebilmekle beraber, slime oluşumunda kullanılan tüp yönteminin daha kolay, pratik, ekonomik ve rutinde rahatça kullanılabilir bir test olduğunu savunulmaktadır (28).

Hassasiyeti açısından üzerinde hala tartışmalar yapılan Micro-Scan, API-Staph Ident gibi yöntemler pratik olduklarından dolayı bazı araştırmacılar tarafından önerilmelerine rağmen (4), özel kit ve masraf gerektirdiğinden ülkemiz için pahalı yöntemlerdir.

Tiplendirmede stafilokokların antibiyotik duyarlılığının da kullanılacağı bildirilmektedir (32).

Tiplendirme için kullanılan SDS-PAGE, Immunoblot, nükleik asit hibridizasyonu, mikrotiter assay gibi ileri teknikler epidemiyolojik olarak daha kesin sonuçlar verebilmelerine rağmen, bu yöntemlerle bile % 11 oranında tiplendirilemeyen stafilokoklar bulunmaktadır (28, 31, 63). Bugün için hiçbir yöntem tek başına ideal sayılmayıp, epidemiyolojik çalışmalarda bunların kombinasyonları kullanılmaktadır (4).

Bir patojenite kriteri olarak kabul edilen jelatinaz enziminin varlığı da tiplendirmede önem taşımaktadır (34).

Bu çalışmada da, koagulaz pozitif stafilokok izolatlarında % 17, koagulaz negatif stafilokok izolatlarında ise % 27 oranında jelatinaz enzimi varlığı tespit edilmiştir.

Koagulaz varlığı araştırılırken kümeleşme faktör (lam testi) daha çabuk sonuç verdiği ve daha güvenilir olduğundan tercih edilmektedir (15). Ancak testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagulaz açısından tüp testi de uygulanarak test doğrulanmalıdır (3, 57). Koagulaz testi *S. aureus*'ları tanımlamada en önemli kriter olduğundan, bu cins içinde olduğuna karar verilen bir mikroorganizmada beta hemoliz ve sarı pigment varlığına veya yokluğuna bakılmaksızın koagulaz testi uygulanması ve pozitif bulunan suşların *S. aureus* olarak kabul edilmesi önerilmektedir (79). Koagülaz aktivitesi pozitif olan *S. intermedius*, *S. hyicus* gibi koagulaz negatif stafilokoklar grubunda yer alan türler bulunmasına rağmen, bunların hayvan patojenleri olduğu bildirilmektedir (15, 57). Tüp testinde 37 °C'de, 4 saatlik inkubasyonu takiben negatif bulunan suşların, oda ısısında 1 saatlik inkubasyonu sonucu plazmayı pıhtılaştırabilecekleri bildirilmektedir (15).

Bu çalışmada 37 °C'de negatif bulunan suşlardan oda ısısında inkubasyonu sonucunda pozitif olanına rastlanmadı.

Mannitol fermentasyonu da stafilokoklar için önem verilen patojenite kriterlerinden birisidir (80).

Bu çalışmada *koagulaz pozitif stafilokok* suşlarının % 75'i, *koagulaz negatif stafilokok* suşlarının ise % 20'i mannitol pozitif reaksiyon vermiştir. Mannitol fermentasyonu, beta hemoliz ve sarı pigment varlığı bugün için *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede değerli kriterler olarak kabul edilmemektedir (81).

Pekçok rutin teşhis laboratuvarlarında koagulaz aktivitesine bakılarak koagulaz negatif stafilokoklar normal ve deri florasında en sık rastlanan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmektedir (14, 15, 25).

Serotiplendirme gerek yöntemin pahalılığından, gerekse spesifik serum hazırlamanın güçlüğünden dolayı hiç tercih edilmeyen bir yöntemdir (68).

Faj tiplendirme yöntemlerinde *koagulaz negatif stafilokoklar* için henüz bir standart oluşturulamamıştır. Bazı araştırmalarda (63, 68), faj tiplendirmesinin epidemiyolojik olarak suşları ayırt etmede yeterli hassasiyetinin bulunmadığı vurgulanmaktadır.

