



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF
STAFİLOKOKLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI ve BAZI
VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Muhuyedin Abdirahman ZİYAD

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji Programı

Ocak, 2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Muhuyedin Abdirahman ZİYAD tarafından, **Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKAM** danışmanlığında hazırlanan KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI ve BAZI VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **28/02/2023** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKAM İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Doç. Dr. Hayriye KIRKOYUN UYSAL İstanbul Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TANER Altınbaş Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Her zaman yanımda olan, anlayış gösteren, desteklerini, duasını ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, bu günümü borçlu olduğum canım annem Zeynaba Ahmed MUHUMED'e ithaf ediyorum.

BÜTÇE DESTEKLERİ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI ve BAZI VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 36520**

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yetişmemde emeği geçen ve beni her zaman destekleyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı, değerli hocam, Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimime başladığım günden itibaren bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, yetişmemde büyük emeği olan, tezimin planlanmasında ve çalışmalarımın her aşamasında desteğini benden esirgemeyen, her zaman hoşgörüsünü ve yakın ilgisini gördüğüm, değerli danışman hocam Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım, Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'e, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ'a, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e rahmetli hocam Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR'a, Prof. Dr. Sevgi ERGİN'e, Prof. Dr. Erdal POLAT'a, Doç. Dr. Suat SARIBAŞ'a ve Doç. Dr. Mert Ahmet KUŞKUCU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince her zaman yakın ilgi ve dostluklarını hissettiğim, yardımlarını esirgemeyen Dok. Öğr. Edip TOKUÇ'a ve her zaman bana bir abla kadar yakın Uzm. Öğr. Dr. Ayşe CEYLAN KILINÇARSLAN'a teşekkürü borç bilirim.

Eğitimim süresinde yakın dostluklarını gördüğüm çalışma arkadaşlarıma, laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı tüm kürsü çalışanlarına ve aileme çok teşekkür ederim

Ocak 2023

Muhuyedin Abdirahman ZİYAD

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	ii
BÜTÇE DESTEKLERİ	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. STAFİLOKOLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ	3
2.3. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİ	12
2.3.1. Biyofilm	12
2.3.2. Koagülaz Negatif Stafilocoklar ve Slime Faktörü	13
2.4. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA EKSOENZİMLER VE TOKSİNLER	16
2.5. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA EPİDEMİYOLOJİ VE BULAŞMA	17
2.6. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA PATOGENEZ.....	17
2.7. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN KLİNİK ÖNEMİ	18
2.8. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ	19
2.8.1. B-laktam Antibiyotiklere Direnç.....	19
2.8.2. Diğer Antibiyotiklere Direnç	20
2.9. KLİNİK TANI VE LABORATUVAR TANISI	21
2.9.1. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF MS)	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. GEREÇLER.....	24
3.1.1. Deneylede Kullanılan Malzemeler	24
3.1.2. Deneylede Kullanılan Cihazlar	25

3.1.3. Deneylelerde Kullanılan Besiyerleri, Stok Solüsyonlar ve Ayıraçlar.....	25
3.1.4. Deneylelerde Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	28
3.2. YÖNTEM	31
3.2.1. Klinik Örnekler ve İzolatlar	31
3.2.2. Koagülaz Negatif Stafilokokların İzole Edilmesi ve Tür Tanımlanması.....	31
3.2.3. Koagülaz Negatif Stafilokokların Saklanması	33
3.2.4. Koagülaz Negatif Stafilokokların ve Standart kökenlerin canlandırılması.....	33
3.2.5. Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Slime Üretiminin Saptanması.....	33
3.2.6. Koagülaz Negatif Stafilokokların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi.	34
3.2.7. Moleküler Yöntemler	35
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR.....	64
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	83

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan primerlerin ambalaj görüntüsü.....	30
Şekil 4.1: İzole edilen KNS ların örneklere göre dağılımı.....	38
Şekil 4.2: Koagülaz negatif stafilokokların KKA'da üreme sonucu görüntüleri.....	50
Şekil 4.3: <i>icaA</i> , <i>icaD</i> , IS256 ve <i>mecA</i> genlerin jel elektroforez görüntüsü.....	52



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Laboratuvarıda sık izole edilen stafilocokların genel özellikleri.....	5
Tablo 2.2: Stafilocoklarda görülen antibiyotiklere direnç mekanizması.....	21
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan primerler.....	29
Tablo 3.2: <i>mecA</i> Primeri PCR aşamaları.....	36
Tablo 3.3: <i>icaA</i> Primeri PCR aşamaları.....	36
Tablo 3.4: <i>icaD</i> Primeri PCR aşamaları.....	37
Tablo 3.5: IS256 Primeri PCR aşamaları.....	37
Tablo 4.1: KNS türlerinin örneklere göre dağılımı.....	39
Tablo 4.2: Koagülaz negatif stafilocokların antibiyotiklere duyarlılıkları.....	40
Tablo 4.3: Koagülaz negatif stafilocokların antibiyotiklere direnç profili s (%).....	44
Tablo 4.4: Kongo Kırmızılı Agarda üreyen <i>S. epidermidis</i> izolatlarına ait veriler.....	47
Tablo 4.5: Kongo Kırmızılı Agarda üreyen diğer KNS izolatlarına ait veriler.....	48
Tablo 4.6: Kongo Kırmızılı Agarda slime pozitif KNS izolatlarının örnek türüne göre dağılımı.....	49
Tablo 4.7: KNS izolatlarında KKA, <i>icaAD</i> ve IS256 sonuçlarının karşılaştırılması.....	51
Tablo 4.8: Çoklu antibiyotik direnci olan KNS izolatlarında dirençli bulunan antibiyotik grubu sayısı ile <i>icaA</i> , <i>icaD</i> ve IS256'nın dağılımı	53
Tablo 4.9: Çoklu antibiyotik direnci olan izolatlarda <i>icaA</i> , <i>ica D</i> ve IS256'nın dağılımı.....	54

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
<	: Küçüktür
≤	: Küçük veya Eşittir
≥	: Büyük veya Eşittir
°C	: Santigrat Derece
bp	: Baz çifti
g	: gram
gr	: gram
lt	: Litre
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
pH	: Hidrojen Potansiyeli
UV	: Ultraviyole
xg	: Yerçekim Birimi
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklama
16S rRNA	: 16S ribozomal Ribonükleik Asit
A.B.D	: Amerika Birleşik Devletleri
Aap	: Yığılma ile İlişkili Protein
ACME	: Arginin Katabolik Mobil Elementler
altC	: <i>S. caprae</i> 'nin otolizini
altE	: Otolizin/adhezin
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
C5	: Kompleman Protein 5
CO₂	: Karbondioksit
CRF	: Koagülaz Reaksiyon Faktörü
dATP	: Deoksiadenozin Trifosfat
dCTP	: Deoksisitidin Trifosfat
dGTP	: Deoksiguanozin Trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Deoksinükleotid Trifosfat
dTTP	: Deoksitimidin Trifosfat
E- test	: Epsilometer test
eDNA	: Ekstraselüler Deoksiribonükleik Asit
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
FAME	: Yağ Asidi Modife edici Enzim
fdh	: Format Dehidrogenaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
IS256	: İnsersiyon Dizileri 256
icaADBC	: Interselüler Adezyon Gen Bölgesi
KKA	: Kongo Kırmızılı Agar
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokok

