

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

STAFİLOKOK SUŞLARINDA
METİSİLİN DİRENCİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ ve METİSİLİN DİRENÇLİ STAFİLOKOKLARDA
ÇOĞUL ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN İNCELENMESİ

718472

UZMANLIK TEZİ

118472

Dr. Mürşit HASBEK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yahya HAKGÜDENER

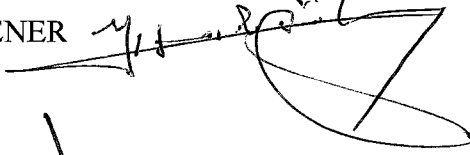
TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

SİVAS
2002

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İşbu çalışma jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof.Dr.Yahya HAKGÜDENER



ÜYE : Prof.Dr.İlyas DÖKMETAŞ



ÜYE : Prof.Dr.Ömer POYRAZ



ÜYE : Doç.Dr.M.Zahir BAKICI



ÜYE : Doç.Dr.Zeynep SÜMER



Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine aittir.

...../...../ 2002

Prof.Dr.Yener GÜLTEKİN

DEKAN





Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararıyla kabul edilen tez yazım kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında yardım ve emeğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yahya HAKGÜDENER'e, eleştirel yeteneği ve dikkati ile tez yazımı aşamasında bana yol gösteren Sayın Prof. Dr. Ömer POYRAZ'a, çalışılan örnekleri sağlayan Sayın Doç. Dr. M. Zahir BAKICI' ya, bütün konulardaki pratik yaklaşımı ile işimi kolaylaştıran Sayın Doç. Dr. Zeynep SÜMER'e, yetişmemde emeği geçen diğer hocalarıma, istatistiksel değerlendirmelerde "ne zaman istersen gel" diyen Halk Sağlığı Anabilim dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Haldun Sümer'e, asistanlık süresi boyunca bana katlanma nezaketini gösteren arkadaşım Uzm. Dr. Serpil KAYA'ya, her zaman yardımını gördüğüm, yüreği genç insan Ahmet ACAR'a ve Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalındaki tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Benimle hayatı paylaşan, her zaman desteğine ihtiyaç duyduğum eşim Dr. Zekiye HASBEK'e ve gülücükleri ile yaşamımızı renklendiren kızlarım Sena ve Zeynep'e sonsuz teşekkürler ederim.

ÖZET

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokoklarda, metisilin direncinin farklı yöntemlerle belirlenmesi, bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin karşılaştırılması ve metisilin dirençli stafilokoklarda çoğul antibiyotik direncinin saptanması amaçlanmıştır.

Metisilin direncinin saptanması amacı ile, agar tarama testi (referans test), agar dilüsyon testi, disk difüzyon testi ve otomatize sistem (Sceptor®) kullanılmıştır. Ayrıca ticari antibiyotik duyarlılık diskleri kullanılarak disk difüzyon tekniği ile çoğul antibiyotik direnci de araştırılmıştır.

Çalışılan 150 stafilokok suşunda metisiline direnç oranı ; agar tarama testi ile % 38.7, disk difüzyon yöntemi ile % 38, agar dilüsyon yöntemi ile % 37.3, Sceptor® tekniği ile %36.7 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar karşılaştırıldığında , kullanılan yöntemler arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Metisiline duyarlı stafilokokların büyük oranda diğer antibiyotiklere de duyarlı oldukları saptanmıştır. Bunun yanı sıra metisiline dirençli olan stafilokokların ise diğer antibiyotiklere de dirençli oldukları belirlenmiştir. Metisilin duyarlı ve dirençli stafilokoklarda karşılaştırıldığında, belirlenen direnç oranları farkı trimetoprim-sülfametaksazol'un dışında diğer antibiyotikler yönünden istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Trimetoprim-sülfametaksazol'e ise metisilin duyarlı stafilokokların yanı sıra metisilin dirençli stafilokoklarda da düşük direnç oranları gözlenmiştir. Çalışılan tüm stafilokok suşları vankomisine duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak, stafilokok suşlarında metisilin direncinin belirlenmesi amacıyla kullanılan yöntemler arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Ancak otomatize sistemdeki duyarlılığın diğer testlere göre düşük olması, az da olsa metisilin direncini belirleyememe olasılığını ortaya çıkarmaktadır. Otomatize sistemlerin kullanıldığı merkezlerde metisilin direncinin daha iyi belirlenebilmesi için NCCLS' in de doğrulama testi olarak önerdiği agar tarama testinin, ek olarak kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Ayrıca metisilin dirençli stafilokoklarda, çoğul antibiyotik dirençliliğinin de bulunduğu gözlenmiştir.

SUMMARY

In our study, we aimed to investigate the detection of methicillin resistance in clinically isolated *Staphylococcus* strains by different methods and to compare the specificity and sensitivity of these methods. We also tried to determine multiple antibiotic resistance in methicillin resistant *Staphylococcus* strains.

Agar screening test (reference test), agar dilution test, disc diffusion test and automated system (Sceptor®) were used to determine the methicillin resistance. Multiple antibiotic resistance was investigated with antibiotic susceptibility discs obtained commercially by disc diffusion method.

Methicillin resistance was detected as 38.7 % by agar screening test, 38 % by disc diffusion method, 37.3 % by agar dilution method, 36.7 % by Sceptor® method in clinical isolates of *Staphylococcus* strains. It was not statistically significant when these methods were compared ($p > 0.05$).

We have shown that methicillin sensitive *Staphylococcus* strains were also sensitive to most of other antibiotics. We also observed that methicillin resistant *Staphylococcus* strains were resistant to other antibiotics. When resistance rates of methicillin sensitive and methicillin resistant, *Staphylococcus* strains were compared, it was statistically significant in all antibiotics except trimethoprim-sulfamethoxazole ($p < 0.05$). Low resistance rates of TMP-SMX were found in methicillin resistant *Staphylococcus* strains as well as methicillin sensitive *Staphylococcus* strains. We observed that all *Staphylococcus* isolates were sensitive to vancomycin.

In conclusion, it was not found statistically significant when comparison was done between methods of detection of methicillin resistance ($p > 0.05$), but there may be a small risk of not detecting methicillin resistance due to the relative low sensitivity in automated systems. It is suggested that agar screening method should be used in addition to automated systems to detect methicillin resistance as NCCLS suggests. It is also observed that there is multiple antibiotic resistance in methicillin resistant *Staphylococcus* strains.

İÇİNDEKİLER

	<i>SAYFA</i>
• TEŞEKKÜR	iii
• ÖZET	iv
• İNGİLİZCE ÖZET.....	v
• SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
• TABLOLAR.....	viii
• GİRİŞ.....	1
• GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Stafilocokların Genel Özellikleri.....	4
2.2. Staphylococcus aureus.....	13
2.3. Koagülaz Negatif Stafilocoklar.....	16
2.4. Stafilocok İnfeksiyonlarının Tanısı.....	20
2.5. Stafilocok İnfeksiyonlarında Tedavi.....	22
2.6. Stafilocoklarda Metisilin Direnci.....	22
• GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
3.1. Örneklerin Toplanması.....	26
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	27
3.3. Kullanılan Besiyerleri.....	27
3.4. Kullanılan Antibiyotikler.....	27
3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....	28
3.6. Yapılan Deneyler.....	28
• BULGULAR.....	32
• TARTIŞMA.....	38
• SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
• KAYNAKLAR.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

- Amoks-Klav:** Amoksisilin- Klavulonat
CRF: Coagulase-reacting factor
IL: İnterlökin
KPS: Koagülaz Pozitif Stafiokok
KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok
MRSA: Metisiline rezistan *Staphylococcus aureus*
PBP: Penisilin bağlayan protein
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu
Ssp: *Staphylococcus saprophyticus*-associated protein
TPMA: Trehaloz-mannitol-fosfataz agar
TMP+ SMX: Trimetoprim-Sülfametaksazol
TSST-1: Toksik şok sendromu toksini-1
VISA: Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*

TABLÖLAR

Tablo 1. Bazı stafilokok türlerinin biyokimyasal ve diğ er  zellikleri.

Tablo 2. Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizmaları.

Tablo 3. Kullanılan antibiyotikler, disk içerikleri ve zon çapları.

Tablo 4. İzole edilen stafilokok su larının klinik örneklere göre dağılımı.

Tablo 5. Çalışılan testlerin agar tarama testine göre duyarlılık ve özgüllükleri.

Tablo 6. Stafilokok su larının çalışılan testlere göre metisiline dirençlilik ve duyarlılık oranları.

Tablo 7. KPS ve KNS ların antibiyotiklere dirençlilik durumları.

Tablo 8. Stafilokok su larının antibiyotiklere direnç oranlarının metisilin duyarlılığına göre dağılımı.

Tablo 9. Çeşitli çalışmalarda stafilokok su larında belirlenen metisilin direnci.

GİRİŞ

Metisiline dirençli stafilokok suşları , 1960 dan bu yana ,tüm dünyada giderek artan oranda hastane infeksiyonu etkeni haline gelmişlerdir. Bu suşların öneminin artması, yalnızca hastane infeksiyonlarına yol açması nedeniyle değil, epidemilere yol açabilmesi ve tedavi seçeneklerinin “çoklu antibiyotik direnci” nedeniyle kısıtlı olmasından kaynaklanmaktadır(1).

Stafilokoklardaki metisilin direnci bütün beta-laktam antibiyotikleri içeren geniş boyutlu bir dirençtir. Metisilin dirençli stafilokokların yanlış olarak duyarlı saptanması tedavi başarısızlıklarına neden olur. Benzer şekilde metisiline duyarlı stafilokokların da dirençli tanımlanması gereksiz yere glikopeptid antibiyotiklerin kullanılmasına yol açmaktadır(2). Bilindiği gibi glikopeptid antibiyotikler metisilin dirençli stafilokoklarda tedavide ki tek seçenektir. Son yıllarda *vancomycin-intermediate S.aureus* (VISA) suşlarının da rapor edilmeye başlanması, bu konunun önemini giderek artırmaktadır(3,4,5,6,7).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında stafilokoların metisilin direncini saptamak için, disk difüzyon, tüp dilüsyon veya mikrodilüsyon, agar tarama, agar dilüsyon, otomatize duyarlılık testleri, DNA hibridizasyon teknikleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmaktadır (2,8,9,10). Son yayınlarda DNA prob yöntemi kullanılarak stafilokoklarda metisilin direncinin nedeni olan, yeni bir penisilin bağlayan protein (PBP2a)’nin üretimini sağlayan kromozomal genin (MecA) saptanması, metisiline direncin belirlenmesinde en duyarlı yöntem olarak belirlenmiştir. Ancak bu yöntem rutin laboratuvarlarda uygulanamayacak kadar karışık bir yöntemdir (11). Agar tarama testi sonuçları, çalışmalarda MecA’yı araştıran DNA prob yöntemleri ile % 100 uyumlu bulunmuş ve disk difüzyon, mikrodilüsyon ve agar dilüsyon test sonuçlarının doğrulanması için kullanılması önerilmiştir (11,12,13).

Çalışmamızda agar tarama testi referans test kabul edilerek, stafilocok suşlarında, metisilin direncinin agar tarama, agar dilüsyon ve disk difüzyon testi ile birlikte otomatize sistem (Sceptor®)le saptanması, bu testlerin karşılaştırılması, ayrıca metisiline dirençli stafilocok suşlarında çoğul antibiyotik direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

Micrococcaceae familyası içinde *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus* ve *Planococcus* adlarını taşıyan dört cins bulunmaktadır. DNA'daki G + C oranının genuslar arasında büyük ayrımlar (% 30- 75) göstermesi, hücre duvarı yapıları arasındaki farklılıklar, nükleik asit hibridizasyon deneyleri ve 16 S rRNA sıralarının karşılaştırmalı incelemeleri, bu dört cinsin tek bir familya altında toplanmaması gerektiğini ortaya koymaktadır. Nitekim, *Micrococcus* cinsinin *Arthrobacter*ler ile, *Planococcus* cinsinin bazı *Bacillus*lar ile, *Staphylococcus* cinsinin *Bacillus - Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinsi üyeleri ile yakın filogenetik ilişkilerinin bulunduğu anlaşılmıştır (14).

Staphylococcus cinsi bakteriler oldukça eski zamanlarda bazı araştırmacılar tarafından irinde görülmüştür. Stafilocokları ilk kez 1878 de Robert Koch tanımlamış,1880'de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiştir. 1881' de Ogston, fare ve kobaylar için patojen olduğunu saptamış ve ilk kez stafilocok adını kullanmıştır. Stafilocoklar ilk kez Rosenbach tarafından 1884'de hastalık örneklerinden soyutlanmıştır. Rosenbach yine 1884' de beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı-portakal renkli kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak adlandırmış ve bu ayırım yakın zamana kadar devam etmiştir. Koagülaz negatif stafilocoklar (KNS) in da son 25 yıl içinde çok önemli hastane infeksiyonu etkenleri olduğu belirlenmiştir. Özgül KNS türlerini ise ilk kez Baird-Parker tanımlamıştır (1,14,15).

STAFİLOKOKLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Genel özellikleri olarak stafilokoklar yuvarlak, 0.5 – 1.5 µm çapında, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, bakterilerdir. Bazı kökenlerinde belirgin ve polisakkarit yapısında bir kapsül veya mukus katmanı bulunur. Hücre duvarları özel yapıda olup, peptidoglikan, teikoik asit ve türe özgü protein içerir. Katı besiyerlerinde, birbirine bakan iki dik yüzeyde bölünerek üreyerek yavru hücreler, birbirlerinden ayrılmayarak üzüm salkımına benzer mikroskopik görüntü oluştururlar. Bazen tetrat, diplokok veya tek tek koklar halinde de görülebilirler. Sıvı besiyerlerinde diplokoklar veya kısa zincirler halinde ürerler. Bazik boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitiflerdir.