Koagulaz negatif stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi, özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisi ve eradikasyonu açısından problem oluşturmaktadır (20, 23, 29, 41, 59, 87). Stafilokoklar sporsuz bakteriler içersinde en dirençli bakterilerdendir (19). Penisilinlerin kullanılmaya başlanıldığı yıllarda *S. epidermidis* suşlarının % 80'i penisiline duyarlıyken, 1940'lardan sonra bu direnç giderek artmış, bugün için % 85-90 oranlarına ulaşmıştır (56, 62). Refsall ve ark. (77) 1992 yılında çeşitli klinik örneklerden izole ettiği *koagulaz negatif stafilokok* suşlarında penisilin direncini % 79.9, ülkemizde Kurt ve ark. (62) 1992 yılında % 64 olarak bildirmişlerdir. Çiftçioğlu (28), 1991 yılında sağlıklı bireylerin burunlarından izole ettiği stafilokoklarda penisilin direncini % 38.2 olarak saptamıştır.

Böylesine yüksek oranda direnç oluşum mekanizmasıyla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda en büyük rolü plazmidler aracılığı ile aktarılabilen beta laktamaz enziminin aynadığı saptanmıştır (19, 28, 47). Araştırma sonuçları ülkemizde yüksek oranda bulunan penisilin direncinin önemli bir sorun olduğunu göstermekte ve beta laktamaz içeren stafilokokların sebep olduğu enfeksiyonlarda

bilinçsizce penisilin grubu antibiyotik kullanımının antibiyotik duyarlılık testleri yapılarak önlenmesi gerekliliğini vurgulamaktadır.

Koagulaz negatif stafilokoklarda 1980' li yıllarda penicillin direnci % 41-74 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada da tüm izolatların % 49'unun penisilin'e dirençli ve % 100'ünün sulbactam + ampisilin'e duyarlı olduğu saptanmıştır. Penisilinün düzensiz dozlarda verilmesi direnç gelişiminden başka L form oluşumuna da neden olmaktadır (84).

Tıp alanında koagulaz negatif stafilokoklara son zamanlarda yoğun ilgi gösterilirken, Veteriner Hekimlikte bu beklenen ilgi ile çok fazla karşılaşmamaktadır. Hayvancılık sektöründe özellikle süt veren hayvanların meme bezinde yangı ile karakterize, süt veriminin azalmasına, süt kalitesinin bozulmasına ve önemli derecede ekonomik kayıplara sebep olan bir hastalık olarak tanımlanan mastitis vakalarında ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalara göre, mastitislerin % 60-65'ini ve subklinik mastitislerin ise % 80-85'ini stafilokoklar oluşturmaktadır. Stafilokokların % 60-65'ini *S. aureus*, geriye kalanını da *koagulaz negatif stafilokoklar* oluşturmaktadır (2, 7, 8, 12, 21, 38, 78, 85, 86).

İsrail'de yapılan bir çalışmada (22), 60 mastitisli süt örneğinin 25 (% 42)'inden stafilokok izolasyonu yapılmış ve bu suşların 5 (% 20)'ini *koagulaz pozitif stafilokokların* (*S. aureus*) ve 20 (% 80)'sini *koagulaz negatif stafilokoklar* (12 suş *S. intermedius*, 7 suş *S. haemolyticus* ve 1 suş *S. chromogenes*) oluşturduğu bildirilmektedir. Fransa'da yapılan bir çalışmada (71), 20 çiftlikten alınan mastitisli süt örneklerinden 46 *S. aureus*, 1 *S. hyicus* ve 76 *koagulaz negatif stafilokok* (14 farklı türü içeren) suşunun identifiye edildiği bildirilmektedir. Messadi ve ark. (66)'nın, 259 süt örneğinin 96'sında *S. aureus*, 25'inde diğer *Staphylococcus sp.* izole etmişlerdir.

Aydın bölgesinde yapılan bir çalışmada (54), 141 adet klinik mastitisli ineklere ait süt örneklerinin 80 (% 57.0)'inden *S. aureus*, Erganiş ve ark. (36), mastitisli sığır ve koyunlardan elde edilen 26'sı *koagulaz pozitif*, 28'i *koagulaz negatif* ve 1'i otoaglutinojen izolat olan toplam 55 *Stafilokok* suşunu biyotiplendirmişlerdir. Bu biyotiplendirme sonucunda, koagulaz pozitif suşların

% 53.8'i (14 suş) *S. aureus*, % 42.3'ü *S. intermedius* ve 1'i *S. hyicus ssp. hyicus* olarak; koagulaz negatif suşların ise % 17.9'u (5 suş) *S. capitis*, % 14.3'ü (4 suş) *S. simulans*, % 14.3'ü (4 suş) *S. coheni*, % 10.7'si (3 suş) *S. caprae*, % 10.7'si (3 suş) *S. hyicus ssp. chromatogenes*, % 10.7'si (3 suş) *S. saprophyticus*, % 7.1'i (2 suş) *S. epidermidis*, % 7.1'i (2 suş) *S. warneri* ve % 7.1'i (2 suş) *S. caseolyticus* olarak tanımlanmıştır.