MALDI-TOF MS	: Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometri
MDR	: Çoklu İlaç Direnç
mecA	: Metisilin Direnç Geni
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MR-KNS	: Metisilin Direnç Koagülaz Negative Stafilokok
MSCRAMMs	: Bağlayıcı Matris Molekülleri Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Bileşenleri
PBP2a	: Penisilin Bağlayan Protein 2a
PDR	: Panresiztan
PIA	: Polisakarit Interselüler Adhezin
PNAG	: Poli-N-asetilglukozamin
PSM	: Fenolde Çözünen Modulinler
RNA	: Ribonükleik asit
RNaz	: Ribonükleaz
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SCCmec	: Stafilokok Kaset Kromozom
TAE	: Tris/asetik asit /EDTATamponu
TAs	: Teikoik Asit
TBE	: Tris/Borat/EDTATamponu
XDR	: Aşırı Antibiyotik Direnci

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI VE BAZI VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Muhuyedin Abdirahman ZİYAD]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji Programı

[Danışman: Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN]

Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) günümüzde, çoklu ilaç direncine sahip olmaları ve biyofilm üretebilmeleri nedeniyle, infeksiyonların tedavisinde güçlükler neden olmaktadır. Çalışmamızda KNS'lerin antimikrobiyal direnç durumlarının ve biyofilm oluşturma özelliklerinin araştırılması, elde edilen sonuçlar doğrultusunda, izolatların antibiyotik direnç profilleri ve biyofilm oluşturabilme özellikleri arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen yatan hastalara ait kateter, cerahat, doku örneklerinden infeksiyon etkeni olduğu öngörülen 100 adet KNS izolatu ile gerçekleştirilmiştir. KNS'lerin tür düzeyinde tanımı Matriks-Destekli Lazer Desorpsiyon/Iyonizasyon Kütle Spektrometresi (MALDI TOF-MS) ile yapılmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Mueller Hinton agarda Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Metisilin direnci *mecA* geninin varlığına göre, biyofilm oluşturma özellikleri Kongo kırmızılı agar (KKA)'da üreyen koloni özelliklerine ve *icaA*, *icaD*, IS256'nın Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle saptanmasına göre tespit edilmiştir. Sonuçlar istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Örneklerden en sık üretilen türlerin *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* olduğu ve antibiyotiklere en fazla direnç gösteren türün *S. haemolyticus* olduğu saptanmıştır. Sefoksitin direncine göre ve *mecA* geni varlığına göre 100 KNS izolatının 64'ünde (%64) metisilin direnci gözlenmiştir. Bunların dışında 17 KNS izolatında sefoksitin duyarlılığına karşın *mecA*

pozitifliği saptanmıştır. 100 KNS izolatının 52' si KKA da slime pozitif bulunmuştur. Tüm *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* ve 17 *S. hominis* izolatında *icaA* ve *icaD* pozitifliği gözlenmiştir. KKA'da slime pozitif *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolat sayısı ile *icaA* ve *icaD* genlerini taşıyan izolat sayı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). IS256, *icaA* ve *icaD* genleri pozitif olan tüm *S. haemolyticus* izolatlarında, 15 *S. hominis* ve 40 *S. epidermidis* izolatlarında görülmüştür. Çoklu ilaç direnci saptanan *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatının %100 nde, *S. hominis* izolatının ise %94.1'inde *icaA* ve *icaD* pozitifliği de saptanmıştır.

KNS'ler gibi biyofilm oluşturan bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yaşanan güçlükler nedeniyle yeni antibiyofilm ajanların geliştirilmesi yararlı olacaktır. |

Ocak 2023 , |105 | sayfa.

Anahtar kelimeler: |Koagülaz Negatif Stafilokok, Biyofilm, Antibiyotik direnci, |



ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

**[INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITIES AND SOME
VIRULANCE FACTORS OF COAGULASE NEGATIVE STAPHYLOCOCCI
ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES]**

[Muhuyedin Abdirahman ZIYAD]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Microbiology

Microbiology

Medical Microbiology

[Supervisor: Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN]

Today, Coagulase Negative Staphylococci (CoNS) cause difficulties in the treatment of infections due to their multi-drug resistance and ability to produce biofilms. We aimed to investigate the antimicrobial resistance and biofilm forming properties of CoNS, and to determine whether there is a relationship between these properties.

Our study was carried out with 100 CoNS predicted to be infectious agents, isolated from catheter, pus and tissue samples of inpatients coming to Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Isolates were identified by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Antibiotic susceptibilities were determined on Mueller Hinton agar by Kirby-Bauer Disk Diffusion method. Methicillin resistance was determined by *mecA* gene positivity, biofilm formation by the colony characteristics on Congo red agar (CRA) and *ica A*, *ica D*, IS256 by Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. The results were evaluated using statistical methods.

The most frequently isolated species were *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, and the most resistant species to antibiotics was *S. haemolyticus*. Cefoxitin resistance and *mecA* gene, were observed in 64 (64%) of CoNS. Furthermore, 17 CoNS isolate were *mecA*

positive despite sensitivity to cefoxitin. 52% of CoNS were slime positive in CRA. All *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* and 17 *S. hominis* isolates were *icaA*, *icaD* positive. The number of slime positive *S. epidermidis* and *S. haemolyticus* isolates in CRA was statistically different from the number of isolates carrying the *icaA* and *icaD* genes ($p < 0.05$). IS256 was seen in all *S. haemolyticus* and 15 *S. hominis* isolates with positive *icaA* and *icaD* genes and in 40 *S. epidermidis* isolates. All *S. epidermidis* and *S. haemolyticus* and 94.1% of *S. hominis* with multidrug resistance were *icaA* and *icaD* positive.

It would be beneficial to develop new antibiofilm agents due to the difficulties experienced in the treatment of infections caused by biofilm forming bacteria such as CoNS. |

January 2023, |105| pages.

Keywords: |Coagulase Negative Staphylococci, Biofilm, Antibiotic resistance.|



1. GİRİŞ

Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS), insan ve hayvan mikrobiyotasında yaygın olarak bulunan bakterilerdir (1). Genellikle kolonize oldukları konakla kommensal bir ilişki içindedirler, ancak vücudun doğal bariyeri olan derinin travma, yanma, yaralanma veya tıbbi cihaz takılma sırasında hasar görmesi sonucunda patojenik duruma dönüşebilmekte ve özellikle bağışıklık yetmezliği olanlarda, yoğun bakım hastalarında, prematüre bebeklerde, kemoterapi alanlarda ve altta yatan hastalıkları olanlarda ciddi kronik infeksiyonlara neden olabilmektedirler (2,3).

Koagülaz Negatif Stafilokokların patogeneğinde rol oynayan en önemli virülans özellikleri biyofilm oluşturabilmeleridir (4). Bu özellik KNS'ların konak savunma sisteminden kendilerini korumalarında en önemli savunma mekanizmalarından biridir (5).

Antibiyotik direnci günümüzde küresel bir sağlık sorunu olmakta ve aynı zamanda ülkeler için ciddi bir maddi külfet yaratmaktadır. Antibiyotik direncine bağlı olarak hastanın tedavi süresi ve hastanede kalış süresinin uzaması sonucunda diğer nozokomiyal infeksiyon etkenlerinin bulaşma riski artmaktadır (6). Antimikrobiyal direncin artmasında birçok neden tespit edilmiştir; bunlar arasında biyofilm tabakaları içerisinde bulunan bakterileri örten biyofilm matriksin kalınlığı ve bileşenleri önemli rol oynamaktadır. Biyofilm içindeki bakterilerde özellikle beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin arttığı belirtilmektedir (7,8). KNS'lerde antibiyotik direnci çok önemli bir sorundur. Sıklıkla rastlanan metisilin direnci, *mecA* geni tarafından kodlanan ve penisilin bağlayan protein 2a/2' (PBP2a/PBP2') olarak adlandırılan bir proteinin üretimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu modifiye olmuş proteinin beta-laktam grubu antibiyotiklere afinitesi düşük olduğu için tüm beta-laktam ve beta-laktam türevi antibiyotiklere dirence neden olmaktadır (6,7,8). Son yıllarda KNS türlerinin, başlıca antibiyotiklerden özellikle penisilin, oksasilin, siprofloksasin, klindamisin, eritromisin ve gentamisin'e artan oranlarda direnç geliştirdiği gösterilmiştir (9,10,11).