Staphylococcus cinsinde bugüne kadar 33 tür saptanmış olup, bunlardan 17'si insana ait klinik örneklerden soyutlanmıştır (1,14). Stafilokokların çoğu sıcak kanlı hayvanların ve insanların derisinde, deri ile ilişkili bezlerin kanallarında ve mukozalarında doğal olarak barınırlar. Bir bölümü de insan ve hayvanlar için patojen ve fırsatçı patojendirler. Bazı türleri insan vücudunun değişik bölgelerinde kolonize olurlar. *S. aureus* normal popülasyondaki insanların % 10-40'ının, hastane personeli ve hastanede yatan hastaların ise % 70'inin burun mukozasında kolonize olmuşlardır. *S. epidermidis*, *S. aureus*'un bulunmaması halinde burun mukozalarından soyutlanan stafilokokların % 90-100'ünü oluşturur. *S. epidermidis* ayrıca koltuk altı, kasık, anal bölge, yüz, ayak parmakları derisinde bulunur. *S. hominis* ve *S. haemolyticus* koltuk altı, kasık ve anal blge derisinde bulunurlar. *S. capitis* kafa derisinde, bu bölgenin yağ bezlerinde ve boyun derisinde kolonize olur. *S. saprophyticus* özellikle üroepitelyal hücrelere yapışma eğiliminde olup ürogenital mukozada kolonize olabilmektedir.

Stafilokokların bazı türleri ise sadece hayvanlarda bulunmakta ve infeksiyon yapmaktadır. *S. intermedius* köpeklerdeki deri infeksiyonları, mastit ve üreme organı infeksiyonlarından sorumludur. Ayrıca insanlardaki köpek ısırığı yaralarından da izole edilmiştir (16). *S. delphini* yunuslardan, *S. felis* ise evcil kedilerden izole edilmiştir. İnsanlarda bu hayvanlarla yakın temas sonucu kolonize veya infekte olabilir (1).

Stafilokok türleri DNA/DNA ilişkileri ve fenotipik özelliklerine göre en az dört grupta toplanabilirler. *S. epidermidis* grubunda; *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S.*

warneri, *S. haemolyticus* yer alır. *S. saprophyticus* grubunda; *S. saprophyticus*, *S. cohnii* ve *S. xylosus* türleri yer almaktadır. *S. simulans* grubunda; *S. simulans* ve *S. carnosus* türleri, *S. sciure* grubunda ise *S. sciure*, *S. lentus* türleri vardır. *S. aureus*, *S. auricularis*, *S. intermedius*, *S. hycus* ve *S. caseolyticus* bir gruba sokulamayan türlerdir (14).

Görünüm ve Boyanma Özellikleri

Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha belirgin şekilde tam yuvarlağa yakındır. Ayrıca, gerek aynı gerekse farklı kültürlerinden elde edilen stafilokoklar hücre görünümü açısından birbirlerinden önemli ayırım göstermezler. Stafilokoklar yaklaşık olarak bir mikrometre çapındadır. Üreme sırasında bölünme sonucu oluşan hücreler birbirlerinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünde çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Katı besiyerlerinde daha açık olarak oluşan bu kümeler, lam-lamel arasında ve ıslak ortamda incelenirse üç boyutlu, kurutulup boyandıktan sonra incelenirse, iki boyutlu üzüm salkımına benzerler. İrinden ve sıvı besiyeri kültürlerinden yapılan preparatlarında ise bu kümelerin 3-5 koktan ibaret daha az taneli oluştukları ve bazen de ,diplokoklar , 3-4 bakteriden oluşan tetrad ve kısa zincirler şeklinde bulundukları görülmektedir(14).

Stafilokokların bu görüntüsü her ne kadar karakteristik olsa da streptokoklarla bir arada bulundukları zaman ikisini görüntüleriyle ayırt etmek olanaksızdır. Bunları birbirinden ayırt etmede kullanılan en yararlı ve basit yöntem ise *katalaz* testidir. Bu test stafilokoklarda pozitif iken streptokoklarda negatiftir.

Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitifirler. Eski kültürlerinde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram negatif görüntü verebilirler.

Dirençlilik

Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer bakterilerin çoğu 60°C de 30 dakika bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar bir saat süreyle bile canlılıklarını koruyabilirler. Sporsuz olmalarına rağmen kuruluğa karşı da

dayanıklıdır. İrin içinde kurutulurlarsa haftalarca canlılıklarını korurlar. Kùltürlerde, + 4°C de ve oda ısısında canlılıklarını aylarca korurlar. % 10-15 NaCl de ürerler. Malaşit yeşili ve kristal viole gibi boyaların çok düşük yoğunluklarına duyarlıdır. 1 / 500.000 oranında kristal viyole bulunan besiyerlerinde üremezler (14,15).

Antibiyotiklere genel olarak dirençli oldukları gibi, duyarlı olan kökenlerde hızla direnç geliştirme eğilimindedirler. Çıkan her yeni antibiyotik başlangıçta stafilokoklara etkili olduğu halde zamanla direnç kazanırlar. Bu özellik antibiyotiklerin en çok kullanıldığı hastane ortamında daha büyük önem kazanır. Bu şekilde oluşan dirençli suşlarla, epidemik hastane infeksiyonlarının gelişiminde çok önemli yer tutmaktadırlar (1,14,15)

S.aureus' un novobiocin'e duyarlı olması bu antibiyotiğe dirençli olan *S. saprophyticus*'dan ayrılmasında önem taşır. *S. saprophyticus*'un novobiocin direnci kromozomal özelliğindedir.

Bazı stafilokok suşlarının üredikleri ortamda bazı tür bakteriler için antibiyotik etkisi gösteren bazı maddeler yaydıkları saptanmıştır. *Staphylococcin*'ler adı verilen bu maddelerin saf olarak elde edilen örneklerinin, bu maddeleri salgılamayan stafilokoklar ve başta difteri basili olmak üzere, bazı gram pozitif bakteriler üzerine etkili oldukları gözlenmiştir (14).

Lysostaphin denilen ve bazı stafilokok suşları tarafından oluşturulan bir maddenin diğer stafilokokların hücre duvarını eriterek etki yaptığı bildirilmiştir (14).

Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Stafilokoklar basit besiyerleri dahil birçok besiyerinde üreyebilirlerse de, besiyerlerine, glikoz, kan, serum, haben sıvısı gibi maddeler konularak zenginleştirilirse, üreme daha çabuk ve kolay olur.. Fakültatif anaeropturlar. Oksijenli ortamda üremeyi yeğ tutarlarsa da belli miktardaki oksijenli ortamda, hatta oksijensiz ortamda da üreyebilirler.

Optimal üreme ısıları 37°C olsa da, geniş bir ısı aralığında (6.5°C- 45°C) ve pH:7-7.5 da üreyebilirler. %10 ve daha az NaCl içeren ortamlarda daha iyi, daha fazla NaCl içeren ortamlarda ise zayıf ürerler. Kanlı besiyerinde 24 saatlik

inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında yuvarlak, düzgün, hafif konveks koloniler oluştururlar. Bazı türler (*S. warneri*, *S. Simulans*), daha küçük koloniler oluşturur. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde karotenoidlerden dolayı pigment oluştururlar. *S. aureus* altın sarısı pigment oluştururken, *S. epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler oluşturur. Hem *S. aureus*, hem de koagulaz negatif stafilokok (KNS) suşlarındaki pigment üretimi, oda ısısında bekletildiklerinde belirgin hale gelir (1). Aynı stafilokok kökeni değişik ortamlarda değişik renkte pigment oluşturabilir. *S. intermedius*, *S. simulans* ve *S. hyicus subsp. hyicus* pigment oluşturmaz (15).

Bazı *S. aureus* ve KNS suşları kanlı agarda beta hemoliz yapabilir. Bu hemolitik aktivite uzamış inkübasyonlarda daha belirgindir (1,15).

Buyyonda başlangıçta homojen bir bulamıklık oluşturarak ürerler. Daha sonra ise dipte ince bir çökelti oluştururlar.

Stafilokoklar başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı parçalarlar ve son ürün olarak laktik asit oluştururlar. Gaz oluşturmazlar. Ancak şekerlerden mannitol üzerine olan etkileri özellik taşımakta olup, bu karbonhidratı yalnızca koagulaz pozitif stafilokoklar (KPS) parçaladıkları halde KNS lar parçalamazlar. Bu nedenle mannitole etki deneyi, *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede koagulaz testinden sonra en yararlı olan deneydir. Koagulaz testi ise sadece *S. aureus* da pozitif olup, diğer stafilokok türlerinde negatiftir.

% 1 glikoz içeren besiyerlerinde üretilince daha belirgin olarak katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler. Nitratları nitritlere indirgerler.

Bazı stafilokokların biyokimyasal ve ayırt ettirici özellikleri, tablo halinde verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Bazı stafilokok türlerinin biyokimyasal ve diğer özellikleri

Özellik	S.aureus	S. epider.	S. sapro.	S. capitis	S. cohnii	S. inter.	S. hominis	S. haem.
Pigment	+ z	-	d	-	-	-	d	d
Aerop üreme	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerop üreme	+	+	+	(+)	d	(+)	- z	(+)
% 10 NaCl de üreme	+	z	+	+	+	+	z	+
% 15 NaCl de üreme	z	-	d	- z	d	d	-	d
Acetoin oluşturma	+	+	+	d	d	-	d	d
Sükroz	+	+	+	(+)	-	+	(+)	+
Maltoz	+	+	+	-	(d)	z	+	+
D-Mannitol	+	-	d	+	d	d	-	d
D-Mannoz	+	(+)	-	+	d	+	-	-
D-Trehaloz	+	-	+	-	+	+	d	+
Laktoz	+	d	d	-	-	d	d	d
Hiyalüronidaz	+	d	-	-	-	-	-	-
Üreaz	z +	+	+	-	-	+	+	-
Koagülaz	+	-	-	-	-	+	-	-
Hemoliz	+	- z	-	- z	d	d	- z	(+)
DN ase	+	- z	-	z	- z	+	- z	d
Novobiocin'e direnç	-	-	+	-	+	-	-	-

Açıklamalar: + : % 90 dan çok olumlu - : %90 dan çok olumsuz d: değişken z : zayıf tepkime
() : gecikmeli tepkime

Antijen Yapıları ve Faj Tipleri

Stafilokoklarda antijen özelliği gösteren 30 dan çok madde vardır. Bunlardan bazılarının sınırlı pratik önemi vardır.

Diğer gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısına benzer şekilde, stafilokokların da hücre duvarında, *teikoik asit* adı verilen antijenik bir madde bulunur. Bu madde mukozal yüzeylere yapışmayı sağlar. Ayrıca hücre duvarının sertliğini ve esnekliğini destekler. Teikoik asit tabakası, peptidoglikan tabaka ile

birlikte birkaç biyolojik aktiviteye ve virulansa katkıda bulunur (17). Bu yapı *S. aureus*' da *ribitol teikoik asit* şeklinde iken *S. epidermidis*' de *gliserol teikoik asit* şeklindedir. Erişkin insanların çoğunda teikoik aside karşı erken tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu ve kanlarında düşük düzeyde presipitan antikorlar saptanır (1). Endokarditlerde ve metastatik fokal abseli hastalarda bu antikorların düzeyi yüksektir (14).

S. aureus hücre duvarında bulunan ve *protein A* adı verilen maddenin en önemli özelliği, immunglobulin moleküllerinin Fc bölümlerine bağlanabilmesidir. Protein A hücre duvarında, peptidolikan tabakaya kovalan olarak bağlanmıştır. Ayrıca hücre dışına salınabilir. Gruba özel bir antijendir. Protein A'nın işlevleri; bakterinin fagositozunu önlemek, komplemanı aktive etmek, erken ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yol açmaktır (17). Ayrıca kemotaktik ve mitojenik etkileri vardır(14,15). Protein A'nın koagülaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon göstermesi, antifagositik etki yapması ve antibiyotik duyarlılığını azaltması gibi etkileri, patojenite kriteri olabileceğine işaret etmektedir.

Bazı *S. aureus* suşlarının PMNL ler tarafından sindirilmelerini önleyebilen eksopolisakkarit yapıda kapsülleri vardır. Bu eksopolisakkaritler *S. aureus*la infekte olmuş kalp pili, peritoneal kateterler ve intarvenöz yollarda elektron mikroskopik incelemeyle ortaya konmuştur. İn vitro olarak da immunolojik deneylerle gösterilmiştir (18,19). Kapsül yapısı konak hücrelere ve prostatik araçlara adherensi kolaylaştırır. *S. aureus*'un klinik izolatlarının immunolojik tiplendirmesi sonucunda, 8 tip kapsüler polisakkarit yapısı belirlenmiştir. Anlamlı klinik izolatların % 70-80'i kapsüler polisakkaritlerden tip 5 ve tip 8'e aittir (20,21). Bunlardan tip 8, diğer *S. aureus* virülans faktörleri ile ilişkilidir. Metisiline rezistan *S. aureus* (MRSA) suşlarının önemli kısmı serotip 5 kapsüler polisakkarit oluştururlar (22,23).

S. aureus' un tiplendirilmesinde bugün için faj tiplendirilmesi kullanılmaktadır. Gerektiğinde serolojik tiplendirmeden de yararlanılabilmektedir. Özellikle epidemiyolojik araştırmalar için sorumlu suşların belirlenmesinde faj tiplendirmesinin önemi büyüktür. Her stafilokokda bir ya da bir çok profaj bulunduğu bilinmektedir. Faj tiplendirmesi Dünya Sağlık Örgütü'nün kabul ettiği yaklaşık 24 standart stafilokok fajı kullanılarak yapılmaktadır (14).

Enzim Yapısındaki Maddeler

Katalaz, stafilocokları hidrojen peroksit ve serbest oksijen radikallerine karşı koruyan ve streptokoklardan ayrılmasında önem taşıyan bir enzimdir (1,14)

Koagülaz, ekstrasellüler bir proenzimdir. Cogulase-Reacting factor (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır. İnsan veya tavşan plazmasıyla temasda bırakılan stafilocoklar, bir süre sonra plazmayı pıhtılaştırır. Bu tip stafilocoklar girdikleri organizmada koagülazları sayesinde bir fibrin tabakası ile kaplanarak fagositoza karşı korunurlar. Koagülazın bu şekilde patojeniteye katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. Koagülaz, stafilocoklardan başka *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis* gibi birçok bakteri tarafından da üretilir. Patojen stafilocoklar, serbest koagülaz ve bağlı koagülaz (clumping factor =kümeleştirme faktörü) olmak üzere iki tür koagülaza sahiptir. Bunlar birbirlerinden immunolojik olarak farklı olduğu gibi, etki mekanizmaları da birbirlerinden farklıdır. Serbest koagülaz, protein yapısındadır ve proteolitik enzimlerle kolaylıkla inaktive edilir. Bu enzim fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile plazmanın pıhtılaşmasına yol açan ve normal olarak plazmada bulunan CRF'i aktive etmektedir. Bağlı koagülaz ise stafilocokların hücre yüzeyinde oluşur ve serbest bırakılmaz. Fibrinojenin fibrine dönüşümü ile hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu oluşur ve bunun sonucunda stafilocoklar kümeleşir.