Bu araştırma sonucunda, mastitisli 100 adet süt örneğinden 27 adet stafilocok suşu izole edildi. Elde edilen suşların 12 (% 44)'si koagulaz pozitif ve 15 (% 56)'i koagulaz negatif olarak ayrıldı. Koagulaz pozitif suşların 7 (% 58)'si *S. aureus*, 5 (% 42)'i *S. intermedius* olarak, koagulaz negatif suşların 6 (% 40)'sı *S. hyicus*, 5 (% 34)'i *S. epidermidis*, 1 (% 6.5)'i *S. haemolyticus*, 1 (% 6.5)'i *S. sciuri*, 1 (% 6.5)'i *S. lentis* ve 1 (% 6.5)'i *S. colnii subsp. cohnii* olarak tanımlanmıştır.

Bir çalışmada (43), mastitisli inek sütlerinden izole ettiği 218 *S. epidermidis* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılığını incelediğinde, 202'sinin ampisilin, 167'sinin kloramfenikol, 213'ünün klortetrasiklin, 189'unun neomisin, 195'inin oksitetrasiklin ve 202'sinin streptomisin'e, ayrıca incelenen 46 *S. aureus* suşundan ise 42'sinin ampisilin, 41'inin kloramfenikol, 46'sının klortetrasiklin, 45'inin neomisin ve oksitetrasikline, 40'ının penisilin ve 44'ünün de streptomisin'e duyarlı olduğunu açıklamıştır. İsveç'te % 26'sını *S. haemolyticus*'un oluşturduğu 100 koagulaz negatif stafilocok suşuna yapılan antibiyogramlar sonucunda, suşların 14 çeşit antibiyotiğe dirençli olduğunun saptandığı bildirilmektedir. Suşların % 45'i penisilin ve ampisiline ve % 11'i oksitetrasiklin'e dirençli bulunmaktadır (72).

Yurdumuzda yapılan bir çalışmada (13), 568 mastitisli süt örneğinden 564 etken ayırmışlar ve bunlardan koagulaz pozitif stafilocok suşlarının % 43.2 tetrasiklin, % 60.6 ampisilin, % 55.5 eritromisin, % 64.7 penisilin, % 71.6 neomisin'e duyarlı bulunduğunu belirlemişler ve *S. aureus* suşlarının % 87.5 oranında penisiline dirençli olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada izole edilen suşlara yapılan antibiyogram testleri sonucunda izolatların tümünün sulbactam + ampisilin'e duyarlı, % 49'unun penisilin'e dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizde koagulaz negatif stafilocokların tür tayini pekçok mikrobiyoloji laboratuvarında yapılmamakta ve tanı hatalarıyla karşılaşmaktadır. Bu sebeble *koagulaz negatif stafilocok* cinsi içindeki pekçok türün önemi bugün bile tam olarak değerlendirilememektedir.

Tıpta, çoklu antibiyotik direncini yayabileceği, hastane infeksiyonlarına yol açabileceği ve özellikle risk grubuna giren hastaları etkileyeceği için, ister infeksiyon etkeni, ister potansiyel patojen olarak *koagulaz negatif stafilocokların* tiplendirilerek, doğru tanının konması ve patojenite özelliği taşıyan suşların ayırte edilmesi önem taşımaktadır. Veteriner Hekimlik alanında da, elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, mastitis vakalarında *koagulaz pozitif stafilocokların* yanında *koagulaz negatif stafilocokların* da hastalığın patogenezesinde etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Rutin Teşhis Laboratuvarlarında *koagulaz negatif stafilocokların* gözardı edildiği düşünülürse elde edilen sonuç dikkat çekicidir. Yapılan bu çalışma mastitis etiyojisinde *koagulaz negatif stafilocokların* da çok önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmaktadır. Bu veriler doğrultusunda, *koagulaz negatif stafilocokların*, mastitis vakalarından izolasyon ve identifikasyon metotlarının rutin teşhise yerleştirilmesi ve pratik identifikasyon metotlarının yaygınlaştırılmasının gerekliliği savunulmaktadır.