IS256 insersiyon elementleri daha çok biyofilm oluşturan ve antibiyotiklere direnç gösteren invazif özelliğe sahip nozokomiyal KNS izolatları ile ilişkilendirilmektedir. IS256, *S. epidermidis*'te *icaADBC* operonunun *icaA* modülüne geri dönüşümlü olarak bağlanarak gen içeriğinin ve gen ekspresyonunun infeksiyöz tarza dönüşme şeklindeki optimizasyonuna izin

veren bir sekans olarak tanımlanmaktadır. Özellikle invazif suşlarla ilişkilendirilerek bir patojenite markırı olarak kabul edilebileceği öne sürülmektedir (12).

Koagülaz negatif stafilokoklar, kateter ilişkili infeksiyonlar, bakteriyemi, osteomyelit, artrit, endokardit, idrar yolu infeksiyonu ve yara infeksiyonlarında etken olarak izole edilmişlerdir (13). Hastalarda kullanılan protez, kalp kapakçıkları, santral venöz kateterler, idrar sondaları, kontak lensler ve intrauterin cihazlar gibi çeşitli kalıcı tıbbi cihazlarda kolonizasyonları sonucunda, başta bakteriyemi ve septisemi olmak üzere kateter ilişkili infeksiyonlara, drenaj ile ilişkili menenjitte, cerrahi bölge, protez eklem ve peritonit ile ilişkili lokal infeksiyonlara da neden olabilmektedirler (13,14,15). İnfeksiyonlarda KNS türlerinden en sık rastlananlar; *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* ve *S. haemolyticus* olarak bildirilmiştir ancak son yıllarda yapılan gen dizilimleri sonucunda çok daha fazla KNS türünün infeksiyon etkeni olabileceği gösterilmiştir (3).

Günümüzde, çoklu ilaç direnç profiline sahip olmaları ve biyofilm üretebilmeleri nedeniyle, infeksiyonların tedavisinde güçlükler neden oldukları gözlemlenen KNS türlerine olan ilgi ve bu konuda yapılan araştırmalar giderek artmaktadır (16,17).

Çalışmamızda, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinde yatan hastalara ait kateter, cerahat ve doku örneklerinde infeksiyon etkeni olarak izole edilen KNS'lerin tür düzeyinde tanımlanarak, başta metisilin direnci olmak üzere, antimikrobiyal direnç durumlarının ve biyofilm oluşturma özelliklerinin araştırılması, elde edilen sonuçlar doğrultusunda, izolatların antibiyotik direnç profilleri ve biyofilm oluşturabilme özellikleri arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Stafilokoklar İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından ilk kez 1880 yılında tanımlanmıştır (18, 19, 20-22). Paris'te aynı sene Louis Pasteur tarafından da sıvı besiyerinde üretilmiştir (23-25). Yine 1882'de ilk kez *Staphylococcus* adı Alexander Ogston tarafından kullanılmıştır. Ogston, hastalardan elde ettiği cerahat örneğini boyayarak kümelenmiş halde görülen kokları üzüm salkımına benzetmiştir ve *Staphylococcus* adını yunanca üzüm salkım anlamına gelen staphylos kelimesinden türeterek kullanmıştır. 1884 yılında Friedrich Rosenbach tarafından hastalardan alınan örneklerinden stafilokoklar üretilmiştir. Rosenbach besiyerinde izole ettiği kolonileri renklerine göre adlandırmıştır, sarı renge sahip kolonilere *Staphylococcus aureus*, beyaz renklilere ise *Staphylococcus albus* adını vermiştir. 1970'leden itibaren *Staphylococcus epidermidis* dışındaki Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS) türleri tanımlanmaya başlanmıştır. Baird-Parker tarafından spesifik KNS türleri ilk kez tanımlanmıştır (23-27).

2.2. STAFİLOKOLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Stafilokoklar, insan ve hayvan mikrobiyotasında yaygın olarak bulunabilen ve hareketsiz, katalaz pozitif, spor oluşturmeyen fakültatif anaerob Gram pozitif kok şeklinde bakterilerdir (28). Stafilokok cinsi *Micrococcaceae* familyasında, çapları 0.5–1.5 µm arasında değişebilen, tek tek koklar veya bazen dördütlü koklar şeklinde görülen bakterilerdir (28, 29, 30–32). Stafilokok cinsi, kan plazmasının pıhtılaşmasına neden olan koagülaz enzim üretme yeteneğine bağlı olarak, koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilokoklar olarak iki ana gruba ayrılmıştır (33). Stafilokoklar arasında en sık izole edilen türler, koagülaz pozitif grubuna ait *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif grubuna ait *S. epidermidis* dir bu nedenle çoğu bilimsel çalışma bu iki tür üzerinde yoğunlaşmıştır (34). Bununla birlikte, KNS'ler 50'den fazla türü olan, 20'den fazla alt türe sahip büyük ve sürekli genişleyen bir stafilokok grubundan oluşmaktadır (35).

Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS), insan derisini oluşturan mikrobiyotada yaygın olarak bulunan, kolonize olma özelliğine sahip bakterilerdir. İnfeksiyon etkeni olmaktan ziyade kültürlerde genellikle kontaminant olarak değerlendirilmişlerdir (36,37). Konak ile yararlı ilişkileri olmasına rağmen bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi infeksiyonlara da

neden oldukları belirtilen bu bakteriler son yıllarda fırsatçı patojen olarak tanınmakta ve sağlık alandaki önemleri artmaktadır (38,39).

Stafilokoklar çeşitli karbonhidratlara karşı metabolik aktivite gösterirler. Glukoz oksidasyonu sonucu oluşan asıl ürün laktik asit iken, aerop koşullarda CO₂ ve asetik asit oluşumuna neden olabilirler (21, 23, 40). Stafilokokların çoğunlukla oksidaz testi negatiftir (41, 24, 40). Laboratuvarda sık izole edilen stafilokok türlerinin genel özellikleri Tablo 2.1'deki gibidir (40, 23, 24, 42). Koagülaz pozitif stafilokoklardan en önemlisi *S. aureus*'tur (41, 23, 40). Diğer koagülaz pozitif türleri olan *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* mikrobiyolojik özellikleri ve neden oldukları infeksiyonlar bakımından *S. aureus*'tan ziyade KNS türlerine benzerlik gösterirler bunun için KNS'ler içerisinde incelenmektedirler (40). İnsalarda en çok kolonize olan KNS türleri *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. saccharolyticus*, *S. caprae*, *S. pasteurii*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. schleiferi*, *S. simulans*, *S. xylosus* ve *S. auricularis* tir (18, 19, 43, 44).