Koagülaz deneyi, lamda ve tüpde yapılabilir. Lam deneyinde bağlı koagülaz saptanırken tüp deneyinde serbest koagülaz belirlenir. Koagülaz deneyi *S. aureus*'un araştırılmasında kullanılan en güvenilir deneydir. Koagülaz negatif bulunan suşlar için diğer özellikler araştırılır. *S. intermedius*, *S. delphini* ve *S. hyicus*'un da koagülaz pozitif olabileceği göz önünde tutulmalıdır (1). Bununla birlikte pozitif bir koagülaz deneyi sonucu, bir stafilocok suşunu *S. aureus* olarak nitelen dirmek için yeterlidir (14).

Koagülaz pozitif stafilocoklar (KPS) ın çoğu **deoksiribonükleaz** (Deoxyribonuclease =DNase) oluştururlar. Enzim niteliğindeki bu madde DNA' yı hidrolize eder. Çeşitli özellikleri ile *S. aureus* olduğu anlaşılan stafilocokların nadir bazı suşları, koagülaz negatif bulunurlar. Bunların DNase pozitif bulunmaları patojen *S.aureus* olduklarını gösterir(14).

Hyaluronidaz, *S. aureus*' ların % 90'ında bulunan bir enzimdir. Bağ dokusunda bulunan hyalüronik asidin parçalanmasını sağlayarak stafilokokların doku içinde yayılmasını kolaylaştırır. Antijen özelliği vardır.

S. aureus'un etken olduğu kronik fronkül olgularında salgıladıkları **lipazların** etkisi olduğu bilinmektedir.. Bu da *S. aureus*'un salgıladığı lipazların deri ve deri altı yerleşimlerde etkin olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca **fosfatidilinositol-spesifik fosfolipaz C** olarak tariflenen ve bazı *S. aureus* suşları tarafından salınan bu maddenin de, erişkinlerin solunum zorluğu sendromu ve yaygın damar içi pıhtılaşma olgularında etkin olabileceği bildirilmektedir (24).

Stafilokinaz enzimi stafilokokların fibrinolitik etkisini sağlar. Plazminojeni aktive ederek plazmin oluştururlar. Patojenitedeki rolü belli değildir.

Hemolizinler

Sıvı besiyerlerinde üretilen stafilokokların kültür süzüntülerinde ekzotoksin özelliğindeki maddelerin bulunduğu, bunların eritrosit ve çeşitli hücrelere sitolitik, deney hayvanlarında öldürücü, nekrotik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Antijen özelliği taşıyan bu maddelerde karşı organizmada nötralizan antikorlar oluşmaktadır.

Alfa hemolizin, bir çok hücre çeşidi için öldürücü etki yapar. İnsan PMNL leri, eritrositler, trombositler alfa hemolizinle parçalanır. Monositler alfa hemolizine dirençlidir. Güçlü bir nörotoksindir. Antijenik özelliği vardır. Tavşanlarda deri altı enjeksiyonla, nekroz oluşturur. Koyun kanlı agarda hemoliz zonu oluşmasına sebep olur (1,14,15).

Beta hemolizin, sfingomiyelinaz olarak da bilinir. Sıcak-soğuk bir hemolizindir. Hemolitik özellikleri soğuk sıcaklıkların, eritrositlere ardışık uygulanması ile artar. Grup B streptokokların tanısında kullanılan CAMP testinde gözlenen sinerjistik etkiden de sorumludur (1).

Gama hemolizin'in etki mekanizması bilinmemekle birlikte çeşitli hücreler üzerinde belirgin bir hemolitik etkisi vardır. Özellikle stafilokoklara bağlı kemik infeksiyonlarında, kanda bu hemolizine karşı yüksek antikor bulunması, bu tür infeksiyonlarda etkin olabileceğini düşündürmektedir (14).

Delta hemolizin, primer olarak bir surfaktandır. Deterjanlara benzer bir etki ile hücre zarını bozar. Adenilat siklaz aktivasyonu ile cAMP'nin artmasını sağlar (kolera toksinine benzer). Bu enzimatik aktivite toksik şok ve besin zehirlenmesi olgularında etkili olabilir (1,14).

Bu hemolizinden alfa ve delta hemolizin koagülaz pozitif ve patojen olan stafilokoklarda çoğunlukla bulunur. KPS'in %95'inde bunlardan biri veya diğeri bulunurken, %82'sinde her ikisi de birlikte bulunabilmektedir (15).

Toksinler

Lökosidin, ekzotoksin özelliğinde olup, insan PMNL lerine doğrudan toksik etkilidir. S.aureus suşlarında bulunur. Bu toksinin birbirine sinerjistik etki yapan iki bileşeni vardır. Tavşanlarda geri dönüşümlü granülositopeni yapar. Etkisini hücre zarında potasyum ve diğer katyonların geçişini artırarak, hücre zarı geçirgenliğini bozarak yapar.

Epidermolitik toksin (Exfoliative Toxin, Exfoliatin), bazı stafilokok suşları tarafından salınan, A ve B proteinlerinden oluşan bir ekzotoksindir. A proteini ısıya dayanıklı olup kromozomal gen yapısında vardır. B proteini ise ısıya dayanıksız olup plazmid kaynaklıdır. Bu proteinler proteolitik etkiyle epidermis deki mukopolisakkarit yapıyı eriterek ve hücresel bağlantıları bozarak intraepitelyal çatlaklara yol açar (25). Her ikisi de antijeniktir ve konakta nötralizan antikor yanıtına yol açar.. Bu toksini salgılayan kökenlerin, stafilokoklara bağlı haşlanmış deri sendromundan, sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Enterotoksinler, S. aureus tarafından oluşturulan, suda erir, ısıya dayanıklı, antijen özelliği olan maddelerdir. Özellikle yüksek CO₂ li ortamda, karbonhidratlı ve proteinli besiyerlerinde üreyen stafilokoklar tarafından oluşturulur. A, B, C1, C2, D ve E olmak üzere serolojik olarak 6 grup stafilokok enterotoksini belirlenmiştir. Soyutlanan S. aureus suşlarının %30-50'sinin, bu toksinleri oluşturabildikleri saptanmıştır. Etki mekanizması kesin olarak belirlenememiştir. İnsanlar dışında maymunlarda da etkili olup, deney hayvanlarında bir etkileri bulunamamıştır. Enterotoksinlerin bir süper antijen gibi etkili olarak, T lenfosit mitojenlerine benzer şekilde T lenfosit aktivitelerini hızlandırdıkları, bunda MHC-2

moleküllerinin de rol aldığını, ayrıca bu enterotoksinlerin makrofajları da stimüle ederek, tümör nekroz faktör oluşturmalarına yönelttiği ortaya konmuştur (14).

Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1), toksik şok sendromu patogeneğinde rol alan, *S. aureus* suşlarının salgıladığı bir toksindir. Çok geniş bir biyolojik aktivitesi olan bu toksinin aynı zamanda, kalp kası, iskelet sistemi, karaciğer ve böbrek dokusuna doğrudan toksik etkisi de vardır (26). Toksik şok sendromunda rol alan ve TSST-1 salgılayan *S. aureus* suşlarının çoğu faj-1 grubunun 29 ve 52. tipleridir. TSST-1'in ayrıca immunolojik etkileri de vardır. IL-2 reseptör oluşumunu hızlandırır ve monositlerin IL-1 salınımını artırır(14,15).

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

S. aureus, stafilokok türleri içinde en önemli insan patojenlerindendir. Yetişkinlerdeki burun mukozası taşıyıcılığından başka deri kıvrımlarında, anal bölgede, koltuk altında ve vajinada kolonize olabilir. Ayrıca bu mikroorganizma insan vücudunun değişik bölgelerindeki mikroflora da bulunup, fırsatçı infeksiyonlar yapabilir(1,14,27).

S. aureus adı altında toplanan türde, koagülaz pozitif, mannitolü aerop ve anaerop koşullarda asit oluşturarak parçalayabilen, alfa toksin yapan, novobiosin'e duyarlı, insan ve sıcak kanlı hayvanlarda piyogen, toksik ve besin zehirlenmesi gibi infeksiyonlar yapabilen stafilokoklar toplanır(14).

S. aureus türündeki bakterilerin günümüz için en önemli özelliği, kullanılmakta olan antimikrobiyallerim bir çoğuna hızla direnç kazanmaları ve eskiye oranla infeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır.

S. aureus'un Yaptığı Hastalıklar

S. aureus, toksin üretimi, direk invazyon ve doku zedelenmesine yol açarak çeşitli klinik tablolar oluştururlar. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu, toksik şok sendromu, besin zehirlenmesi, toksin aktivitesine bağlı infeksiyonlardır. Deri infeksiyonları, endokardit, ampiyem, osteomyelit ve septik artritis ise bakterinin dokuda çoğalması ve abse formasyonu ile doku zedelenmesine yol açması sonucunda gelişen infeksiyonlardır. Ayrıca yabancı cisimlere (kateter, şant,

prostatik kapak ve eklem vb.) bağılı infeksiyonlarda da *S. aureus* etken olabilir. Konjenital olup kemotaktik ve fagositik aktiviteyi bozan hastalıklar (Wiskott-Aldrich sendromu, Job-Bucley sendromu, kronik granülomatöz hastalık) da *S. aureus* infeksiyonlarına zemin hazırlarlar (27).

Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu

1878 de Gottfried Ritter von Rittershain tarafından bir aylıktan küçük bebeklerde, büllöz ekfoliyatif dermatit şeklinde tanımlanmıştır (17). Ağız çevresinde ani oluşan bir eritemle başlayan hastalıkta, döküntü 2-3 günde tüm vücuda yayılır. Döküntüler başlangıçta eksudatif olup sarı bir kabukla örtülüdür. Sağlam görünümlü deriye bastırıldığında deri buruşur (Nikolsky belirtisi). Döküntüler daha sonra içleri steril sıvı ile dolu büller haline gelir. Büller parçalanıp deride soyulmuş gibi bir görüntü oluşturur. Bazen saç ve tırnaklar dökülebilir. 3-5 gün içinde soyulan yerler kurur ve yaklaşık 10 gün içinde yeni deri ile kaplanarak hastalık sonlanır. Tabloya sekonder bakteriyel infeksiyon eklenmediği sürece iyileşme kendiliğinden olur (14,27).

Büllöz impetigo bu sendromun lokalize formudur. Faj tip 71 *S.aureus*' un bu hastalıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir (27). Hastalığın bu formunda döküntü yayılmaz ve Nikolsky belirtisi yoktur.

Toksik Şok Sendromu

İlk olarak Avustralyada 21 çocukta görülmüş ve 1980'li yıllarda aynı hastalık hiper absorpsiyonlu tampon kullanan menstruasyonlu kadınlarda sıklıkla görülmeye başlanmıştır (14,27). Yüksek ateş, hipotansiyon, diyare, deride yaygın döküntü, bilinç bulanıklığı ve böbrek yetmezliği gibi bulgularla seyreden sistemik bir hastalıktır. Bu hastalıkla ilişkili stafilokokların çoğunun I. faj grubundan 29 ve 52. Faj tiplerinden ve betalaktamaz yapan stafilokoklar olduğu bildirilmektedir (14). Yine bunların hepsinin TSST-1 salgıladığı bilinmektedir.

Sepsis ve Endokarditler

Belli bir odakta (deri, solunum sistemi, ürogenital sistem) yerleşen stafilokokların kana karışıp çoğalması ve bazı organ yerleşimleri ile bunlara bağlı

klirik tabloların oluştuğu ağır infeksiyonlardır. Genellikle hazırlayıcı bir zemini olan (diyabet, kardiyovasküler hastalık, bağışık yanıt eksikiği vb.) olan hastalarda ortaya çıkar. Çoğunlukla hastane kôkenli suşların oluşturduğu infeksiyonlardır. Endokardit tablosu genç yaşta ve ilaç alışkanlığı olan kişilerde geliştiği zaman, uygun tedaviye rağmen % 40-80 mortalitesi vardır (14).

Stafilokok Pnômonisi

Stafilokokların solunum yolundan aspirasyonları ya da kan yoluyla akciğerlere yerleşmeleri ile oluşur. Çocuklarda daha çok kan yolu ile primer şekilde, yaşlılarda ise üst solunum yolu infeksiyonlarından sonra sekonder olarak ortaya çıkar. Hastanelerde prematürler ve yenidoğanlar arasında salgınlar şeklinde görôlebilir. Mortalitesi yüksektir (14).

Besin Zehirlenmesi ve Enteritler

Bu hastalık şekli enterotoksin yapan stafilokokların, pasta, süt, krema ve et gibi, karbonhidrat ve proteinli besin maddeleri içinde üredikten sonra, salgıladıkları enterotoksinlerin ağız yoluyla alınması sonucunda ortaya çıkar. Enterotoksin yapan stafilokoklar çoğu kez patojen *S. aureus*'lardır. *S. aureus* kôkenlerinin % 50den fazlası enterotoksinojen olup çoğu insanlardan, özellikle burun ve el taşıyıcılarından kaynak alır. Hastalık 1-6 saatlik kuluçka döneminden sonra bulantı kusma ve ishale seyreder. Ateş olmaz ve hızla 6-8 saat içinde iyileşme gözlenir (14).

Deri İnfeksiyonları

Stafilokokların yolaçtığı lokalize deri infeksiyonları içinde, impetigo, folikülit, fronkül ve karbonkül yer almaktadır. Ayrıca stafilokokal yara infeksiyonları cerrahi bir işlemin takiben veya travma sonrası deride kolonize olan mikroorganizmanın yarayı infekte etmesi sonucu oluşabilir (27).

Osteomiyelit ve Septik Artrit

S. aureus osteomiyeliti kan yoluyla mikroorganizmanın kemiğe yerleşimi şeklinde ya da travma veya kemiğe komşu bir infeksiyon odağından kemiğe direk

yayılım ile oluşabilir. Kan yoluyla gelişen şekli genellikle çocuklarda, derideki stafilokokal bir enfeksiyonun yayılımı sonucunda olur. Çoğunlukla uzun kemikleri ve metafiz bölgesini tutar. Hematojen osteomyelit erişkinlerde ise daha çok vertebral osteomyelit şeklindedir.