ÖZET

Bu araştırmada Aydın yöresinde bulunan çiftliklerdeki subklinik mastitisli ineklere ait 100 adet süt örneğinden 27 stafilokok suşu izole edildi. Stafilokok suşlarının 12 (% 44)'si koagulaz pozitif ve 15 (% 56)'i koagulaz negatif olarak tespit edildi.

Koagulaz pozitif olarak belirlenen suşlarının 7'si (% 58) *S. aureus*, 5'i (% 42) *S. intermedius* olarak tanımlandı. Koagulaz negatif suşların ise 6'sı (% 40) *S. hyicus*, 5'i (% 34) *S. epidermidis*, 1'i (% 6.5) *S. haemolyticus*, 1'i (% 6.5) *S. sciuri*, 1'i (% 6.5) *S. lentis* ve 1'i (% 6.5) *S. cohnii* subsp. *cohnii* olarak tanımlandı.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Müeller-Hinton Agar (Difco) kullanılarak Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi uygulandı (9). Antibiyogram testinde, Penisilin, Kanamisin, Eritromisin, Siprofloksasin, Sulbaktam+Ampisillin, Oksitetrasiklin, Danofloksasin, Amoksisilin- Klavulanik Asit diskleri kullanıldı. Antibiyogram testleri sonucunda suşların tümünün sulbaktam + ampisilin'e duyarlı ve % 49'unun ise penisilin'e dirençli olduğu tespit edildi.

SUMMARY

In this study 27 Staphylococcus strains were isolated from milk of dairy cows with subclinical mastitis obtained from dairy farms located AYDIN region. 12 of those strains (44%) were found to be coagulase positive and 15 of those (56%) were found to be coagulase negative.

7 of those strains (58%) found coagulase positive were *S. aureus* and 5 of those (42%) were called as *S. intermedius*. 6 of those strains (40%) were *S. hyicus*, 5 of those (34%) were *S. epidermidis*, 1 of those (6.5%) was *S. haemolyticus*. In addition 1 *S. sciuri* (6.5%), 1 *S.lentis* (6.5%), 1 *S. cohnii subsp. cohnii* (6.5%) were also isolated.

Kirby-Bauer Disc Diffusion method applied on Müeller- Hinton Agar (Difco) was used for antibiotic sensitivity tests. In this test, penicillin, canamycine, erythromicine, ciprofloxacin, sulbactam+ampicillin, oxytetracycline, danofloxacin, amoxicillin+ clavulanic acid discs were used. All those strains were found to be sensitive to sulbactam+ampicillin and 49% those were found to be resistant to penicilline.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanım *Doç. Dr. Osman KAYA*'ya, çalışmalarım sırasında sağladıkları olanaklarla araştırmanın yapılmasında katkıda bulunan *Prof. Dr. Ferda AKAR* ve *Araş. Gör. Şükrü KIRKAN*'a, literatürlere ulaşmamda yardımcı olan *Özlem SERİN*'e, ayrıca desteklerini esirgemeyen *Tülay KURT*'a ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi iletirim.