Koagülaz negatif stafilokok türleri arasında *S. epidermidis* hem mikrobiyota içerisinde bulunan hem de infeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen türdür (41, 45, 24, 43, 44). *S. epidermidis* etken olarak izole edilen tüm KNS'lerin %50-90 kadarını oluşturur (44). *S. haemolyticus*, *S. schleiferi*, *S. Saprophyticus*, *S. warneri*, *S. lugdunensis* türleri diğer KNS türleriyle kıyaslandığında *S. epidermidis*' ten sonra daha sık infeksiyon etkeni olarak izole edilen türlerdir (41, 19, 43, 44). Bunlar arasında en virulan olan *S. lugdunensis*'tir (19).

Staphylococcus epidermidis

S. epidermidis, klinik örneklerden izole edilen KNS türleri arasında en yaygın olanıdır ve hastane ortamında infeksiyonlara en çok neden olan KNS türüdür (14). *S. epidermidis*'in protez ve tıbbi cihazlara kolonize olmasında ve enfekte etmesinde rol oynayan en önemli virülans faktörü biyofilm oluşturabilme özelliğidir (46). Metisiline direnci, KNS'lerin nozokomiyal izolatlarından özellikle *S. epidermidis*'te yaygın olarak rastlanır; dünya çapında sıklığı yaklaşık %75-90 arasında değişmektedir (47). Bu direnci, penisilini bağlayan proteini olan PBP2a'yı kodlayan *mecA* geninin varlığından kaynaklanır ve metisiline bağlanma afinitesi düşer (48). Aminoglikozitlere, makrolidlere ve daha az ölçüde tetrasiklin, kloramfenikol ve klindamisine direnci de hastane ile ilişkili *S. epidermidis* suşları arasında sıklıkla gözlemlenmektedir (49).

Tablo 2.1: Laboratuvarıda sık izole edilen stafilokokların genel özellikleri (41, 23, 42, 43).

	<i>S. aureus subsp. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	* <i>S. hyicus</i>	* <i>S. intermedius</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. saprophyticus subsp. saprophyticus</i>	<i>S. schleiferi subsp. schleiferi</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. hominis subsp. novobiosepticus</i>
Koagülaz	+	-	-	d	+	-	-	-	-	-
Kümelenme faktörü	+	-	-	-	d	(+)	-	+	-	-
PYR	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	(d)	-	-	-	+	-	-	-	-
Üreaz	d	+	-	d	+	d	+	-	+	+
Beta galaktozidaz	-	-	-	-	+	-	+	(+)	-	-
Novobiyosin direnci	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+

Tablo 2.1: (devam): Laboratuvarıda sık izole edilen stafilokokların genel özellikleri (41, 23, 42, 43).

	<i>S. aureus subsp. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	* <i>S. hyicus</i>	* <i>S. intermedius</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. saprophyticus subsp. saprophyticus</i>	<i>S. schleiferi subsp. schleiferi</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. hominis subsp. novobiosepticus</i>
Mannitol	+	-	d	-	(d)	-	d	-	d	-
Mannoz	+	(+)	-	+	+	+	-	+	-	-
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltoz	+	+	+	-	(+/-)/ (d)	-/+	+	-	(+)	-/+
Sükroz	+	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: suşların %90 ve daha fazlası pozitif reaksiyon; -: suşların %90 ve daha fazlası negatif reaksiyon ; *: Hayvan kökenli türler

d: suşların %11-89'u pozitif reaksiyon ; (): gecikmiş reaksiyon; PYR: Pyrrolidonyl arylamidase aktivitesi.

Vankomisine karşı orta düzeyde direnç gösterebildiği durumlar zaman zaman yükselişe geçiyor olsa da vankomisine yüksek düzeyde dirençli *S. epidermidis* suşlarının yayıldığı bildirilmemiştir (50, 51).

Staphylococcus haemolyticus

Staphylococcus haemolyticus KNS grubunun bir üyesidir. Deri mikrobiyotasında bulunmasına rağmen kalp kapakçık infeksiyonu, endokardit, protez ve eklem infeksiyonu, menenjit, deri, yumuşak doku infeksiyonu ve kateter ile alakalı kan dolaşım infeksiyonlarına neden olabilecek potansiyele sahiptir (52-55).

Günümüzde klinik örneklerde KNS türleri arasında *S. epidermidis*'ten sonra ikinci sırada rastlana *Staphylococcus haemolyticus*'tur. Konakçı makrofajlarda apoptozu indüklemeye yeteneğine sahiptir. Bunun yanısıra esas olarak KNS'lerin virülansı, biyotik veya abiyotik yüzey kolonizasyonu ve biyofilm oluşturabilmesine atfedilir (56). Biyofilm içinde büyüme modu, bakterileri konak immün sistemi ve antibiyotiklerden korur böylece biyofilm ile ilişkili infeksiyonlar kalıcı olur ve ayrıca antibiyotik tedavisi ile eradikasyonu oldukça zorlaşır (57,58). *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* 'in antibiyotiklere karşı hızla direnç kazanma eğiliminde oldukları bildirilmektedir ve değişen oranda beta-laktam antibiyotiklere, eritromisin ve tetrasikline direnç göstermektedirler (59).

Staphylococcus saprophyticus

S. saprophyticus, idrar yolu infeksiyonuna neden olan patojenlerin önde gelenlerindedir ve *Escherichia coli* den sonra en önemli ikinci idrar yolu patojeni olarak kabul edilir (60). *S. saprophyticus*'un neden olduğu idrar yolu infeksiyonu olgularında hastalar çoğunlukla kadınlardır. Kadınlara kolonize olma yaygınlığı, son günlerde geçirilen idrar yolu infeksiyonu, adet dönemi ve kandida infeksiyonu gibi durumlar ile bağdaştırılmaktadır. *S. saprophyticus*'un idrar yollarına kolonizasyonunu ve infeksiyonunu kolaylaştıran önemli faktörler; biyofilim oluşturabilmesi, yüzey bağlama proteinleri ve ureaz enzimi üretebilmesine bağlıdır (61,62). Diğer birçok KNS'den farklı olarak *S. saprophyticus*, Gram pozitif organizmalara karşı kullanılan çoğu antibiyotiğe nadiren direnç gösterir (63).

Staphylococcus lugdunensis

S. lugdunensis, ilk kez 1988'de tanımlandı ve önemli bir insan patojeni olarak kabul edilmektedir (64, 65). *S. lugdunensis* derinin normal flora üyesidir ve genellikle pelvis, kasık

ve koltuk altı bölgelerinde bulunur (66). Bu bakterinin hücre duvarına bağlı koagülaz (clumping faktörü) üretebiliyor olması *Staphylococcus aureus* ile benzer özellik paylaşmasına sebep olur ancak *S. aureus*'tan farklı olarak serbest koagülaz enzimi üretmez. Laboratuvarda lam'da koagülaz testi sonucu pozitif verebilir ancak tüpte koagülaz testi sonucu negatif çıkar; bu nedenle, uygun testler yapılmadığı takdirde bazen yanlışlıkla *S. aureus* olarak tanımlanır (67, 68). Diğer KNS'lerden farklı olarak *S. aureus*'a çok benzeyen bu tür, eklem ve kemik infeksiyonu, enfektif endokardit ve sepsis gibi ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir (69,70). *S. lugdunensis*, son derece akut ve yıkıcı enfektif endokardite neden olabilmektedir, bu durum diğer KNS'lere nazaran daha fazla ölüm oranına sahip olmasına yol açmaktadır (70). *S. lugdunensis* birbirinden farklı çeşitli insan matris proteinlerine bağlanabilir ve lipaz, esteraz, yağ asitlerini modife edici enzimler (FAME) ve biyofilm üretebildiği bildirilmiştir (71). *S. lugdunensis* diğer KNS türlerin aksine genellikle antibiyotiklere karşı duyarlılık göstermektedir (72, 73).