S. aureus küçük çocuklarda ve erişkinlerde septik artrit'in önemli etkenlerindendir. Eklem ağrısı, kızarıklık ve aspirasyon sonucu pürülan materyal bulguları vardır. Prognoz çocuklarda iyi iken erişkinlerde komplikasyonlarla seyreder (27).

KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLAR

25 yıl öncesine kadar KNS lar kontaminant olarak kabul edilir ve çok az klinik önem verilirdi. Ancak geçen zaman içinde çok önemli enfeksiyonlara yol açtığı ve hastane enfeksiyonlarında da önemli rol aldığı anlaşılmıştır. KNS ların ilişkili bulunduğu hastalıklar şöyle sıralanabilir.

- Hastane veya toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonları,
- Prostetik araçlara bağlı enfeksiyonlar (prostetik kalp kapağı, intravenöz kateterizasyon, hemodiyaliz ve serebro spinal şantlar, kalp pili, peritoneal diyaliz),
- İmmun sistemi baskılanmış hastalarda bakteriyemi (prematür yenidoğanlar, hematolojik maliniteler, yanık hastaları, travmalı hastalar, transplant hastaları),
- Osteomyelit,
- Cerrahi sonrası endoftalmit (1).

Staphylococcus epidermidis

Çoğunlukla deri ve üst solunum yolları mukozasında bulunurlar. Gram pozitif olup, kültürlerden hazırlanan preparatlarda veya direk mikroskopik incelemede dörtlü, ikili ya da düzensiz gruplar halinde, nadiren de tek tek görünürler. Jelozda kirli beyaz renkte ve *S. aureus*'a göre daha küçük, konveks, düz yada pürtüklü yüzeyli koloniler yaparlar. Bazıları sarı ya da turuncu pigment yapabilir (14).

Bazı suşlar kapsüle benzer polisakkarit adhezin (PS/A) adı verilen yapışkan bir madde oluştururlar. Bu madde yüksek molekül ağırlığında olup, galaktoz-arabinoz polimerlerinden oluşmuştur (28).

İnsanlarda normal mukozalarda ve en çok deride bulunurlar. Daha çok bağışık sistemin zayıfladığı durumlarda fırsatçı patojen olarak infeksiyonlara yol açarlar. İnfeksiyonların çoğu hastane kaynaklıdır. İnfeksiyon kaynağı ise hastanın kendi derisi ve hastane personelinin deri ve burun florasındaki stafilokoklardır (14).

S. epidermidis, özellikle plastik protez, kateter ve şant gibi yabancı cisimlerin bulunduğu ortamlarda infeksiyon yapar. Bu cisimlerin etrafına konak tarafından kaplanan fibronektin, fibrinojen, vitronektin gibi proteinler *S. epidermidis*'in kolayca yapıştığı proteinlerdir. Bu şekilde yabancı cisimlerin çevresine yayılarak bir biyofilim tabakası oluştururlar. Oluşturduğu glikokaliks, kapsül gibi maddenin içinde kalarak antibiyotiklerden ve bağışık sistemden korunurlar. Bu yapıya *extracellular slime substance (ESS)* da denir. ESS'in önemli biyolojik aktiviteleri vardır. Bunlardan bazıları; periferik T lenfositleri monositlerin inhibisyonu, pgE_2 proliferasyonun uyarılması, immunglobulin üretilmesi ve koagülasyon üzerine olan etkileridir (29,30).

S. epidermidis'in en sık soyutlandığı yerler; yapay protez infeksiyonları, damar greftleri, MSS şantları, eklem protezlerinin bulunduğu yerler, diyaliz hastalarında peritonit ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda idrar yolu infeksiyonlarıdır (1).

S. epidermidis de virulans belirleyicisi olarak slime faktörü araştıran bazı araştırmacılar, protezle ilişkili infeksiyonlar için slime üretimi ve bakteriyel adherensle ilgili invitro teknikler tanımlamışlardır. *S. epidermidis*'in plastiğe adezyon özelliğini araştıran invitro bir çalışmada, İV yolla ilişkili sepsis olguları ve BOS-şant infeksiyonlarından elde edilen izolatların, kan kültürleri BOS kontaminantları ve bakteriyel endokardit olgularından elde edilen izolatlara göre daha fazla adherens gösterdiği ortaya konmuştur (31).

S. epidermidis, *S. aureus* dan koagülaz negatif, mannitole etkisiz ve alfa hemolizin yapmaması ile ayrılır (14).

Staphylococcus saprophyticus

KNS türleri içinde *S. saprophyticus*'un özel bir önemi vardır. Çünkü bu tür, birincil olarak seksüel aktif kadınlarda akut idrar yolu infeksiyonlarından sorumludur (32,33). Bu populasyon içinde, sistit oluşumunda *E. coli* den sonra ikinci önemli etkindir. Hastaların bu infeksiyonda genel olarak semptomları; dizüri, piyüri ve hematüridir. *S. saprophyticus* infeksiyonlarında % 41-86 oranında üst üriner sistem infeksiyonu gelişir. Ayrıca *S. saprophyticus* bakteriyemisinde komplikasyon olarak da üst üriner sistem infeksiyonu gözlenebilir. *S. saprophyticus* erkeklerde ve kadınlarda üretrite sebep olabilir. Ayrıca kateterle ilişkili idrar yolu infeksiyonları, yaşlı erkeklerde prostatit, seyrek olarak da bakteriyemi, sepsis ve endokardite yol açabilirler. Ayrıca idrar yolu ile ilişkisiz olarak, total parenteral nütisyonlu hastalarda bakteriyemi ve sepsis olguları bildirilmiştir (1).

S. saprophyticus'un idrar yolu infeksiyonlarındaki rolünü araştıran çalışmalar vardır. Rupp ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, 276 kadında rectumda %40, üretrada %30, idrarda %20, serviksde de %10 olmak üzere kolonizasyon saptamışlardır. Kadınlar 7 ay süreyle semptomatik idrar yolu infeksiyonları yönünden izlemiş ve bunlardan hiçbirinde semptomatik infeksiyon gelişmemiştir. Ancak semptomatik infeksiyonu olan 14 kadınla yapılan başka bir çalışmada, izole edilen suşların altısının, bu kadınların gaita florasında bulunan *S. saprophyticus* larla aynı olduğu gösterilmiştir (34). Bu da rektal kanalın bu organizma için temel kaynak olduğu görüşünü desteklemektedir.

S. saprophyticus için virülans faktörleri ile ilgili son yıllarda çalışmalar yapılmaktadır. İn vitro çalışmalarda *S. saprophyticus*'un üroepitelyal, üretral, periüretral hücrelere diğer stafilokoklardan daha yüksek miktarda yapışma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Ancak ağız içi mukozası ve deride bu adherensin olmadığı gözlenmiştir (35,36). Bu üroepitelyal doku tropizmi, *S. saprophyticus*'un yüksek oranda idrar yolu infeksiyonlarına sebep olmasını açıklayabilir. Diğer ürogenital patojenler (*Proteus* türleri, *Corynebacterium ureolyticum*) gibi *S. saprophyticus*'un da ureaz pozitif olması bu mikroorganizmanın İYE de etkin olmasını açıklayabilir (1).

Slime üretimi *S. saprophyticus* suşlarının hepsinde görülmez. Heljm ve Lundell-Etherden'in yaptıkları çalışma da 30 *S. saprophyticus* suşunun yalnızca

9'unda, tripticase-soy buyyonda slime üretimi gözlenirken, 30 suşun hepsinde idrarda slime üretimi olmuştur. Bu yüzden araştırmacılar, hem idrar, hemde üreaz varlığının slime üretimi için şart olduğunu ileri sürmüşlerdir (37).

S. saprofiticus suşlarında 95-kDa ağırlığında, yüzeyle ilişkili bir fibriler protein bulunmuştur. Bu protein Ssp (*S. saprophyticus* surface-associated protein) olarak tanımlanmış ve üroepitelyal hücrelere adherens de etkili olabileceği bildirilmiştir(38). Ayrıca *S. saprofiticus* suşlarında yüzeyde hemaglutinin tanımlanmış fakat virülansla ilgisi belirlenememiştir (1).

S. saprofiticus'un görünüm ve üreme özellikleri *S. epidermidis*e benzer. Daha çok anaerop koşullarda ürer. Aerop koşullarda üremesi çok zayıftır. Koagülaz negatif olup, mannitol, glikoz ve trehaloza anaerop koşullarda etkisizdir. Ancak, *S. epidermidis*'ten farklı olarak aerop koşullarda etkilidir. Yine farklı olarak fosfatazi yoktur. Novobiocin'e dirençlidir (14).

Diğer Koagülaz Negatif Stafilocoklar

Bu türler insan ve hayvanlarda normal florada bulunur ve bazı infeksiyonlara yol açabilirler. Rapor edildikleri infeksiyonlardan bazıları; yara infeksiyonları, İYE, bakteriyemi, osteomiyelit, kateter ilişkili sepsis, doğal ve yapay kapak endokarditleridir.

S. epidermidis ve *S. saprophyticus*'un dışında bir çok KNS türü daha vardır. İnsanlarda infeksiyon oluşturabilen türler şunlardır: *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. lugdunensis*, *S. capitis*, *S. schleiferi*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. saccharolyticus*, *S. pulvereri*, *S. caprae*, *S. pasteurii*, *S. auricularis*. Şimdiye kadar insanlardaki infeksiyonlarla ilişkisi belirlenemeyen ve daha çok hayvanlarda normal florada bulunabilen ve infeksiyon oluşturabilen türler ise: *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. chromogens*, *S. sciuri*, *S. gallinorum*, *S. lentus*, *S. equorum*, *S. delphini*, *S. felis*, *S. muscae*, *S. pisci fermentans* ve *S. vitulus* dur (1).

Bu etkenlerin immun sistemi baskılanmış hastalarda (prematür yenidoğanlar, nötropenik kanser hastaları, kronik hastalığı olanlar, hospitalize edilmiş hastalar ve invaziv girişim uygulanan hastalar) giderek artan oranda fırsatçı infeksiyon yaptıkları bildirilmektedir. Bunlardan bazıları örneğin; *S. schleiferi* ve *S. saccharolyticus* çeşitli ekstrasellüler ürünler (glikokaliks, DNase, lipaz, esteraz,

proteaz, alfa ve beta hemolizin) oluştururlar. Oluşturulan bu ürünler virölansa katkıda bulunur (1). *S. haemolyticus* da ise vankomisin direnci rapor edilmektedir (39,40,41).

STAFİLOKOK İNFEKSİYONLARININ TANISI

Bakterinin yapmış olduğu infeksiyon tipine göre inceleme örneği alınmalıdır. Yüzeyel bir lezyonda deri hafif bir antiseptik solüsyonla silinir ve yaranın üzeri açıldıktan sonra eküvyon ile örnek alınır. Meningeal irritasyon bulguları varsa beyin omurilik sıvısı, sepsis bulguları varsa kan incelenir. Pnömoni şüphesinde, temiz koşullarda alınan balgam veya trakeal aspirasyon sıvısı incelenebilir. Boğaz burun infeksiyonları ve diğer mukoza infeksiyonlarında eküvyonla alınan örnekler incelenir (14).

Alınan örneklerin doğrudan mikroskopik incelemesi ve gram boyama ile hazırlanan preparatları incelenir. Bu preparatların incelenmesi sonucu lökositlerle birlikte gram pozitif kokları görmek olasıdır (14).

Kültür için seçilecek besiyeri % 5 koyun kanlı agar olmalıdır. % 7.5 NaCl içeren besiyerleri, diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyerek stafilokoklar için seçici olabilir. Mannitollü besiyerleri ise *S. aureus* üretimi için daha uygundur (27).

Nazofarenks, açık yara , balgam, dışkı gibi karışık floranın bulunduğu yerlerden alınan inceleme örneklerinde, patojen stafilokokların yanı sıra, normal flora bileşenlerinin de olabileceği unutulmamalıdır. Kapalı abselerin ponksiyonu sırasında deride bulunan stafilokokların da örneğe karışması olasıdır (14).

İzole edilen bir stafilokokun *S. aureus* olup olmadığının saptanması için bazı işlemler yapılmalıdır. Plazma koagülaz reaksiyonu olumlu, mannitole etki eden, hemoliz yapan ve jelatini eriten stafilokoklar büyük çoğunlukla *S. aureus*dur. Özellikle koagülaz deneyi *S. aureus*'un ayırt edilmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Tüpte ve lamda yapılan koagülaz deneyinin yanı sıra alternatif koagülaz deneyleri de vardır. Lateks aglütinasyon, pasif hemaglütinasyon esasına dayanan koagülaz deneyleri de uygulanmaktadır. Ayrıca StaphASE test, RapiDEC Staph gibi otomatize sisitemlerle de koagülaz varlığı saptanabilmektedir (1). Koagülaz olumsuz *S. aureus*'lar için, koagülaz deneyinden sonra en çok değer taşıyan ve güvenilen

deney, termostabil DNA'se deneyidir. *S. aureus*' lar DNA'se olumludur (1,14). Mannitol fermantasyonuna dayalı bir başka testte *S. aureus* identifikasyonunda doğrulama testi olarak kullanılabilir. Bu testte mannitol salt agar kullanılmakta olup, bu agarda, %1 mannitol, %7.5 NaCl, fenol kırmızısı ve peptonlar vardır (1).

Moleküler biyolojik teknikler de *S. aureus* tanısında kullanılmaktadır. Bu teknikler de *muc* geni saptanmakta ve bu gen *S. aureus* da bulunan termostabil endonükleaz'ı kodlamaktadır. Ayrıca metisilin direncinde rol alan *mec A* genini saptayan moleküler biyolojik teknikler de vardır (1).

S. epidermidis ve *S. saprofiticus*, KNS lar içinde insanlardan en sık izole edilen türlerdir. Hem bu türlerin hem de diğer stafilokok türlerinin identifikasyonunu sağlayan ticari sistemler vardır. Önceki yıllarda fosfataz aktivitesi ile KNS lar tanımlanmaya çalışılmış ancak bu aktivitenin diğer stafilokoklarda da olduğu belirlenmiştir. *S. epidermidis* ve *S. hominis*'in tanımlanması için Desferoksamin duyarlılığı kullanılabilir. Desferoksamin asıl olarak *Streptomyces pilosus* tarafından üretilen bir siderefor olup, akut ve kronik demir yüklenmesi tedavisinde kullanılmaktadır. Bu test disk difüzyon testi şeklinde yapılır (1).