KAYNAKLAR

1. **Abigail, A.S., Dixie, D.W.** (1994): Bacterial Pathogenesis. 1 st. ed. Washington D.C., ASM Press, 30-41.
2. **Ahl, A.S., Gibson, C.D., Kirk, J.H., Kaneene, J.B., Ahl, J.G.** (1989): Cost of mastitis and its prevention in four dairy cattle herds on St. Croix, US Virgin Islands. Food Animal Economics, J.A.V.M.A., 194 (10), 1418-1421.
3. **Akan, E.** (1993): Tıbbi Microbiology. 2. Baskı, Saray Medical Yayıncılık, İzmir, 1-18.
4. **Akan, Ö.A., Özalp, M., Şener, B., Hayran, M., Baykal, M.** (1992): Stafilocokların biyokimyasal tiplendirilmesi ve bilgisayar kullanımı. Mikrobiyoloji Bülteni, 26, 103-107.
5. **Akova, M., Gür, D., Akalın, H.E., Baykal, M.** (1989): Klinik önemi olan Staphylococcus epidermidis suşlarının saptanmasında slime testinin yeri. İnfeksiyon Dergisi, 3: 321-326.
6. **Akova, M., Gür, D., Akalın, H.E., Baykal, M.** (1989): Klinik önemi olan Staphylococcus epidermidis suşlarının saptanmasında slime testinin yeri. İnfeksiyon Dergisi, 3, 321-326.
7. **Alaçam, E., Dinç, D.A., Erganiş, O., Tekeli, T., Uçan, U.S.** (1994): Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde kuru dönemde antibiyotik uygulamalarının etkisi. J. Vet. Animal Sci., 18, 241-250.
8. **Alaçam, E., Tekeli, T., Sezen, Y., Erganiş, O.** (1986): Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde cefaperazon'un etkisi üzerinde çalışma. S.Ü. Vet. Fak. Derg., 2(1), 65-74.
9. **Archer, G.L.** (1990): Staphylococcus epidermidis and other coagulase negative staphylococci. In : Mandel, G.L., Douglas, R.G., Benett. J.E. (eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 3rd ed., Melbourne, Churchill Livingstone, 1511-1517.
10. **Arda, M., İstanbulluoğlu, E.** (1979): Mastitislere neden olan aerob. anaerob ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili olan antibiyotik ve fungusitlerin saptanması. A.Ü.Vet. Fak. Derg., 26(3-4), 14-29.

11. **Arda, M., Mimbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M., Diker, K.S.** (1997): Özel Mikrobiyoloji. 4. Baskı. Medisan Yayın Serisi No: 26, Ankara, s: 39-45.
12. **Ateş, M., Erganiş, O., Çorlu, M., Serpek, B.** (1991): Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDH aktivitesi. Doğa. Tr. Of Vet. Animal Sci., 47, 152-157.
13. **Aydın, N., Coşkun, M.R.** (1981-1983): Ankara bölgesinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan aerobik mikroorganizmaların ve mantarların izolasyon, identifikasyon ve antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının saptanması üzerine çalışmalar. Etlik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg., 5(4-5), 7-28.
14. **Bal, Ç., Altun, B., Anđ, Ö.** (1983): Üriner sistem enfeksiyonu ve kolonizasyonunda *Staphylococcus haemolyticus*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 23, 159-164.
15. **Baron, E.J., Finegold, S.M.** (1991): Diagnostic Microbiology. 8th ed., C.V. Mosby Co., USA.
16. **Batrcs, I., Valyi-Nagy, T., Panovics, J.**: Clinical occurrence and virulence testing of coagulase negative staphylococci. Acte Microbiologyca Hungarica, 36, 415-424.
17. **Bauer, A.U., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Tarck, M.** (1966): Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. J. Clin. Pathol., 45, 493-494.
18. **Bayston, R., Compton, C., Richards, K.** (1994): Production of extracellular slime by coryneforms colonizing hydrocephalus shunts. Journal of Clinical Microbiology, 32, 1705-1709.
19. **Bilgehan, H.** (1993): Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 5. Baskı, Ankara, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, s. 212-240.
20. **Boussard, P., Pithsy, A.** (1993): Relation between slime production, antibiotic sensitivity and the phenotype of coagulase negative staphylococci. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 18, 271-274.
21. **Bramley, A.I., Dodd, F.H.** (1984): Reviews of the progress of dairy science : mastitis control-progress and prospects. J. Dairy Res., 51, 481-512.

22. **Chaffer, M., Leithner, G., Winkler, M., Saran, A.** (1998): Coagulase negative *Staphylococcus intermedius* isolated from milk from dairy cows in Israel. *Vet. Rec.*, 143(21), 592-593.
23. **Chomarat, M., Espinouse, D., Flandrois, J.P.** (1991): Coagulase negative staphylococci emerging during teicoplanin therapy and problems in the determination of their sensitivity. *J. of Antimicrobial Chemotherapy*, 27, 475-480.
24. **Christensen, G.D., Baddour, L.M., Simpson, W.A.** (1987): Phenotypic variation of *Staphylococcus epidermidis* slime production *in vitro* and *in vivo*. *Infection and Immunity*, 55, 2870-2877.
25. **Christensen, G.D., Parisi, J.T., Bisno, A.L., Simpson, W.A., Beachey, E.H.** (1983): Characterization of clinically significant strains of coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 18, 258-269.
26. **Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L., Beachey, E.H.** (1984): Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response. *Lancet*. I., 365-367.
27. **Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barret, F.F., Melton, D.M., Beaches, E.H.** (1985): Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 996-1006.
28. **Çiftçiöğlü, N.** (1991): Bronşial astım ve rinitli hastaların burun sekresyonlarından izole edilen koagülaz negatif stafilokokların tiplendirilmeleri, bunlara karşı uygulanan bazı patojenite testleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. A.Ü. Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
29. **Degener, J.E., Heck, M.E.O.C., Leeuwen, W.J., Heemskerk, C., Crielaard, A., Joosten, P., Caesar, P.** (1994): Nosocomial infection by *Staphylococcus haemolyticus* and typing methods for epidemiological study. *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 2260-2265.