Staphylococcus schleiferi

Staphylococcus schleiferi ilk olarak 1988 yılında Freney ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır ve kalıcı veya geçici insan koltuk altı deri florasının bir üyesi olarak kabul edilmiştir (74, 75). *S. schleiferi*'nin, *S. schleiferi subsp coagulans* ve *S. schleiferi subsp schleiferi* olarak bilinen iki farklı alt türü vardır. İki alt tür birbirinden tüpte koagülaz ve üreaz aktivitesi ile ayırt edilebilmektedirler. *S. schleiferi subsp schleiferi* tüpte koagülaz ve üreaz negatifken, *S. schleiferi subsp coagulans* tüpte koagülaz ve üreaz pozitifdir (76). *S. schleiferi*, kalp pili infeksiyonu, endokardit, ekstradural apseler ve menenjit gibi çeşitli insan infeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (76,77). Rutin laboratuvar testlerinde *S. schleiferi*'nin, *S. aureus* olarak hatalı tanımlanması nedeniyle, *S. schleiferi* infeksiyonlarının gerçek sıklığı eksik bildirilmektedir. Her iki suş da beta hemoliz aktivitesini sergiler ve kanlı agarda morfolojik olarak benzerdir. Ayrıca, *S. schleiferi subsp. schleiferi*, *S. aureus* gibi, hem hücre duvarına bağlı koagülaz (clumping faktörü) hem de termonükleaz, DNaz üretir (78). İki tür arasındaki biyokimyasal özellik farklılıkları belirteç olarak kullanılıp birbirinden ayırt edilebilirler. *S. schleiferi*'nin *S. aureus*'tan farklı olarak maltoz, laktoz, manitol, sükrozu sınırlı fermente eder (76).

Staphylococcus hominis

Staphylococcus hominis, KNS'ler arasında hastanede yatan hastaların kanından elde edilebilen en sık tanımlanmış üç izolattan biridir. Bu bakteri potansiyel olarak fırsatçı patojen olarak kabul edilir ve kan dolaşımı infeksiyonlarına, endokardit, peritonit, osteomyelit, kemik ve eklem infeksiyonlarına neden olabilmektedir (79). Antibiyotiklere karşı dirençli suşların artışı, *S. hominis*'in neden olduğu infeksiyonların tedavisinde ciddi bir sorun oluşturmaktadır (80).

Staphylococcus warneri

Staphylococcus warneri, yenidoğanlarda bakteriyemi, endokardit, vertebral osteomyelit, şant ilişkili menenjit, diskrit, subdural ampiyem, idrar yolu infeksiyonları ve sepsis gibi ciddi infeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (81). Bu infeksiyonlar ağırlıklı olarak bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve kalıcı tıbbi cihazları olanlarda görülür (82). Stafilokokların epitel hücrelerine veya yapay bir yüzeye bağlanması, kolonizasyonun ve ardından biyofilm oluşumunun ilk adımı olarak kabul edilir. Bakterilerin biyofilm büyüme modundayken tedavi edilmesi, bakterilerin hem antimikrobiallere hem de konak savunmasına karşı direnci nedeniyle zordur. Bu nedenle biyofilme üreyen bakteriler akut ve kronik infeksiyonlara neden olur (83). Rifampisin, stafilokok biyofilmine verimli bir şekilde nüfuz etme, yüksek bir konsantrasyon elde etme ve ayrıca mükemmel bir bakterisidal etki gösterme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Rifampisin monoterapisi hızlı bir şekilde rifampisin direnci ile sonuçlanmakta ve bu nedenle rifampisin ile en az bir aktif antimikrobiyal ajanın daha birlikte kullanılması önerilmektedir. (84).

Staphylococcus saccharolyticus

S. saccharolyticus fazla tanımlanmamış, kısıtlı sayıdaki araştırmalara konu olan anaerobik bir KNS türüdür. Anaerobik endokardit, kemik, eklem infeksiyonu ve bakteriyemiye neden olduğu bildirilmiştir (85, 86).

Staphylococcus caprae

S. caprae, ilk olarak 1983 yılında keçi sütünden izole edilmiştir ve keçilerin deri ve meme bezlerinde kolonize olduğu bilinmektedir (87,88). Daha sonraki dönemlerde araştırmacılar, *S. caprae*'yi insan örneklerinden izole etmişler ve bu bakterinin sağlıklı insan derisi, tırnakları ve burun mukozasında komensal olarak kolonize olduğunu göstermişlerdir.

(87). *S. caprae*, akut otitis media, akut otitis eksterna, mastoidit, endokardit, idrar yolu infeksiyonu, bakteriyemi, tekrarlayan sepsis, menenjit, peritonit, pnömoni ve en sık olarak kemik ve eklem infeksiyonlarından izole edilmiştir (87-96). *S. caprae*'nin kemik ve eklem infeksiyonlarında tanımlayan raporların çoğu, infeksiyon kaynağı olarak implante ortopedik cihazları göstermektedir (87-89, 94-96).

S. caprae'nin patojenitesinde yer alan ve iyi bilinen virülans faktörleri arasında: 1. İnsan dokularına bağlanma özelliğine sahip *altC* geni tarafından kodlanan otolizin veya fibronektin bağlayıcı proteinlerin üretimi; ve 2: *ica* operon varlığına bağlı olarak, kemik ve/veya ortopedik osteosentez cihazlarında, kateter hattında veya intraspinal cihazda bir biyofilm oluşturabilme özelliğine sahip olması ve dolayısı ile bağışıklık sistemi ve antibiyotiklere karşı bakteriye koruma sağlamasıdır (97, 98, 99).

Staphylococcus pasteurii

Staphylococcus pasteurii, adını Fransız mikrobiyolog Louis Pasteur'den alan gram pozitif, koagülaz negatif, hareketsiz, sarı görünümlü bir bakteridir. Bu tür, Louis Pasteur'un adını taşıyan "The Institut Pasteur" enstitüsünde karakterize edilmiştir (100). *S. pasteurii* yaygın olarak bir deri flora üyesi değildir ve daha çok içme suyunda ve keçi sütü, İtalyan sosisleri, deniz balıkları ve perakende sığır eti gibi bir dizi gıdanın yanı sıra kapalı havadaki bakterilerden, kuş gözü sıvısından izole edilmiştir (100-106). *Staphylococcus pasteurii* nadir görülen bir insan patojenidir (107,108). Ramnarain ve ark (107) *Staphylococcus pasteurii*'ye bağlı osteomyelit ve endokardit infeksiyonu geçiren bir olgu tanımlamışlardır. Araştırmacılar, kütle spektrometresi kullanarak kan kültürlerinden tüm antibiyotiklere duyarlı *S. pasteurii* izole etmişlerdir.

Staphylococcus xylosus

Staphylococcus xylosus kommensal bir bakteridir ve genellikle kuşlar, memelilerin deri ve mukoza zarlarında bulunur (109,110). Biyofilm oluşturma yeteneğine ek olarak, *S. xylosus*'un her yerde bulunması, farklı ortamlara uyum sağlama yeteneği ile açıklanabilir (111). *S. xylosus* çiğ et ve sütte doğal olarak bulunur ve bunların fermentasyonu için yaygın olarak başlangıç kültürü olarak kullanılır (112,113). Bu tür, genelde patojenik olmayan bir stafilokok olarak tanımlanır, ancak birkaç *S. xylosus* suşu, hayvan ve insanda fırsatçı infeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (114,115).