İnsan stafilokok türleri içinde *S. saprofiticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* ve *S. pulvereri novobiocin*'e dirençlidir. *S. saprofiticus* dışındaki türler insan klinik örneklerinden çok seyrek olarak izole edildiği için novobiocin duyarlılık testi *S. saprofiticus* identifikasyonunda kullanılır. Bu testte 5µg lık novobiocin diski kullanılır (1,14).

Trehaloz-mannitol-fosfataz agar (TMPA), *S. epidermidis* ve *S. saprofiticus* ayırım ve tespiti için yardımcı bir besiyeridir. *S. epidermidis* %90-96 fosfataz pozitifdir, trehaloz ve mannitolden asit oluşturmaz. *S. saprofiticus* ise trehaloz ve mannitolden asit oluştururken, fosfataz negatiftir. KNS ların diğer insan türleri de değişik ölçülerde trehaloz mannitol ve fosfataz aktivitesi gösterirler. TMPA ile novobiocin duyarlılık testi birleştirildiğinde *S. epidermidis* ve *S. saprofiticus* identifikasyonu yapılabilir (1).

STAFİLOKOK İNFEKSİYONLARINDA TEDAVİ

Stafilokoklar antibiyotiklere çabuk direnç geliştirirler. Bu yüzden uygun antibiyotik seçimi için, duyarlılık testlerinin yapılması gereklidir. 1940 lı yılların başlarında penisilin, stafilokoklara bağlı infeksiyonların tedavisinde başarı ile kullanılmış ancak hemen direnç gelişmeye başlamıştır. *S. aureus* suşlarının hepsi 1951 de eritromisine duyarlı iken altı ay kadar bir sürede direnç gelişmiştir. 1960 larda çoğul antibiyotik direnci gösteren stafilokok infeksiyonlarında penisilinaza dayanıklı penisilinlerin (metisilin v.b.) kullanıma girmesiyle tedavide yeni bir başarı yakalanmış, fakat hemen 1961 de metisilin dirençli suşlar bildirilmeye başlanmıştır(15).

Metisilin dirençli stafilokok suşları diğer betalaktam atibiyotiklere ve bir çok antibiyotiğe de dirençli olabilmektedir. Metisilin dirençli suşlar, invitro duyarlılık testleri sonucu betalaktam antibiyotiklere duyarlı çıksalar bile bunların oluşturduğu infeksiyonlarda betalaktam antibiyotikler kullanılmamaktadır. Bir çok antibiyotik grubuna da dirençli oldukları için tedavi seçenekleri oldukça kısıtlanmaktadır. Bu suşlarda bugün için hemen hemen tek tedavi seçeneği olarak kalan vankomisin'e de çok nadir de olsa direnç saptanması büyük bir endişe kaynağıdır.

STAFİLOKOKLARDA METİSİLİN DİRENCİ

Stafilokoklarda metisilin direnci değişik mekanizmalarla oluşabilir. Bunlar içinde en sık rastlananı, stafilokokların yeni bir penisilin bağlayan protein (PBP) kazanmaları ile oluşan dirençtir. Bu mekanizma nedeniyle dirençli olan stafilokoklarda, metisiline duyarlı olanlardan farklı olarak, yeni bir PBP vardır. PBP 2'nin hemen altında yer aldığı için PBP 2a adı verilen 78 kDa molekül ağırlığındaki bu enzimin, beta-laktam antibiyotiklere afinitesi diğer PBPlerden daha düşüktür. Bu nedenle metisiline dirençli stafilokoklar beta laktam antibiyotiklerle karşılaştığı zaman diğer tüm PBP ler antibiyotikler tarafından bloke edildiği halde bu enzimin afinitesi düşük olduğu için, beta laktam antibiyotiği bağlamaz ve tüm fonksiyonları üzerine alarak, bakteri duvar sentezini devam ettirir. Ortamda beta laktam antibiyotik olsa da olmasa da PBP 2a sentezlenir. Ancak ortamda antibiyotik yoksa fonksiyon göstermez. PBP miktarı ile bakterinin metisilin direnç düzeyi arasında bir ilişki

yoktur. Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizmaları Tablo 3 de verilmiştir (42). PBP 2a, dünyanın değişik bölgelerinde izole edilen, metisin dirençli koagülaz pozitif ya da negatif tüm stafilokoklarda gösterilmiştir. Metisiline duyarlı olanlarda ise yoktur (43).

Tablo 2. Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizmaları (42).

1. İntrensek (kromozomal) direnç :

A. Yeni bir PBP (PBP 2a) sentezi sonucunda oluşan direnç;

Mec A geni tarafından sentezlenir. İki şekilde olabilir:

- a. Heterojen direnç: Koloniyi oluşturan bakterilerin çoğu metisilin'in düşük konsantrasyonlarına duyarlı iken (MİK= 1-5 µg/ml), ancak 10^5 ya da 10^8 bakteride bir yüksek metisilin direnci gösterir (MİK = 100 µg/ml).
- b. Homojen direnç: Koloniyi oluşturan tüm bakterilerde mec A geni eksprese olmuştur ve hepsi metisiline yüksek dirençlidir.

B. Mevcut PBPlerin beta laktam antibiyotiklere afinitelerinin azalması;

Düşük düzeyli (borderline, MİK = 8-16 µg/ml) dirence neden olur. Son derece seyrek.

2. Kazanılmış (plazmid) direnç :

Stafilokokal betalaktamazların fazla salgılanması ile oluşur. Düşük düzeyli dirence sebep olur. Betalaktamaz inhibitörlerinin eklenmesi ile direnç yenilebilir.

Moleküler biyolojik çalışmalar sonucunda PBP 2a'nın sentezini sağlayan genetik bilginin bakteri kromozomunda lokalize bir gen olan mec A geninde taşındığı gösterilmiştir. Bu gen metisilin dirençli stafilokoklarda var duyarlı olanlarda ise yoktur (44). Transdüksiyon ile bu genetik bilgi dirençli suşlardan duyarlı suşlara aktarılabilmektedir. Mec A geni büyük olasılıkla bir transpozon üzerindedir. Bakteride metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için mec A geninin eksprese olması gerekmektedir. Ancak bu ekspresyon her bakteride aynı şekilde olmamaktadır. Bu nedenle mec A geni taşıdığı halde metisiline değişik düzeylerde dirençli ve hatta duyarlı stafilokoklar olabilmektedir. Yani mec A geninin varlığı bu

tür metisilin direnci için mutlak gerekli, ancak yeterli değildir. Mec A geninin ekspresyonunu kontrol eden başka bazı genlerde (faktör X, fem A, fem B, mec R, mec I) direnç oluşumunda etkili olmaktadır. Bu genlerin birbiri ve mec A geni ile birlikte çalışmaları sonucunda PBP 2a üretimi ile oluşan metisilin direnci iki şekilde olabilmektedir (44).

Homojen direnç: Bakteri kolonisini oluşturan tüm bakteriler mec A genini taşırlar ve hepsinde bu gen eksprese olmuştur. Yani işlevsel haldedir. Yüksek düzeyde dirence neden olur. Direncin saptanması ortamın pH'ı, ısı, tuz konsantrasyonu, inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerle ilişkili değildir. Ancak klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen stafilokokların az bir bölümünde metisilin direnci bu şekildedir.

Heterojen direnç: Klinik uygulamada daha sık görülen ve direnç oluşumunun çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle saptanması güç olan direnç türüdür. Koloniyi oluşturan tüm bakteriler mec A genini taşıdıkları halde, direnç ancak 10^6 ya da 10^8 bakteriden birinde tespit edilmektedir. Bunun daha önce saydığımız, faktör X, fem A, mec R, mec I gibi kontrol genlerine bağlı olarak meydana geldiği sanılmaktadır. Ancak heterojen direncin neden olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bu tür direnç, duyarlılık testleri % 4 NaCl içeren ortamda, düşük ısıda ve inkübasyon süresinin 48 saat olduğu şartlarda daha iyi tespit edilebilmektedir (45,46). Ancak bu şartlar sağlanmasına rağmen değişik mikrobiyolojik duyarlılık testlerinde direncin saptanabilme oranı % 85-100 arasında değişmektedir (42). Bu nedenle metisilin direncinin saptanmasında mec A geninin varlığını göstermeye dayalı yeni moleküler biyolojik yöntemler geliştirilmektedir (47,48).

İntrensek olarak metisilin dirençli stafilokok suşları sadece beta laktam antibiyotiklere değil, pek çok antibiyotiğe de dirençlidir. Metisilin dirençli S. aureus (MRSA) suşlarının çoğunun makrolid antibiyotikler, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin ve aminoglikozid antibiyotiklere dirençli oldukları bilinmektedir. Bu nedenle bu antibiyotikler için duyarlılık testleri mutlak yapılmalıdır (42).

Stafilokoklarda PBP 2a'nın sebep olduğu dirençten başka metisilin direncine neden olan mekanizmalar da vardır.

Beta laktamaz salgılanması: Beta-laktamaz salgılanması esas olarak metisiline dirence sebep olur. Metisilin bu enzime dayanıklıdır. Ancak aşırı miktarda salgılandığında metisilini de kısmen parçalayarak metisilin direncine neden oldukları gösterilmiştir. Bu tür direnç, beta-laktam antibiyotiklerin, beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmesiyle yenilebilir (49).

Mevcut PBP'lerde betalaktam antibiyotik afinitesinde azalma: Son yıllarda beta-laktamaz salgılamayıp, mec A geni taşımadıkları halde metisiline dirençli stafilokoklar saptanmıştır. Çok az sayıdaki bu tür izolatlar incelendiğinde, bu bakterilerin mevcut PBP' lerinin beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösterdikleri saptanmıştır (50).

Bütün bu mekanizmalar arasında PBP 2a sentezi en sık rastlanan ve metisilin dirençli stafilokoklar denildiğinde akla gelen esas direnç mekanizmasıdır. Diğer mekanizmalar az rastlanan direnç mekanizmalarıdır ve ancak, "sınırdaki direnç" (border-line) denen düşük düzeyli dirence sebep olurlar.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda Nisan 2001 – Haziran 2001 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan, 56'sı hastane kökenli 94'ü toplum kökenli olmak üzere, toplam 150 stafilokok suşu kullanıldı.

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiş olan klinik örneklerden izole edilen ve rutin mikrobiyolojik yöntemlere ek olarak otomatize sistemle (Sceptor®) stafilokok olduğu belirlenen suşlardan, yatık jeloza tek koloni pasajı alındı. Pasajlar çalışmanın yapılacağı zamana kadar + 4°C de saklandı. Bu suşların 68'i KPS iken 82'si KNS idi.

Çalışma yapılacağı zaman yatık jelozdaki pasajlar kanlı agara pasaj yapılarak saflık kontrolü yapıldı ve çalışmada suşların kanlı agarda 24 saat inkübe edilmiş pasajları kullanıldı.

Stafilokok suşlarında metisilin direncinin belirlenmesi için yapılan testlerde, oksasilin kullanıldığında, direncin belirlenebilme olasılığı daha yüksektir. Bu nedenle metisilin yerine oksasilin tercih edilmektedir (51). Bu çalışmada da metisilin direncinin belirlenmesi için oksasilin kullanılmıştır.

Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1- Etüv (35°C lik)
- 2- Buzdolabı (+ 4 °C lik)
- 3- Otoklav
- 4- Binoküler ışık mikroskopu
- 5- Benmari
- 6- Sceptor® (Otomatize sistem)
- 7-Replikatör
- 8-Mikroplak (96 kuyucuklu)
- 9-Küçük deney tüpü (100x 13mm)
- 10-Pipet (1,5,10 ml lik)
- 11-Petri kutusu (90 mm çapında)
- 12- Balon (500, 1000 ml lik)
- 13-Otomatik pipet (200,500 µl lik)
- 14-Halka ve iğne öze

Kullanılan Besiyerleri

a-Müeller Hinton Agar (Oxoid Kod No: CM337)

Müeller Hinton Agar 38 g

Distile su 1000 ml

PH 7.4 ± 0.2

b-% 5 Koyun kanlı agar

c-Buyyon

d-Jeloz

Kullanılan Antibiyotikler

Agar tarama ve Agar dilüsyon testlerinde kullanılan Oksasilin aktif maddesi Oxoid firmasından sağlandı (Potens: 830 µg/mg). Çoğul antibiyotik

direncini belirlemek için yapılan disk difüzyon testinde antimikrobiyal maddeleri içeren hazır diskler (Oxoid) kullanıldı.

Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Çalışmamızdaki istatistiksel değerlendirmeler ki kare ve Fischer'in kesin ki kare testleri ile yapılmıştır.

Yapılan deneyler

Çalışmamızda stafilocok suşlarında metisilin direncinin belirlemek amacı ile agar tarama testi, agar dilüsyon testi, disk difüzyon testi ve otomatize yöntem (Sceptor®) kullanıldı. Ayrıca stafilocok suşlarında çoğul antibiyotik direncini belirlemek için, ticari antibiyotik diskleri (Oxoid) kullanılarak disk difüzyon testi yapıldı.

Agar Tarama Yöntemi

Test NCCLS önerileri doğrultusunda % 4 NaCl eklenmiş ve ml de 6µg oksasilin içeren Müeller Hinton agarda yapıldı (51).

Müeller Hinton agara % 4 NaCl eklenip 121°C de 15 dk otoklavlandıktan sonra 50°C' ye soğutuldu ve steril şartlarda 6µ/ml olacak şekilde oksasilin eklendi. Agar kalınlığı 4 mm olacak şekilde 90 mm çapında petrilere döküldü.

Çalışılacak olan suşların kanlı agardaki pasajları 24 saatlik inkübasyondan sonra etüvden çıkarıldı. Doğrudan koloni süspansiyon yöntemi ile 0.5 Mc Farland bulanıklık ayarına uygun şekilde ve yaklaşık 1×10^8 CFU/ml bakteri içerecek şekilde buyyona aktarıldı. Doğrudan koloni süspansiyon yöntemi NCCLS'nin sorunlu veya güç üreyen mikroorganizmalar (Haemophilus spp., N. gonorrhoeae, Streptokoklarla ilgili testlerde ve Stafilokolarda metisilin direnci tespiti) için önerdiği yöntemdir (51). Bu yöntemde test edilecek suşun plak üzerinde birbirine benzeyen kolonilerinden 3-5 tanesinin alınıp, 0.5 Mc Farland bulanıklık ayarına uygun şekilde, buyyona veya serum fizyolojiğe aktarılması ve bekletilmeden test edilmesi söz konusudur.