30. **DeGraves, F.J. and Fetrow, J.** (1993): Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. North Am. : Food Animal Practice*, 9(3), 421-434.
31. **Deighton, M.A., Balkau, B.** (1990): Adherence measured by microtiter assay as a virulence marker for *Staphylococcus epidermidis* infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 2442-2447.
32. **Deighton, M.A., Franklin, J.C., Spicer, W. J., Balkau, B.** (1988): Species identification, antibiotic sensitivity and slime production of coagulase negative staphylococci isolated from clinical specimens. *Epidemiology and Infection*, 101, 99-103.
33. **Devriese, L.A., Laevens, H., Haesebrouck, F., Hommez, J.** (1994): A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*, 57(2), 240-244.
34. **Eraksoy, H.** (1989): Stafilokok enfeksiyonları ve virülens faktörleri. *İnfeksiyon Dergisi*, 3, 311-320.
35. **Erganiş, O., Kaya, O., Kuyucuoğlu, Y.** (1993): İnek mastitislerine sebep olan mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Vet. Hek. Birl. Dergisi*, 5(3), 49-50.
36. **Erganiş, O., Kuyucuoğlu, Y., Ok, Ü.** (1995): İnek ve koyun mastitislerine sebep olan koagülaz negatif ve pozitif stafilokokların biyotiplendirilmesi. *Veterinarium*, 6(1-2), 23-27.
37. **Ferguson, K.P., Lambe, D.W., Keplinger, J.L.** (1991): Comparison of the pathogenicity of three species of coagulase negative staphylococcus in a mouse model with and without a foreign body. *Canadian Journal of Microbiology*, 37, 722-725.
38. **Fox, L.K., Gay, J.M.** (1993): Contagious mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 9(3), 475-487.
39. **Gemmel, C.G.** (1986): Coagulase negative staphylococci. *Journal of Medical Microbiology*, 22, 285-295.
40. **Gemmel, C.G., Dawson, J.E.** (1982): Identification of coagulase negative staphylococci with the API Staph. system. *Journal of Clinical Microbiology*, 16, 874-877.

41. **Golgmann, D.A.** (1990): Coagulase negative staphylococci : interplay of epidemiology and bench research. *American Journal of Infection Control*, 18, 211-221.
42. **Gray, E.D., Peters, G., Versteegen, M., Regelman, W.E.** (1984): Effect of extracellular slime substance from *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response. *The Lancet*, 18, 365-367.
43. **Holmberg, O.** (1973): *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 45, 1-144.
44. **Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T.** (1994): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, p : 532, 544-551.
45. **Hussain, M., Hastings, J.G.M., White, P.J.** (1991): A chemically defined medium for slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Medical Microbiology*. 34, 143-147.
46. **Ishak, M.A., Gröschel, D.H.M., Mandell, G.L., Wenzel, R.P.** (1985): Association of slime with pathogenicity of coagulase negative staphylococci causing nosocomial septicemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 1025-1029.
47. **Jawetz, E., Melnick J.L., Adelberg, E.A.** (1987): *Review of Medical Microbiology*. 7th ed., California, Appleton & Lange, 217-223.
48. **Johnson, G.M., Lee, P.A., Regelman, W.E., Gray, E.D., Peters, G., Quie, P.G.** (1986): Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* slime. *Infection and Immunity*, 54, 13-20.
49. **Jones, J. W., Scott, R.J.D., Morgan, J., Pether, J.V.S.** (1992): A study of coagulase negative staphylococci with reference to slime production, adherence, resistance patterns and clinical significance. *Journal of Hospital Infection*, 22, 217-227.
50. **Jones, T.O.** (1993): Bovine mastitis bacteriology : Problems and pitfalls. *Cattle Practice*, 1(4), 55-57.