Staphylococcus capitis

Staphylococcus capitis ilk olarak 1975'te insan derisinden izole edilmiştir ve KNS türü olarak sınıflandırılmıştır (116). *S. capitis* birbirinden kolaylıkla ayırt edilebilen iki alt türe sahiptir, birisi ureaz üretebilen (ssp. *ureolyticus*), diğeri ise üretmeyen (ssp. *capitis*) (117). *S. capitis*'in idrar yolu infeksiyonu, kateter ile ilişkili bakteriyemi, endokardit ve yeni doğan bebeklerde nekrotizan enterokolite neden olduğu bildirilmiştir (60). *S. capitis* yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde ciddi sorun oluşturan ve yenidoğan sepsis olgularının yaklaşık %20'sinden sorumlu olan bir bakteridir (118). Buna ilaveten *S. capitis*'in neden olduğu infeksiyonların tedavisinde, son çare olarak kullanılan vankomisin ve linezolid gibi antibiyotiklere karşı duyarlılığının azalmış olması *S. capitis* infeksiyonlarının tedavisini zorlaştırmaktadır (118). Bakterinin lipaz ve yağ asitlere modife edici enzimlerin (FAME) üretebildiği bildirmiştir (71).

Staphylococcus cohnii

Staphylococcus cohnii, 1975 yılında Schleifer ve Kloos tarafından tanımlanmış ve adını Alman botanikçi ve bakteriyolog Ferdinand Cohn'dan almıştır (119). *S. cohnii*, fenotipik özelliklerine göre tanımlanan iki alt türden oluşur: *Staphylococcus cohnii subsp. cohnii* ve *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* (120). *S. cohnii* ssp. *cohnii* sadece insanlarda kolonize olabiliyorken, ssp. *urealyticum* ayrıca diğeri primatlarda da bulunabilmektedir.

S. cohnii, vitronektin, laminin, fibronektin ve kollajen gibi ekstrasülüler matris proteinlerine bağlanabilir. Lipaz ve yağ asitleri modife edici enzim (FAME) aktivitesi gösterdiği de bildirilmiş (71). *S. cohnii*'nin, beyin apsesi, pnömoni, akut kolesistit, endokardit, bakteriyemi, idrar yolu infeksiyonu ve septik artrite neden olabildiği belirtilmektedir (121).

Staphylococcus simulans

S. simulans, kalp kapakçığı infeksiyonları, endokardit, idrar yolu infeksiyonu, sepsisemi, yara, kemik ve eklem infeksiyonları gibi çeşitli hayvan ve insan infeksiyonlarına yol açabilen bir bakteridir. Lipaz ve yağ asitlerini modife edici enzimler ürettiği tespit edilmiştir (71).

Staphylococcus auricularis

Staphylococcus auricularis, ilk defa insanda dış kulaktan izole edilmiştir ve zayıf bir şekilde hemolitikdir (122). Yaygın olarak insan derisinde bulunduğundan, çok nadir de olsa fırsatçı infeksiyonlara veya sepsise neden olabilmektedir (123).

2.3. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Koagülaz Negatif Stafilocoklar (KNS) koagülaz enzimi üretmediğinden bunların virülens faktörleri ile koagülaz pozitif olanlara göre daha az ilgilenilmiştir. Bununla beraber sürekli yeni türler ve alt türlerin bulunması KNS'lerin değişen düzeyde çeşitli virülans faktörlerine sahip olan heterojen bir grup olduğunu ortaya çıkarmıştır (124). KNS'lerin canlı ya da cansız yüzeylere kolonizasyonu ve biyofilm oluşturma özellikleri en önemli virülans faktörleri kabul edilir (4). Ayrıca antibiyotiklere karşı direnç oluşturmaları da virülanslarını arttıran bir başka yönleridir.

2.3.1. Biyofilm

Doğada, sanayi ve hastane ortamında bakteriler ağırlıklı olarak biyofilm içinde büyüyüp yaşarlar. Biyofilm, canlı veya cansız yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlı, kendilerine özgü bir yapı içinde fizyolojik özelliklere ve gen ekspresyonuna sahip bir yığın şeklinde birbirine yapışık halde bulunan mikroorganizmaların oluşturduğu çok hücreli bir topluluktur. Planktonik büyümeden farklı olarak biyofilm içerisinde eksprese olan genler, değişen metabolizmaya uyum sağlamada ihtiyaç duyulan genlerdir. Bu genlerden bazıları biyofilm yapısının oluşumu ile direkt olarak ilişkili olan ve polisakkarit gibi, bağlayıcı yüzey proteinleri gibi hücre dışı makromolekülleri kodlayan genlerdir. Biyofilm yapısı içerisinde yaşayan bakteriler; antibiyotiklere karşı artan düzeyde direnç gösterme, bağışıklık sistemi hücrelerinin saldırılarına karşı korunaklı halde olma gibi avantajlara sahiptir (125). Bu nedenle biyofilm oluşumu, KNS'lerin konak dokulara ve vücutta bulunan tıbbi cihazlara kolonize olmalarına büyük bir katkı sağlar.

Biyofilm yapısı içerisinde bulunan hücrelerin kendi aralarındaki etkileşimleri neticesinde genomlarında değişiklikler meydana gelmektedir çünkü biyofilmler bakteriler arasında gen değişimleri için ideal bir ortam oluşturur. Direnç geni taşıyan plazmitlerin hücreler arasında aktarılması sayesinde direnç geni kazanan hücreler antimikrobiyal ajanlara

karşı direnç geliştirmektedir (126). Böylece biyofilmde bulunan mikroorganizmalar, serbest yaşayan planktonik hücrelere göre 200-500 kat daha dirençlidir (127).

2.3.2. Koagülaz Negatif Stafilokoklar ve Slime Faktörü

Vücudun doğal bariyeri olan deri ve mukozanın mikroflora üyelerinden birisi de koagülaz negatif stafilokoklardır. Stafilokoklar polimer gibi cansız yüzeylere tutunup kolonize olabildiğinden cansız yüzeylere bağlı infeksiyonların gelişmesine yol açmaktadırlar. Christensen tarafından ilk kez 1982'de *Staphylococcus epidermidis* türün ürettiği slime faktörünün %40 karbonhidrat ve %27 protein içeren glikokaliks yapısında, ekstraselüler bir madde olduğu tanımlanmıştır. Bu yapı stafilokokların konak doku hücrelerine veya cansız yüzeylere bağlanmasından sorumludur. KNS'lerin biyomateryaller üzerinde oluşturduğu biyofilmler septisemi gibi ciddi infeksiyonlara kaynak oluşturlar. KNS'lerin en önemli virülans özelliği hem cansız hem canlı yüzeylere biyofilm oluşturabilme özelliğidir (128, 129).