Buyyona aktarılmış olan suşlar steril eküvyon ile çizgi ekim yapılarak Müeller Hinton agar plaklarına ekildi. Plaklar yine NCCLS önerileri (51) doğrultusunda 35° C de 24 saat inkübe edildi ve tek bir koloninin bile üremesi durumunda çalışılan suş oksasiline dirençli kabul edildi. KNS lerin oksasilin direncinin belirlenmesinde 48 saatlik inkübasyon önerildiği için üreme olmayan plakların inkübasyonu 48 saate tamamlandı. Yine üreme gözlenmemişse bu suşlar oksasiline duyarlı olarak değerlendirildi.

Kontrol suşları olarak S.aureus ATCC 29213 (Duyarlı) ve S. aureus ATCC 43300 (Dirençli) kullanıldı.

Agar Dilüsyon Yöntemi

% 2 NaCl içeren Müeller Hinton besiyeri hazırlanıp otoklavlandıktan sonra 50° C ye kadar soğutuldu. Daha önceden hazırlanan, farklı konsantrasyonda oksasilin içeren çözeltiler besiyerleri içine katıldı. Besiyerleri içindeki oksasilin son konsantrasyonları;

- 512 µg/ml
- 256 µg/ml
- 128 µg/ml
- 64 µg/ml
- 32 µg/ml
- 16 µg/ml
- 8 µg/ml
- 4 µg/ml
- 2 µg/ml
- 1 µg/ml
- 0.5 µg/ml
- 0.25 µg/ml
- 0.125 µg/ml

olacak şekilde test işlemine hazır hale getirildi.

Çalışılan suşlar replikatöre uygun kuyucuklarda 0.5 Mc Farland bulanıklık ayarına uygun olacak şekilde, doğrudan koloni süspansiyon yöntemi ile

hazırlandı. Agar dilüsyon testlerinde istenen 10^7 CFU/ml yoğunluğunu elde edebilmek için steril buyyonla 1/10 oranında dilüe edildi. Böylece çalışılan suşlar test aşamasına uygun hale getirildi.

48 suşluk replikatör yardımı ile kuyucuklardan, oksasilin konsantrasyonları belli olan Müeller Hinton besiyerlerine ekim yapıldı. İnoküle edilen plaklar oda sıcaklığında inokulum noktalarının agara absorbe olmasına kadar beklendi. Daha sonra ekim yapılan plaklar 35°C de 24 saat inkübe edildi. Oksasilin için MİK değerleri ≤ 2 µg/ml olan suşlar duyarlı ≥ 4 µg/ml olan suşlar ise dirençli olarak değerlendirildi (52).

Kontrol suşları olarak S.aureus ATCC 29213 (Duyarlı) ve S. aureus ATCC 43300 (Dirençli) kullanıldı.

Disk Difüzyon Yöntemi

Bir gecelik kanlı agar kültüründe üreyen kolonilerden, doğrudan koloni süspansiyon yöntemi ile 0.5 Mc Farland bulanıklık ayarına uygun şekilde steril buyyona alındı. Buyyonlardan %4 NaCl içeren Müeller Hinton agara steril pamuklu eküvyonlarla sürülerek ekim yapıldı. 1 µg lık oksasilin diskleri agar yüzeyine steril pensle yerleştirildi. Plaklar 35 °C de 24 saat inkübe edildi. İnhibisyon zon çapı 10 mm ve altında olanlar dirençli, 11-12 mm olanlar orta duyarlı, 13 mm ve üstü olanlar ise duyarlı olarak değerlendirildi (53).

Kontrol suşu olarak S. aureus ATCC 25923 kullanıldı.

Otomatize Yöntem

Çalışmamızda Sceptor® cihazı kullanıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışma yapıldı.

Çoğul Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi

Çoğul antibiyotik direncinin belirlenmesi için, Müeller Hinton Agar besiyerinde, hazır antibiyotik diskleri (Oxoid) kullanılarak, NCCLS kriterlerine uyularak disk difüzyon testi yapıldı (54). Kullanılan antibiyotikler, disk içerikleri ve değerlendirme için zon çapları Tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan antibiyotikler, disk içerikleri ve zon çapları.

Antibiyotik	Disk içeriği(µg)	Zon çapları (mm)		
		Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Penisilin G	10 Ü	≤ 28	-	≥ 29
Amox- Klav.	20-10	≤ 19	-	≥ 20
Sefalotin	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Tetrasiklin	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Eritromisin	15	≤ 13	14-22	≥ 23
Rifampisin	5	≤ 16	17-19	≥ 20
Klindamisin	2	≤ 14	15-20	≥ 21
Oflaksasin	5	≤ 12	13-15	≥ 16
Vankomisin	30	-	-	≥ 15
TMP + SMX	1.25/23.75	≤ 10	11-15	≥ 16
Gentamisin	10	≤ 12	13-14	≥ 15

Ü: ünite

Test işlemi tamamlandıktan sonra Tablo 3 de verilen zon çaplarına göre değerlendirme yapıp test edilen antibiyotiklerin direnç durumları belirlendi.

BULGULAR

Çalışmamızda 140 hastadan izole edilen toplam 150 stafilocok suşunun 68'i KPS, 82'si KNS idi. Suşların klinik örneklerle göre dağılımı Tablo 4 de verilmiştir.

Tablo 4. İzole edilen stafilocok suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı.

Örnekler	KPS		KNS		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yara	29	19.3	11	7.3	40	26.0
Kan	7	4.6	27	18.6	34	22.6
İdrar	6	4.0	11	7.3	17	11.3
Göbek	5	3.3	9	6.0	14	9.3
Kateter	3	2.0	10	6.6	13	8.6
BOS	2	1.3	7	4.6	9	6.0
Boğaz	6	4.0	-	-	6	4.0
Balgam	5	3.3	-	-	5	3.3
Dren	-	-	5	3.3	5	3.3
Sinovyal sıvı	2	1.3	2	1.3	4	2.6
Burun	3	2.0	-	-	3	2.0
Toplam	68	45.3	82	54.7	150	100

BOS: Beyin omirilik sıvısı

KPS: Koagülaz pozitif stafilocok

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

Bütün suşlar dikkate alındığında toplam 150 stafilocok suşunda referans test olarak kabul ettiğimiz agar tarama testine göre 58 suş (% 38.7) metisiline dirençli, 92 suş (%61.3) ise metisiline duyarlı olarak saptanmıştır. Agar tarama

testine göre 68 KPS suşunun 25'inde (%36.8) metisiline direnç saptanırken, 82 KNS suşunun 33'ünün (% 40.2) metisiline dirençli olduğu saptandı. Metisiline direnç oranları bakımından KPS ve KNS suşları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Agar Tarama testinde metisiline direnç saptanan 58 suşun 56'sı Agar Dilüsyon testi ile de dirençli bulunurken, Agar Tarama testinde duyarlı bulunan suşlardan 2 tanesinin Agar Dilüsyon testinde dirençli olduğu saptandı. Agar Dilüsyon testinin Agar Tarama testine göre duyarlılığı % 96.5 , özgüllüğü ise %97.8 olarak hesaplandı. Agar tarama testinin pozitif prediktif değeri % 96.5, negatif prediktif değeri ise % 97.8 olarak bulundu.

Agar Tarama testi ile disk difüzyon testi karşılaştırıldığında, Agar tarama testinde metisiline dirençli bulunan 58 suşun 57'sinin disk difüzyon testinde de dirençli olduğu saptandı. Agar Tarama testinde duyarlı bulunan suşlardan 2 tanesi Disk difüzyon testinde dirençli olarak saptandı. Bu bulgular doğrultusunda Disk difüzyon testinin Agar Tarama testine göre duyarlılığı % 98.2 özgüllüğü ise % 97.8 bulundu. Disk Difüzyon testinin pozitif prediktif değeri %96.6, negatif prediktif değeri % 98.9 olarak saptandı.

Agar Tarama testinde metisiline dirençli bulunan 58 suşun 55'i Sceptor® sisteminde de dirençli olarak saptandı. Agar Tarama testinde duyarlı çıkan suşlardan 3 tanesi ise Sceptor® de dirençli bulundu. Buna göre Sceptor®'ün duyarlılığı % 94.8, özgüllüğü ise % 96.7 olarak saptandı. Sceptor ® sisteminin pozitif prediktif değeri % 94.8, negatif prediktif değeri ise % 96.7 olarak bulundu.

Çalışılan testlerin Agar Tarama testine göre duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 5 de verilmiştir.

Tablo 5. Çalışılan testlerin Agar Tarama testine göre duyarlılık ve özgüllükleri

Testler	Duyarlılık (%)	Özgüllük(%)
Agar Dilüsyon	96.5	97.8
Disk Difüzyon	98.2	97.8
Sceptor®	94.8	96.7

Bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p > 0.05$). Aynı şekilde testlerin pozitif prediktif değerleri ve negatif prediktif değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p > 0.05$).

Çalışılan testler arasında metisilin direncini saptama yönünden birbirleri arasında belirgin bir fark yoktur. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da Disk Difüzyon testinin duyarlılığı diğerlerinden yüksek, Sceptor®' ün duyarlılığı ve özgüllüğü ise diğerlerinden düşük çıkmıştır.

Testlerin metisilin direncini saptama oranları toplam suş sayısı üzerinden değerlendirildiğinde; agar tarama ile % 38.7, disk difüzyon ile %38.0, agar dilüsyon ile %37.3, Sceptor®'le % 36.7 oranında metisiline dirençli suş saptanmıştır (Tablo 6). Bu oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 6. *Stafilokok suşlarının çalışılan testlere göre metisiline dirençlilik ve duyarlılık oranları*

Testler	KPS (n:68)		KNS (n:82)		Toplam (n:150)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Agar Tarama						
Dirençli	25	36.8	33	40.2	58	38.7
Duyarlı	43	63.2	49	59.8	92	61.3
Agar Dilüsyon						
Dirençli	24	35.3	32	39.1	56	37.3
Duyarlı	44	64.7	50	60.9	94	62.7
Disk Difüzyon						
Dirençli	25	36.8	32	39.1	57	38.0
Duyarlı	43	63.2	50	60.9	93	62.0
Sceptor®						
Dirençli	24	35.3	31	37.8	55	36.7
Duyarlı	44	64.7	51	62.2	95	63.3

Testlerin metisilin direncini saptama oranları yönünden, KPS ve KNS lar ayrı ayrı incelendiğinde de birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Çalışmada stafilokok suşlarının bazı antibiyotiklere direnç durumları da değerlendirmeye alınmıştır. KPS ve KNS ların antibiyotiklere dirençlilikleri Tablo 7 de verilmiştir.

Tablo 7. KPS ve KNS ların antibiyotiklere dirençlilik durumları

Antibiyotik	KPS (68)		KNS (82)		Toplam (150)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Vankomisin	-	-	-	-	-	-
TMP + SMX	8	11.7	15	18.2	23	15.3
Amoks- klav	17	25.0	26	31.7	43	28.6
Ofloksasin	20	29.4	23	28.0	43	28.6
Eritromisin	27	18.0	21	25.6	48	32.0
Rifampisin	19	27.9	32	39.0	51	34.0
Gentamisin	24	38.7	32	39.0	56	37.3
Klindamisin	23	33.8	39	47.5	62	41.3
Sefalotin	32	47.0	42	51.2	74	49.3
Tetrasiklin	41	60.2	43	52.4	84	56.0
Penisilin G	54	79.4	70	85.3	124	82.6

TMP+SMX : Trimetoprim+Sülfametaksazol Amoks-klav : Amoksisilin-klavulonat

Metisilin direnci dikkate alınmaksızın yapılan değerlendirmede, en yüksek direnç oranı penisilin G de gözlenmiştir. Vankomisine dirençli suş saptanmamıştır. Ayrıca TMP+SMX'e karşı, diğer antibiyotiklerden daha düşük oranda dirençlilik saptanmıştır.

Stafilokok suşlarının dirençlilik durumları, metisilin dirençliliğine göre, KPS ve KNS ayrımı yapılmaksızın değerlendirildiğinde ise, metisiline dirençli stafilokoklarda, metisiline duyarlı stafilokoklara göre diğer antibiyotiklere karşı

yüksek oranda direnç düzeyleri saptanmıştır. Bu yükseklik, TMP+SMX hariç, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). TMP+SMX için, metisilin dirençli stafilocok suşlarında saptanan direnç oranları ile metisilin duyarlı stafilocoklarda saptanan direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). Metisilin dirençli ve metisilin duyarlı suşlardaki antibiyotiklere direnç oranları Tablo 8 de verilmiştir.

Tablo 8. Stafilocok suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının metisilin duyarlılığına göre dağılımı

Antibiyotik	Mdi KPS (n:25) %	Mdu KPS (n:23) %	Mdi KNS (n:33) %	Mdu KNS (n:49) %	Mdi Top (n:58) %	Mdu Top (n:92) %
Vankomisin	-	-	-	-	-	-
TMP+SMX	20.0	6.9	24.2	14.2	22.4	10.8
Amoks-klav	64.0	2.3	69.6	6.1	67.2	4.3
Ofloksasin	72.0	4.6	69.6	6.1	65.5	5.4
Eritromisin	52.0	13.9	54.5	22.4	53.4	18.4
Rifampisin	64.0	6.9	69.6	18.3	67.2	13.0
Gentamisin	76.0	11.6	72.7	16.3	74.1	14.1
Klindamisin	72.0	11.6	78.7	26.5	75.8	19.5
Sefalotin	76.0	30.2	78.7	53.6	77.5	42.3
Tetrasiklin	80.0	48.8	75.7	36.7	77.5	42.3
PenisilinG	100.0	67.4	93.9	79.5	96.5	73.9

Kısaltmalar:

Mdi KPS: Metisiline dirençli koagülaz pozitif stafilocok

Mdu KPS: Metisiline duyarlı koagülaz pozitif stafilocok

Mdi KNS: Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocok

Mdu KNS: Metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilocok

Mdi Top: Metisiline dirençli toplam

Mdu Top: Metisiline duyarlı toplam

TMP+SMX: Trimetoprim+Sülfametaksazol

Amoks-klav: Amoksisilin-klavulonat

Mdi KPS lar ve MduKPS lar birbirleri arasında antibiyotiklere direnç yönünden karşılaştırıldığında, Mdi KPS ların Mdu KPS lara göre, direnç oranlarının yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılık, TMP+SMX hariç, istatistiksel olarakta anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde Mdi KNS lar ve MduKNS lar birbirleri arasında antibiyotiklere direnç yönünden karşılaştırıldığında, Mdi KNS ların Mdu

KNS lara göre yüksek oranda dirençliliklerinin olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, yine TMP+SMX hariç, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Çoğul antibiyotik direnci incelendiğinde; KPS ve KNS lardan metisiline duyarlı olanlarda sefalotin, tetrasiklin ve penisilin G' ye yüksek düzeyde direnç oranları gözlenirken diğer antibiyotiklere düşük direnç oranları belirlenmiştir. Metisiline duyarlı olanlarda, özellikle amoksisilin-klavulonat, oflaksasin ve TMP+SMX' e direnç oldukça düşüktür. Metisiline dirençli olanlarda ise vankomisin ve TMP+SMX hariç, çalışılan diğer antibiyotiklere karşı çok yüksek düzeyde direnç oranları tespit edilmiştir. Metisiline duyarlı olan suşlarda amoksisilin-klavulonat ve oflaksasin'e çok düşük düzeyde olan direnç oranları da, metisiline dirençli suşlarda yüksek düzeyde saptanmıştır. Metisiline dirençli stafilokokların hepsinde (KPS+KNS) çoğul antibiyotik direnci gözlenmiştir.