51. **Jonsson, P., Olsson, S., Olofson, A., Falth, C., Holmberg, O., Funke, H.** (1991): Bacteriological investigations of clinical mastitis in heifers in Sweden. *J. Dairy Res.*, 58, 179-185.
52. **Kahrs, R.F.** (1986): *Viral diseases of cattle.* The Iowa State University. Press/Ames, Iowa, USA.
53. **Kaya, O., Erganiş, O., Kuyucuoğlu, Y.** (1993): İnek mastitislerine sebep olan mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Vet. Hek. Derg.*, 58(3), 49-50.
54. **Kaya, O., Kırkan, Ş., Gülal, M., Ünal, B.** (1999): Aydın yöresinde ineklerde klinik mastitise neden olan mikroorganizmaların saptanması ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının incelenmesi. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 30(1), 25-29.
55. **Kısa, Ö., Baysallar, M., Haznedaroğlu, T., Gün, H., Başustaoğlu, A.C., Saraçlı, M.A.** (1994) İdrardan izole edilen koagulaz negatif stafilocokların tiplendirilmesi, patojeniteleri ve antibiyotik duyarlılıkları. XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 11-15 Nisan, Antalya.
56. **Kiraz, N.** (1993) Koagulaz negatif stafilocokların slime oluşturmaları ve bazı antibiyotiklerin slime oluşumuna etkileri. 4. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 27-30 Nisan, İzmir.
57. **Kloos, W.E., Smith, P.B.:** Staphylococci. In: Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J., Shadomy, H.J. (eds): *Manuel of Clinical Microbiology.* 4th ed., Washington D.C., ASM Press., 143-153.
58. **Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C.Jr.** (1997): *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Fifth Edition. Lippincott, Philadelphia, Hew York, p: 539-565.
59. **Kotilainen, P.** (1990): Association of coagulase negative staphylococcal slime production and adherence with the development and outcome of adult septicemias. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 2779-2785.

60. **Kotilainen, P., Maki, J., Oksman, P., Viljanen, M.K., Nikoskelainen, J., Huovinen, P.** (1990): Immunochemical analysis of the extracellular slime substance of *Staphylococcus epidermidis*. *European Journal of Clinical Microbiology, Infectious Diseases*, 9, 262-270.
61. **Kotilainen, P., Nikoskelainen, J., Huovinen, P.** (1991): Antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococcal blood isolates with special reference to adherent, slime-producing *Staphylococcus epidermidis* strains. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 23, 325-332.
62. **Kurt, H., Tural, D., Tekeli, E., Onul, M.** (1992): Stafilokokların antibiyotiklere invitro duyarlılığı. *A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası*, 45, 541-548.
63. **Ludlam, H.A., Noble, W.C., Marples, R.R., Phillips, I.** (1989): The evaluation of atyping scheme for coagulase negative staphylococci suitable for epidemiological studies. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 161-165.
64. **Mc Taggart, L.A., Elliot, T.S.J.** (1989): Is resistance to novobiocin a reliable test for confirmation of the identification of *Staphylococcus saprophyticus*. *Journal of Medical Microbiology*, 30, 253-266.
65. **McDonald, J.S.** (1984): Streptococcal and staphylococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am-Animal Pract.*, 6(2), 233-245.
66. **Messadi, L., Ben-Miled, L., Haddad, N.** (1991): Bovine mastitis in Tunisia : Bacteria responsible and antibiotic resistance. *Rev. Med. Vet.*, 42(4), 313-319.
67. **Novick, R.P.** (1990): Staphylococci. In: Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S. (Eds.): *Microbiology*. 4th ed., Philadelphia, J.B. Lippincott Co., 525-539.
68. **Parisi, J.T.** (1985): Coagulase negative staphylococci and the epidemiologic typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiological Reviews*, 49, 126-139.
69. **Patrick, C.C., Plaunt, M.R., Sweet, S.M., Patrick, G.S.** (1990): Defining *Staphylococcus epidermidis* cell wall proteins. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 2757-2760.