Koagülaz Negatif Stafilokokların biyofilm üretebilme gücü başlıca virülans faktörleri olarak kabul edilmektedir ve son yıllarda biyofilm oluşumunu açıklayan mekanizmalar özel bir ilgi odağı olmuştur. KNS'lerin biyofilm oluşturması üç safhada gelişen karmaşık ve çok aşamalı bir süreçtir: İlk safha KNS'lerin canlı veya cansız bir yüzeye tutunma ve bağlanması, ikinci safha karmaşık çok hücreli bir yapıya dönüşerek olgunlaşması ve üçüncü safha biyofilm hücrelerinin yakın çevreye dağılmasıdır (130). Hücre yüzey adezyonlarının hem konak proteinlerine ve dokularına bağlanmada, hem de biyofilm yapısının olgunlaşmasında önemli rolü vardır. Bakteride hücre duvarına kovalent bağlar ile bağlı proteinler, “microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules” (MSCRAMMs) ve “accumulation associated protein” (Aap) adı verilen hücre yüzey adezyonları, konak doku hücre ligandlarına istikrarlı, sıkı bağlantıların oluşmasını sağlar ayrıca bu proteinler kalıcı tıbbi cihazlar içerisinde sık sık meydana gelen akışkan kesme kuvvetler altında adezin-ligand kompleksi bağlantılarının oluşmasına da neden olurlar (131). Hücre duvarına kovalent bağ ile bağlı olmayan adezyon proteinleri arasında, “autolysin/adhesins AtlE” adı verilen öncelikli görevleri hücre duvar döngüsü, hücre bölünmesi ve parçalanması olan proteinler bulunur. Ancak, AtlE proteinin aracı olduğu hücre parçalanması sonucu dışarıya salınan DNA'nın (hücre dışı DNA, eDNA) çevrede bulunan hücrelerin polistiren yüzeylere bağlanmasını desteklediği gösterilmiştir (132). Protein yapıda olmayan hücre yüzey adezyon grubu teikoik asit (TAs) ve “polysaccharide intercellular adhesin” (PIA) adı verilen polisakkarit moleküller

de hücre yüzey adezyonunda görev alır (133-136). Biyofilm oluşumu aşamalı bir süreçtir. Bu süreçler aşağıda kısaca özetlenmiştir.

İlk Bağlanma: Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS)'lar abiyotik (polistiren, cam ve demir vb.) veya biyotik (canlı doku ve protein ile kaplı cansız yüzey vb.) yüzeyler gibi birbirinden farklı yüzeylere bağlanma gücüne sahiptir. Abiyotik yüzeylere bağlanma sıklıkla gıda işleme endüstrisi ile ilişkilendirilirken biyotik yüzeylere bağlanma klinik ve hastane ortamları ile ilişkilidir. (137, 138).

Abiyotik Yüzeylere Bağlanma: Cansız yüzeylere bağlanmada öncelikle hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler gibi fizikokimyasal güçler aracılık eder (139, 140). Ayrıca bazı spesifik bakteriyel yüzey molekülleri bu süreci geliştirirler. Abiyotik yüzeylere ilk bağlanma sürecine “autolysin/adhesins AtlE” ve “accumulation associated protein” (Aap) adı verilen adezyon proteinleri katılırlar (141, 142). Protein yapıda olmayan hücre yüzey molekülleri olarak da teikoik asit (TAs)'ler ilk bağlanmada önemli rol oynar. TAs hücre duvarında bolca bulunan ve birkaç önemli hücre fonksiyonuna katılan bir aniyonik glikopolimerdir (143, 144).

Biyotik Yüzeylere Bağlanma: Canlı doku veya yüzeyi konak proteinleri ile kaplı tıbbi cihazlar gibi biyotik yüzeylere bakteri bağlanması çeşitli etkileşimler tarafından kolaylaştırılır. Bağlanma, çoğunlukla konak hücre ya da hücre dışı matris proteinleri ile bakteri yüzey adezyonları arasında gerçekleşen spesifik ligand-reseptör etkileşimleri aracılığı ile oluşur. *S. aureus*, *S. epidermidis* ve diğer KNS türleri fibrinojen, fibronektin, vitronektin ve kollajen gibi insan matris proteinlerine bağlanabilen onlarca birbirinden farklı MSCRAMMs üretirler (145, 146).

Olgunlaşma: Yüzeylere bağlanmadan sonra, bakteri hücreleri bölünmeyi, kümeler oluşturma ve kendilerine özgü belirgin üç boyutlu yapıyı şekillendirmeye başlar. Bu muazzam güçlü yapıya devam edebilmeleri için hücrelerin sadece yüzeylere bağlanmaları yeterli değildir, hücrelerin birbiriyle de bağlanması gerekir. Bu nedenle biyofilm hücreleri kendi ürettikleri polisakkaritler, proteinler, lipitler, eDNA, RNA ve TAs gibi moleküller içerisinde gömülüdür (147, 148). Bu hücre dışı matris, biyofilmin fonksiyonel ve yapısal rolleri açısından esas teşkil eder çünkü mekanik kuvvetlere karşı dayanıklılık sağlar ve ayrıca biyofilm yaşam biçimi için gerekli olan özgün çevreyi meydana getirir (149, 150). Biyofilm iç katmanlarında yaşayan hücrelere yeterli besin maddelerinin ve fonksiyonel organizasyonun sağlanabilmesi için biyofilm yapısı içerisinde kanalların bulunması gerekir. Bunu yapabilmek için yıkıcı güçlerin

devreye girmesi gereklidir. Böylece biyofilm olgunlaşma sürecinde bağlayıcı ve yıkıcı kuvvetler arasında ince bir denge vardır (130).

S. epidermidis türlerinde hücreler arası bağlanma sürecinde görev alan en baskın adezyon molekülü “polysaccharide intercellular adhesin” (PIA) veya kimyasal yapısı nedeniyle de “poly-N-acetyl-beta-1-6–glucosamine” (PNAG) adı verilen moleküldür (151). PNAG oligomerleri interselüler adezyon (*ica*) adlı gen bölgesinden kodlanan enzimler tarafından sentezlenmektedir, bu gen bölgesi *icaA*, *icaD*, *icaB*, *icaC* ve *icaADBC* bölgesinin yukarısında yer alan ve bu genlerin regülasyonundan sorumlu *icaR* genlerden oluşmaktadır (152).

PNAG, biyofilm yapının oluşumunda kanıtlanmış temel görevinden dolayı uzun süre biyofilm üretimi için zorunlu olduğu düşünülmüştür. Yine de *ica* genleri taşımayan suşların daha az kuvvetli olsa da biyofilm yapısını oluşturabildiği de görülmüştür. (152, 154). Böylece biyofilm oluşumunu proteinler de destekleyebileceği veya tamamen aracılık edebileceği anlaşılmıştır (130,133, 134). Gerçekte *S. lugdunensis* biyofilmleri polisakkaritlerden ziyade proteinlerden oluşur (155, 154). *S. epidermidis* türlerinde biyofilm olgunlaşmasında proteinlerin rolü ile alakalı en çok incelenen protein Aap molekülüdür. Aap, N-asetil glukozamin molekülü ile etkileşime girerek protein-polisakkarit biyofilm ağı oluşturduğu bilinmektedir (156, 157).

Dağılma: Biyofilm daha fazla büyüdükçe hücre kümeleri biyofilm yapısını terk etmeye başlar. Bu safha, biyofilm yayılması, bakterin hayatta kalması ve hastalığın aktarılması gibi durumlar için önem arz etmektedir (158). Son günlerde, dağılma aşaması ilk uyarıcısına göre iki mekanizmaya bölünmüştür. Bu mekanizmalardan birincisi pasif dağılma olarak adlandırılır. Biyofilmden ayrılma süreci dış faktörler tarafından kontrol edilir. İkincisi ise dış sinyallere karşı yanıt olarak bakterilerin kendilerinin devreye soktuğu çeşitli süreçlerin entegrasyonu ile gerçekleşen aktif dağılmadır (159). Pasif dağılma, biyofilmdeki hücrelerin başka partiküller ile çarpışması, aşınması veya büyük sıvı akıntılarla karşılaşması sonucunda gerçekleşir ve hücreler biyofilmden kopmayı başlar (158-160). Biyofilmin dağılma sürecini uyaran ve biyofilm matris moleküllerini yıkma özelliğine sahip olan enzimler de bu kategori içerisinde değerlendirilir (158). En çok incelenen ve *S. epidermidis* biyofilmi dağıtma gücüne sahip olan enzim “Dispersin B” adı verilen enzimdir (161).