TARTIŞMA

Stafilokokların neden olduğu infeksiyonların kontrol altına alınabilmesi için tedavide uygun antibiyotiğin seçilmesi gereklidir. Metisilin dirençli stafilokoklarda görülen çoğul antibiyotik direnci dikkate alındığında, doğru antibiyotiğin seçimi için öncelikle metisilin dirençli stafilokok suşlarının hızlı ve doğru olarak tanımlanması gerekmektedir. Direncin belirlenmesi için seçilen yöntemin ise rutin laboratuvarlarda kullanılabilir olması, güvenilir olması, kolay uygulanabilmesi ve çabuk sonuç vermesi gerekir (2,55).

Metisiline dirençli stafilokoklarda mecA geninin varlığı nedeniyle, bu genin saptanması metisilin direncinin belirlenmesinde güvenilir bir yöntemdir. Direncin genotipik ekspresyonu çevresel koşullardan bağımsızdır. Bu nedenle metisiline dirençli stafilokokların doğru olarak tanımlanabilmesi için mecA genini saptama yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir (56,57). Ancak bu moleküler teknikler özel donanım gerektirdiği için çoğu rutin laboratuvar tarafından uygulanamamaktadır (11).

Bazı çalışmalarda mec gen probe yöntemi ile paralel olarak uygulanan oksasilin agar tarama yöntemi arasında uyumlu sonuçlar alınmış ve çok örnekle çalışılan büyük merkezlerde metisilin direncinin bu yöntem ile araştırılmasının uygun ve ekonomik olduğu vurgulanmıştır (58,59,60).

Bu çalışmada metisilin direncinin tespiti için kullanılan yöntemlerden bazıları değerlendirmeye alınmıştır. Agar tarama testi referans test kabul edilerek agar tarama, agar dilüsyon, disk difüzyon testleri ve otomatize sistem (Sceptor®) de metisilin direncini saptama yönünden birbirleri arasında fark olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda bu testlerin metisilin direncini saptama oranları yönünden birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Testlerin agar tarama testine göre duyarlılık ve özgüllükleri karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. İstatistiksel olarak

anlamli olmasa da disk difüzyon testinin duyarlılığı agar dilüsyon ve Sceptor®'e göre yüksek, Sceptor®'ün duyarlılığı ve özgülüğü ise disk difüzyon ve agar dilüsyon testlerine göre düşük çıkmıştır.

Özkan ve ark.(61) agar tarama, agar dilüsyon, disk difüzyon ve API staph ATB (bioMerioux) yöntemlerini metisilin direncini saptama yönünden birbirleri ile karşılaştırmışlar ve yöntemler arasında, metisilin direncini saptama oranları açısından, çalışmamızda da olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır.

Sünbül ve ark.(62) agar tarama, mikrodilüsyon, disk difüzyon ve Sceptor® yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmada olduğu gibi agar tarama testini doğrulama testi olarak kabul edip diğer yöntemlerin agar tarama testine göre duyarlılık, özgülük ve temel uyum oranlarını yorumlamışlardır. Disk difüzyon testinin duyarlılık, özgülük ve temel uyumunu diğer testlere göre daha yüksek bulmuşlardır. Sceptor yönteminin duyarlılık ve özgülüğünü ise diğer yöntemlere göre düşük bulmuşlardır. Bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirtmemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları da çalışmamızla uyumlu gözükmektedir.

Razlighi ve Derbentli (63), metisilin direncinin saptanmasında mikrodilüsyon disk difüzyon ve agar tarama yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, mikrodilüsyon ve agar tarama yöntemini % 100 uyumlu bulurken, disk difüzyon testinin iki yönteme göre duyarlılığını % 100, özgülüğünü ise %97.5 olarak saptamışlardır.

Karabiber ve Karahan (64), aynı amaçla disk difüzyon ve agar tarama testini karşılaştırmışlardır. Bu araştırmacılar agar tarama testinin duyarlılığını, disk difüzyon testine göre yorumlamışlardır. Disk difüzyon testi ile 24 saatlik inkübasyon sonunda dirençli bulunan suşların ancak % 51.5'i agar tarama testi ile 24 saat sonunda dirençli bulunmuştur. Agar tarama testinin inkübasyon süresini 48 saate uzattıklarında ise, disk difüzyon testinde dirençli buldukları suşların % 97'sini agar tarama testinde de dirençli olarak saptamışlardır.

Fidan ve ark.(65) benzer bir çalışmada broth mikrodilüsyon ve agar tarama yöntemlerini % 100 uyumlu bulurken, disk difüzyon testinde direnç oranını % 0.9 oranında daha düşük saptadıklarını belirtmişlerdir.

Stafilokokların metisiline direnç oranı, doğrulama testi olarak kabul ettiğimiz agar tarama testine göre çalışmamızda % 38.7 dir. Ülkemizde yapılan çalışmalardan bazılarında saptanan metisiline direnç oranları Tablo 9 da verilmiştir.

Tablo 9. Çeşitli çalışmalarda stafilokok suşlarında belirlenen metisilin direnci

Kaynak	Yer ve Tarih	Kaynak No	%
Ünal ve ark.	Ankara 1990	(66)	37.0
Akgül	İstanbul 1990	(67)	31.7
Razlighi ve ark	İstanbul 1992	(63)	26.5
Birengel ve ark.	Ankara 1992	(68)	23.2
Bakır ve ark.	Sivas 1993	(69)	36.7
Karabiber ve ark.	Ankara 1994	(64)	11.6
Arıkan ve ark.	Ankara 1994	(70)	31.6
Kocagöz ve ark	Ankara 1997	(71)	68.9
Fidan ve ark	Ankara 1997	(65)	53.4
Özkan ve ark.	İzmir 1997	(61)	49.7
Çavuşoğlu ve ark	İzmir 1998	(72)	66.2
Erol ve ark.	Erzurum 1998	(73)	46.1
Sünbül ve ark	Samsun 2000	(62)	60.8
Sunulan çalışma	Sivas 2002		38.7

Kocagöz ve ark. (%68.9), Çavuşoğlu ve ark. (%66.2) ve Sünbül ve ark. (%60.8)'nın çalışmalarında gözlenen yüksek direnç oranları, bu çalışmalarda hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen stafilokok suşlarının değerlendirilmeye alınmış olmasından kaynaklanmaktadır. Hastane infeksiyonlarına daha çok metisiline dirençli stafilokokların yol açtığı bilinen bir durum olduğu için, bu direnç yüksekliği beklenen bir bulgudur.. Karabiber ve arkadaşlarının çalışmasında bulunan düşük direnç oranı (%11.6) ise, bu çalışmada test edilen 300 stafilokok suşunun 60'ının yatan hastalardan 240'ının ise personel ve hastaların burun taramalarından elde edilen suşlar olmasından kaynaklanabilir. Diğer çalışmalarda elde edilen metisiline direnç oranları birbirleri arasında ve çalışmamızla uyumlu gözükmektedir. Yurt

dışında yapılan çalışmalardan bazılarında stafilocokların metisiline direnç oranlarını, Bantar ve ark.(74) % 57, Sader ve ark.(75) S. aureus için % 34, KNS lar için % 80.1, Chang ve ark.(76) % 62, Garrabe ve ark.(77) ise %50.2 olarak bulmuşlardır. Direnç oranlarındaki bu farklılıklar, antibiyotiklere direnç profillerinin yerel farklılıklar göstermesi ile açıklanabilir.

Çalışmamızda stafilocok suşlarının çeşitli antibiyotiklere dirençlilikleri de test edilmiştir. Metisilin direnci dikkate alınmaksızın yapılan değerlendirmede en yüksek direnç oranı (%82.6) penisilin G de gözlenmiş ve vankomisin'e dirençli suş saptanmamıştır. Vankomisin hariç tutulduğunda TMP+SMX' e karşı diğer antibiyotiklerden daha düşük düzeyde direnç oranları (%15.3) belirlenmiştir. TMP+SMX' e karşı direnç oranlarını Arıkan ve ark (70) % 4.4, İnan ve ark.(78) % 16.3, olarak bulmuşlardır. Bu bulgular çalışmamızla uyumlu gözükmemektedir. Tuncer ve ark.(79) ise bu oranı % 33.5 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda test edilen antibiyotiklere karşı direnç oranları metisilin direncine göre değerlendirildiğinde ise, genel olarak metisiline duyarlı suşlarda direnç oranları düşük iken metisiline dirençli suşlarda direnç oranları yüksek bulunmuştur. Bu farklılık, TMP+SMX' e karşı direnç oranları hariç, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Birengel ve ark. (68), Sultan ve ark.(80), Gedik ve ark. (81), Büyükbaba ve ark. (82), Ögünç ve ark. (83)' nın yaptıkları benzer çalışmaların hepsinde de, çalışmamızla uyumlu olarak, metisiline duyarlı stafilocoklarda antibiyotiklere direnç oranları düşük iken , metisilin dirençli stafilocoklarda yüksek düzeyde direnç oranları saptanmıştır. Bu yüksek düzeydeki direnç oranları söz konusu çalışmaların tümünde çoğul antibiyotik direnci şeklindedir. Yine söz konusu çalışmalarda vankomisine dirençli suş saptanmamıştır.

Sunulan çalışmamızda dikkat çeken antibiyotik TMP+SMX dür. Daha öncede belirtildiği gibi TMP+SMX hem metisilin duyarlı stafilocoklarda, hem de metisilin dirençli stafilocoklarda in vitro olarak etkili bulunmuştur. Arıkan ve Tunçkanat (84), Arman ve Tural (85) ve Arıkan ve ark (70)'nın yaptıkları çalışmalarda, çalışmamıza benzer şekilde hem metisilin duyarlı stafilocoklarda hem de metisilin dirençli stafilocoklarda TMP+SMX' e karşı düşük düzeyde direnç oranları belirlenmiştir. Ögünç ve ark.(83) ile Sultan ve ark.(80) nın yaptıkları çalışmalarda ise metisilin duyarlı stafilocoklarda TMP+SMX' e karşı düşük düzeyde

direnç oranları saptanırken, metisilin dirençli stafilokoklarda direnç oranları yüksek bulunmuştur. Santos ve ark.(86)'nın yaptığı çok merkezli bir çalışmada toplam 3307 metisiline dirençli stafilokok suşu çalışmaya alınmış ve TMP+SMX'e direnç oranı % 45 olarak bulunmuştur. Yine bu çalışmada siprofloksasin, eritromisin klindamisin, gentamisin ve tetrasikline % 70'in üstünde direnç saptanmıştır.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları, maddeler halinde aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür.

1. Stafilocoklarda metisilin direncini saptamak için kullandığımız yöntemler olan; agar tarama, agar dilüsyon, disk difüzyon ve otomatize sistem (Sceptor)[®] arasında direnç oranlarını belirlemek yönünden belirgin bir fark yoktur.
2. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da otomatize sistemdeki duyarlılık ve özgüllüğün düşüklüğü, bir çok rutin laboratuvar da bu tip yöntemlerin kullanıldığı göz önüne alınırsa dikkat edilmesi gereken bir durumdur. Metisilin direncini atlayıp, gereksiz antibiyotik kullanımına yol açmamak için, NCCLS' in de önerdiği ve pratik açıdan da yapılması kolay olan agar tarama testi ile otomatize sistemlerin birlikte kullanımının yararlı olabileceği görüşündeyiz.
3. Çalışmamızdaki metisilin direnci oranı %38.7 dir. Bu oran hastane infeksiyonlarından izole edilen suşlarla yapılan çalışmalarda çok daha yüksektir.
4. Metisilin dirençli stafilocoklarda çoğul antibiyotik direnci vardır. Bu durum söz konusu mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlamaktadır.
5. Çalışmamızda vankomisine dirençli suş saptanmamıştır. Metisilin dirençli stafilocokların neden olduğu infeksiyonlarda en etkili antibiyotik tedavisi glikopeptid antibiyotiklerle yapılan tedavidir.
6. Metisilin dirençli stafilocoklarda saptanan düşük düzeydeki TMP+SMX direnci, vankomisinin toksisitesi ve yüksek maliyeti göz önüne alındığında, bu mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlarda bir tedavi alternatifi olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Tenover FC:** Staphylococci and Related Organisms in Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 5th ed. Lippincott Company, Philadelphia, p: 539-576, 1997.
2. **Hackbarth CJ, Chambers HF:** Methicillin-resistant Staphylococci: Detection methods and treatment of infections. *Antimicrob Agents Chemother* 33 (7): 995-999, 1989.
3. **Centers for Disease Control and Prevention:** Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin-United States. *Morb Mortal Wkly Rep* 46:765-766, 1997.
4. **Hiramatsu K, Kuwahara A, Boyle S, Daum RS, Labischinski H:** Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strains Mu3 and Mu50. *J Antimicrob Chemother*. 42: 199-200, 1998.
5. **Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A:** The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection *N Engl J Med*. 340: 517-523, 1999.
6. **Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson B, Tenover FC, Zervas MJ, Band JD, White E, Jarvis WR:** Emergence of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. *N Engl J Med*. 340: 493-501, 1999.
7. **Mi-na K, Chik HP, Jun HW, Ji SR, Hiramatsu K:** Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus in Korea. *J Clin Microbiol* 38:3879-3881, 2000.
8. **Thorsherry C:** Methicillin-resistant (heteroresistant) Staphylococci *Antimicrobic Newsletter* 1 (6): 43-50, 1984.
9. **Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Tecaoka H, Watanabe S:** Identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a clinical microbiology laboratory *Antimicrob Agents Chemother* 34(9):1720-1724, 1990.