70. **Patrick, C.C.P.** (1990): Coagulase negative staphylococci : pathogens with increasing clinical significance. *The Journal of Pediatrics*, 116, 497-507.
71. **Perrin, C.I., Martel, J.L., Brovillet, P., Fedida, M.** (1991): Identification and antibiotic sensitivity of different Staphylococcal species associated with in apparent and subclinical bovine mastitis; results of a regional survey. *Revue de Medecine Veterinaire*, 142(1), 39-47.
72. **Persson, L.** (1993): Species identification and drug resistance of coagulase-negative staphylococci in milk. *Svensk-Veterinartianing*, 45(8-9), 383-385.
73. **Pezzlo, M.** (1992): Identification of commonly isolated aerobic gram positive bacteria. In: Igenberg, H.D. (eds.): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 1st ed., Washington D.C., ASM Press, 1.20.1-1.20.12.
74. **Philpot, W.N., Nickerson, S.C.** (1991): *Mastitis : Caunter attack*, published and distributed by Babson Bros Co. 1880, Country Farm Driv, Naperville, Illinois 60563, USA.
75. **Ponce de Leon, S., Guenther, S.H., Wenzel, R.P.** (1986): Microbiologic studies of coagulase negative staphylococci isolated farm patients with nasocomial bacteraemias. *J. of Hospital Infection*, 7, 121-129.
76. **Pyorala, S., Syvajarvi, J.** (1987): Bovine acute mastitis. Part I. Clinical aspects and parameters of inflammation in mastitis caused by different pathogens. *J. Vet. Med. B.*, 34: 373-584.
77. **Refsahl, K., Andersan, B.M.** (1992): Clinically significant coagulase negative staphylococci: Identification and resistance patterns. *Journal of Hospital Infection*, 22,19-31.
78. **Smith, L.K.** (1983) : Mastitis control : A discussion. *J. Dairy Sci.*, 66, 1790-1794.
79. **Sonnenwirth, A.C.** (1980): Gram positive and gram negative cocci. In: Sonnenwirth, A.C., Jarett, L. (ed.): *Greadwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, 8th ed., Vol.2, 1629-1637.

80. **Şener, B., Akan, Ö., Özalp, M., Hayran, M., Baykar, M.** (1991): Koagulaz negatif stafilokokların biyokimyasal reaksiyonlarına göre özel bir bilgisayar programı ile tiplendirilmesi. 3. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. 22-26 Nisan, Antalya.
81. **Thomson-Carter, F.M., Pennington, T.H.** (1989): Characterization of coagulase negative staphylococci by sodium dodesil sulfate- polacrylamide gel electrophoresis and immunblot analyses. *Journal of Clinical Microbiology*, 27,2199-2203.
82. **Timmerman, C.P., Fler, A., Besnier, J.M., De Graff, L., Cremers, F., Verhoef, J.** (1991): Charecterization of a proteinaceous adhesin of *Staphylococcus epidermis* which mediates attachment to polystyrene. *Infection and Immunity*, 59, 4187-4192.
83. **Waage, S., Mork, T., Bjorland, J., Sviland, S.** (1997): Evaluation of a test for bacteriological examination of mastitic milk. *Norsk Veterinaertidskrift*, 109 (5), 291-296.
84. **Wiley, B.B.** (1972): Capsules and pseudocapsules of *Staphylococcus aureus*. In: Cohen, J.O. (ed.): *The staphylococci*. Wiley- Interscience a division of John- wiley and sons, Toronto.
85. **Wilson, C.D., Richard, M.S., Stevenson, F.J., Davies, G.** (1984): The national mastitis survey. A survey of udder infection and related factors in the British dairy herd. Alnwich NE 66 2 PF, U.K.
86. **Winblad, S., Ericson, C.** (1973): Sensitized sheep red cells as a reactant for *Staphylococcus aureus* protein A. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*. Section 8, 81, 150-156.
87. **Young, S.L.** (1981): Nosocomial infection in the immun compromised adult. *American Journal of Medicine*, 70, 398-404.
88. **Younger, J.J., Christensen, G.D., Bartley, D.L., Simmons, J.C.H., Barrett, F.F.** (1987): Coagulase negative staphylococci isolated from cerebrospinal shunts: importance of slime production, species identification and shunt removal to clinical outcome. *The Journal of Infectious Diseases*, 156, 548-554.

ÖZGEÇMİŞ

1970 Denizli-Tavas doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimlerimi Aydın ilinde tamamladım. 1987 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandım ve 1992 yılı Eylül ayında mezun oldum. 1995 yılında özel sektörde ilaç departmanlarında çalışmaya başladım. 1998 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimini kazandım. Halen özel sektördeki işime devam etmekteyim.