10. Ünal S, Werner K, De Girolami P, Barsanti F, Eliopoulos G: Comparison of tests for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a clinical microbiology laboratory. *Antimicrob Agents Chemother* 38: 345-347, 1994.
11. Archer GL, Pennel E: Detection of methicillin resistance in *Staphylococci* by using a DNA probe. *Antimicrob Agents Chemother* 34:1770, 1990.
12. Gerbeding JL, Miick C, Liu HH, Chambers HF: Comparison of Conventional susceptibility test with direct detection of penicillin-binding protein 2a in borderline oxacillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 2574-2579, 1991.
13. Ünal S: Gram pozitif bakterilerde antibiyotik duyarlılık testleri. Akalın E (Ed): Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri. Ankara, s:68-72, 1992.
14. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji, 10.basım, Barış yayınları İzmir, s: 239-271, 2000.
15. Cengiz AT: *Staphylococcus*. Ustaçelebi Ş (Ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi, Ankara, s: 339-347, 1999.
16. Talen DA, Staatz D: *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine-infected wound infections: a newly recognized zoonotic pathogen. *J Clin Microbiol* 27: 78-81, 1989.
17. Tally FP, Barg NL: *Staphylococci: Abscesses and Other Diseases*, Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G (eds): *Mechanisms of Microbial Diseases Third Ed.* Lippincott Company, Philadelphia, p: 135-142, 1998.
18. Hochkeppel HK, Braun DG, Vischer W: Serotyping and electron microscopy studies of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with monoclonal antibodies to capsular serotypes 5 and 8. *J Clin Microbiol* 25: 526-530, 1987.
19. Johne B, Jarp J, Haaheim LR: *Staphylococcus aureus* exopolysaccharide in vivo demonstrated by immunomagnetic separation and elektron microscopy. *J Clin Microbiol* 27: 1631-1635, 1989.

20. Arbeit RD, Karakawa WW, Vann WF: Predominance of two newly described capsular polysaccharide types among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 85-91, 1984.
21. Boutonnier A, Nato F, Bouvet A: Direct testing of blood cultures for detection of the serotype 5 and 8 capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 27:989-993, 1989.
22. Branger C, Goullet P, Boutonnier A: Correlation between esterase electrophoretic types and capsular polysaccharid types 5 and 8 among methicillin-susceptible and methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 28: 150151, 1990.
23. Fornier JM, Bouvet A, Boutonnier A: Predominance of capsular type 5 among oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 25: 1932-1933, 1987.
24. Marques MB, Weller PF, Parsonnet J: Phosphatidylinositol-specific phospholipase C, a possible virulence factor of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 27:2451-2454, 1989.
25. Dancer SJ, Garrat R, Saldanha J: The epidermolytic toxins are serine proteases, *FEBS Lett* 268: 129-131, 1990
26. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). Mondell GL, Bennet JE, Dolin R (eds): *Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. Newyork, pp: 1754-1777, 1995.
27. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: *Staphylococcus and Related Organisms in Medical Microbiology*. Third ed. Mosby, St. Louis pp: 175-188, 1998.
28. Müller E, Hübner J, Gutierrez N: Isolation and characterization of transposon mutants of *Staphylococcus epidermidis* deficient in capsular polysaccharide/ adhesin and slime. *Infect Immun* 61: 551-558, 1993.
29. Bykowska K, Lendwicka A, Wegrzynowicz Z: Anticoagulant properties of extracellular slime substance produced by *Staphylococcus epidermidis*. *Thromb Hemost* 54:853-856, 1985.

30. Gray ED, Peters G, Verstegen M, Regelmen WE: Effect of extracellular slime from *Staphylococcus epidermidis* on the cellular immune response. *Lancet* 1:365-367, 1984.
31. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ: Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 22:996-1006, 1985.
32. Gregson DB, Low DE, Skulnick M: Problems with rapid agglutination of *Staphylococcus aureus* when *S. saprophyticus* is being tested. *J Clin Microbiol* 26:1398-1399, 1988.
33. Hedman P, Ringertz O: Urinary tract infections caused by *S. saprophyticus*. A matched case-control study. *J Infect* 23:145-153, 1991.
34. Hedman P, Ringertz O, Olsson K, Wollin R: Plasmid-identified *S. saprophyticus* isolated from the rectum of patients with urinary tract infections. *Scand J Infect Dis* 23: 569-572, 1991.
35. Mardh PA, Collen S, Hovelius B: Attachmant of bacteria to exfoliated cells from the urinary tract. *Invest Urol* 16:322-325, 1979.
36. Mc Taggart LA, Rigby RC, Elliot TSJ: The pathogenesis of urinary tract infections associated with *Escherichia coli*, *S. saprophyticus* and *S. epidermidis*. *J Med Microbiol* 32: 135-141, 1990.
37. Hjelm E, Lundell-Etherden I: Slime production by *S. saprophyticus*. *Infect Immun* 59: 445-448, 1991.
38. Gattermann S, John J, Marre R: Identification and characterization of a surface-associated protein (Sp) of *Staphylococcus saprophyticus*. *Infect Immun* 60: 1055-1060, 1992.
39. Low DE, Schmidt BK, Kirpalani HM: A endemic strain of *S. haemolyticus*, colonizing and causing bacteremia in neonatal intensive care unit patients. *Pediatrics* 89: 696-700, 1992.
40. Schwalbe RS, Ritz WJ, Verma PR: Selection for vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci. *N Engl J Med* 316: 927-931, 1987.

41. Schwalbe RS, Stapleton JT, Gilligan PH: Emergence of vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci. *N Engl J Med* 316: 927-931, 1987.
42. Ünal S: Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizmaları vr metisilin direnç tespit yöntemleri. *Flora* 1: 14-17, 1996.
43. Hartman BJ and Tomasz A: Low affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bact* 158: 513-516, 1984.
44. Ruffel C, Kayser FH, Berger-Bachi B: Correlation between regulation of *mec A* transcription and expression of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 25-31, 1992.
45. Lencastre HD, Figueiredo A, Urban C, Rahal J, Tomasz A: Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 632-639, 1990
46. NCCLS: Antimicrobial Susceptibility Testing / SC 3 Third Edition: The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova Pa,10: M7-A2 Dilution Testing (Aerobes) and M2-A4 disc Testing, NCCLS Document M2-A4 , 1990.
47. Gordon A, Pennel E: Detection of methicillin resistance in staphylococci by using a DNA probe. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 1720-1724, 1990.
48. Ünal S, Haskins J, Flokowitsch J, Wu E, Preston D, Sleatrud P: Detection of methicillin-resistant *Staphylococci* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30: 1685-1691, 1992.
49. Chambers H, Archer G, Matsuhashi M: Low level methicillin resistance in strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 424-428, 1989.
50. Tomasz A, Drugean HB, De Lencastre HM, Vabes D, Mc Dougal L, Poille J: New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*; clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicilin-binding proteins with modified penicilin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1867-1869, 1989.

51. **Gür D (Ed):** Aerop Üreyen Bakteriler için Dilüsyon Yöntemi ile Antimikrobik Duyarlılık Testleri- Dördüncü Baskı; Onaylanmış Standart. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara NCCLS M7-A4:17(2), 2000.
52. **NCCLS:** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically. Approved Standard. Document M7-A3 NCCLS Villanova Pa. 1993.
53. **NCCLS:** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2-A5, 5th Ed, 17(24), NCCLS Villanova Pa. 1993.
54. **Gür D (Ed):** Antimikrobik Disk Difüzyon Testleri için Uygulama Standartları- Altıncı Baskı; Onaylanmış Standart. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara NCCLS M2-A6 :17 (1), 2000
55. **Boyce MJ:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection, epidemiology and control measures. *Infectious Diseases Clinics of North America* 3: 901-913, 1989.
56. **Kotilainen P, Hyvarinen J, Orvinen H:** Testing of methicillin resistance by in vitro susceptibility and the present of the mec A gene in clinical *Staphylococcus aureus* isolates in Finland. *Scand J Infect Dis* 27:475-479, 1995.
57. **Vannufel P, Gigi J, Ezzedine H:** Specific detection of methicillin-resistant *Staphylococcus* species by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 33: 2864-2867, 1995
58. **Richard P, Meyran M, Carpenter E:** Comparison of phenotypic methods and DNA hybridization for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 32: 613-617, 1994.
59. **York MK, Gibbs L, Chehab F:** Comparison of PCR detection of mec A with standart susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 34:249-253, 1996.
60. **Skulnick M, Simor AE, Gregson D:** Evaluation of commercial and standard methodology for determination of oxacillin susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 30: 1985-1988, 1996.

61. **Özkan F, Aydemir Ş, Tünger A, Özinel MA:** Stafilocok kökenlerinin metisilin dirençlerinin belirlenmesinde dört farklı yöntemin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg* 11 (3): 247-250, 1997.
62. **Sünbül M, Furtun F, Esen Ş, Eroğlu C, Günaydın M, Leblebicioğlu H:** Hastane infeksiyonlarından elde edilen stafilocok suşlarında oksasilin direncinin dört ayrı yöntem ile araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 34: 215-221, 2000
63. **Razlighi RA, Derbentli Ş:** Staphylococcus aureus suşlarındaki metisilin direncinin belirlenmesinde, mikrodilüsyon, disk difüzyon ve agar tarama yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 8(1): 62-68, 1994
64. **Karabiber N, Karahan M:** Staphylococcus aureus suşlarında agar tarama (screen) ve disk difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült* 29: 20-25, 1995.
65. **Fidan I, Akyar I, Türet S, Rota S:** Klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direncinin üç ayrı yöntemle saptanması ve metisiline dirençli suşların in vitro mupirosin duyarlılığının araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 31: 345-350, 1997.
66. **Ünal S, Korten V, Gür D, Akalın HE, Baykal M:** Klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında metisilin direnci. *ANKEM Derg* 4:235, 1990
67. **Akgül A:** Haydarpaşa Numune Hastanesinde metisiline rezistan Staphylococcus aureus sürveyansında broth mikrodilüsyon, agar tarama yöntemlerinin değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*, İstanbul, 1990.
68. **Birengel S, Kurt H, Boşça A, Balık İ, Tekeli E:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocokların metisiline direncine göre çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 8 (3-4): 121-125, 1994.
69. **Bakır M, Dökmetaş İ, Elaldı N:** Nosokomiyal infeksiyonlardan izole edilen Stafilocokların metisilin direnci. *C Ü Tıp Fak Derg* 19 (3): 205-206, 1997
70. **Arıkan S, Tunçkanat F, Özalp M, Günalp A:** Staphylococcus aureus suşlarında bazı makrolid antibiyotiklere ve trimetoprim-sulfametaksazole duyarlılığın metisilin direnciyle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bült* 28: 333-337, 1994.

71. Kocagöz S, Çetinkaya Y, Uzun Ö, Akova M, Haşcelik G, Ünal S: Hastane infeksiyonlarından izole edilmiş stafilokok ve enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. *Flora* 4: 284-287, 1997.
72. Çavuşoğlu C, Hilmioğlu S, Dibek MA, Afşar İ, Tümbay E: Kan kültürlerinden soyutlanan Staphylococcus aureus kökenlerinin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 13(4):497-500, 1999.
73. Erol S, Ertek M, Görgün S, Taşyaran MA: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokokların antibiyotik direnç oranları. *Mikrobiyol Bült* 33: 111-117, 1999.
74. Bantar C, Famiglietti A, Goldberg M: Three-year surveillance study of nosocomial bacterial resistance in Argentina. *Int J Infect Dis* 4(2):85-90, 2000.
75. Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, Jones RN: Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals; summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis* 5(4): 200-214, 2001.
76. Chang SC, Hsieh WC, Liu CY: High prevalence of antibiotic resistance of common pathogenic bacteria in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 36(2): 107-112, 2000.
77. Garrabe E, Cavallo SD, Brisou P, Chapalain JC: Sensitivity to antibiotics of bacteria from nosocomial infections. Evolution in resuscitation services of military hospitals. *Presse Med* 29(27): 1497-1503, 2000
78. İnan N, Özgenç O, Oran E, Sancaktaroğlu İ: Kagülaz-pozitif ve koagülaz-negatif stafilokokların invitro antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 6(4): 303-306, 1992.
79. Tuncer Eİ, Baykan M, Kart H, Baysal B: Klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus suşlarının sefuroksim ve diğer bazı antimikrobiyallere duyarlılığı. *Mikrobiyol Bült* 28 (2): 128-129, 1994.
80. Sultan N, Türet S, İmir T: Metisiline dirençli stafilokokların antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi. *Mikrobiyol Bült* 25: 227-234, 1994.
81. Gedik H, Benzonana N, Taşer B, Ersöz G, Özer S: Homojen MRSA suşlarında Antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* 11(4): 457-460, 1997.

82. Büyükbaba Ö, Nakipoğlu Y, Katrancı H, Derbentli Ş, Gürler N: S. aureus suşlarında çeşitli antibiyotiklere ve klorheksidine direnç. *ANKEM Derg* 12(1):70-76, 1998.
83. Ögünç D, Vural T, Çolak D, Gültekin M, Mutlu G: Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli koagülaz-negatif stafilokok suşlarının antibiyotiklere direnç özellikleri. *İnfeksiyon Derg* 12 (2): 157-160, 1998.
84. Arıkan S, Tunçkanat F: Hacettepe Üniversitesi Hastanesinde 1993 yılından bu yana izole edilen Staphylococcus aureus suşlarının trimetoprim-sülfametaksazole in-vitro duyarlılığının araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 34: 223-232, 2000.
85. Arman D, Tural D: Yara örneklerinden izole edilen MRSA suşlarının trimetoprim-sülfametaksazole ve bazı antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 10 (4): 428-432, 1996.
86. Santos SI, Mato R, de Lencastre H, Tomasz A: Patterns of multidrug resistance among methicillin-resistant hospital isolates of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci collected in the international multicenter study RESIST in 1997 and 1998. *Microbial Drug Resistance* 6(3): 199-211, 2000.