Hücreler arası bağlantıların dağıtılması, biyofilm yapısı içerisinde kanalcıkların oluşmasına neden olur. Böylece kanalcıklar aracılığı ile iç katmanlara besinin ulaşması ve atıkların

dışarıya atılmasını sağlar. Stafilokoklarda bu rolü proteaz, nukleaz ve “phenol-soluble modulin” (PSM) adı verilen proteinler üstlenir (162-165). PSMs proteinleri, kovalent olmayan bağları bozmak suretiyle biyofilm yapılanmasına katkı sağlayan güçlü yüzey aktif maddeye benzer özelliklere sahip amfilik moleküllerdir (138). Tahmin edilebileceği gibi PSMs proteineri üretildikleri seviyeye göre farklı sonuçlara neden olurlar, orta düzeyde bir üretim biyofilm şekillenmesine yol açarken yüksek miktarda üretildiğinde biyofilm dağılmasına sebebiyet vermektedir (164).

2.4. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA EKSOENZİMLER VE TOKSİNLER

Koagülaz Negatif Stafilokoklar, *S. aureus* gibi ağır septisemiye neden olabilecek virülans faktörleri üretmezler. Teikoik asit ve peptidoglikan, Gram negatif bakterilere özgü olan lipopolisakkaritten çok daha düşük inflamatuvar etkiye sahiptir. KNS’ler genellikle superantijenik aktiviteye sahip moleküller üretmez. Fakat doku yıkımı ve inflamatuvar tepkimelere neden olabilecek bazı virülans faktörlerine sahiptirler (166, 167).

S. epidermidis, *S. haemolyticus*, *S. hyicus*, *S. warneri* ve *S. xylosus* gibi bazı KNS türlerinin ürettiği lipaz enzimleri, insan veya memeli derisinden salgılanan yağ asitlerinin etkilerine karşı korur ve yaşamlarını sürdürebilmelerine katkıda bulunabilir (168). Son dönemde yapılan çalışmalarda KNS’lerin ürettiği proteaz enzimlerinin, fibrinojeni ve kompleman C5’i yıkabildiği bildirilmiştir. Bu durum bu bakterilerin vücut savunma sisteminden kaçabildiği izlenimini vermektedir. (169). İlk önce *S. aureus*’ta tanımlanan “Fatty-acid modifying enzyme (FAME)” adı verilen enzimin, *S. epidermidis* suşlarının %80 inde ve diğer KNS türlerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu enzimin deride bulunan bakterisidal etkiye sahip yağ asitlerini etkisizleştirerek bakterilere savunma görevi sağladığı belirtilmektedir. (170). “Phenol soluble modulin” (PSMs) adı verilen proteinler, biyofilm şekillendirme ve dağıtılması görevleri dışında sitokin salınımı ve makrofajların uyarılmasına neden olurlar. Ayrıca PSM’ler, insan nötrofillerinin degranülasyonuna, spontan apoptoza engel ve kemoatraktan olarak görev yaparlar (171).

2.5. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA EPİDEMİYOLOJİ VE BULAŞMA

Deri, dış çevre ile temasta olduğundan ve fiziksel bariyer görevi üstelendiğinden dolayı çok sayıda birbirinden fizyolojik açıdan farklı mikroorganizmalarla kolonize olur. KNS'ler insan ve hayvan derisinin devamlı olarak mikrobiyota üyesidir (172). Deri, insan vücudunun en büyük organı olarak algılanırken deri kalınlığı ve kıvrımlarındaki farklılıklar, kıl foliküllerinin yoğunlukları mikrobiyotalar için farklı yaşam alanları belirler. Bu KNS'ler için de geçerlidir. *S. epidermidis* insanlarda en çok bulunan KNS türüdür. Bu bakteri özellikle nemin yoğun olduğu, koltuk altı, kasık, ön burun delikleri ve konjonktiva gibi vücut yüzeyinde kolonize olur (173). *S. hemolyticus* ve *S. hominis* tercihen koltuk altı ve kasık bölgelerinden izole edilir. *S. capitis*, ergenlik sonrasında yağ bezleri etrafında alın ve kafa dermisinde bulunabilir (174, 175).

Hastane ortamlarında çoklu antibiyotik direnci olan ve biyofilm üretme gücüne sahip olan KNS türlerinin yayılımını antibiyotik kullanımı ve tıbbi cihaz uygulaması gibi modern tıbbi yöntemler kolaylaştırmaktadır. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde ve hasta servis odalarında endemik klonal yayılım ve çoklu direnç KNS türlerinin prematüre yenidoğanlarda kolonizasyona ve hastalıklara neden olduğu belirlenmiştir (176).

2.6. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA PATOGENEZ

Koagülaz Negatif Stafilocok (KNS)'lerin infeksiyon hastalıklarına ve kolonizasyona neden olmalarını kolaylaştıran virülans faktörlerinden en önemlileri hücre yüzey adezyon molekülleri ve biyofilm oluşturabilme özellikleridir. İnfeksiyon ve/veya kolonizasyon oluşumunda ilk kritik olay, konak doku hücrelerine veya modern tıpta kullanılan tıbbi cihaz yüzeylerine tutunmalarıdır. Yabancı cisim ile ilişkili KNS infeksiyonlarının patogeneğinde en kritik faktör çok katmalı biyofilm oluşturma olduğunu kabul edilmektedir (177-179).

Abiyotik yüzeye veya konak doku hücreleri ve matris proteinlerine tutunmada aracılık etmek hem de bakteri hücreleri arasındaki etkileşimi sağlamak için stafilocoklar, protein veya protein yapısında olmayan çeşitli hücre yüzey adezyonları üretirler (180). Protein yapıda olan adezyonlar, “microbial surface components recognizing adhezive matrix molecules” MSCRAMMs) ve “accumulation associated protein” (Aap) adı verilen hücre yüzey adezyonlardır (181-184). Protein yapıda olmayan adezinler “hücreler arası adezyon” (PIA)

veya poly-N-asetil glukozamin (PNAG) olarak da tanınan polisakkarit molekülleri ve tiekoik asitleri (TAs) içermektedir. KNS'ler, cansız veya canlı yüzeylere tutunmayı ve büyüyüp hücreler arası bağlantılar ve etkileşimler kurmayı başarmaları sonucunda çeşitli kronik infeksiyonlara neden olurlar ve biyofilmden kopmaları aracılığıyla da bakteriyemi ya da septisemi gibi infeksiyonlara kaynak oluştururlar.

2.7. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN KLİNİK ÖNEMİ

Hasta popülasyonlarındaki köklü değişikliklerin, prematüre yeni doğanlardaki artışın, yaşlı, kronik hastalıklı ve bağışıklığı baskılanmış hastalardaki artışın ve ayrıca tıbbi cihaz kullanımındaki artışın çeşitli KNS infeksiyonlarına neden olduğu kabul edilmektedir. KNS türleri içerisinde en çok infeksiyona neden olan *S. epidermidis* türüdür, bunu sırasıyla *S. hominis*, *S. haemolyticus*, and *S. capitis* türleri takip etmektedir (185-187). Buna karşılık, global endokardit çalışmalarında *S. lugdunensis*'in en yaygın patojen olduğu bildirilmiştir. (188). KNS ile ilişkilendiren en önemli klinik durum tıbbi cihazlar ile ilişkili infeksiyonlardır.

Koagülaz negatif stafilocokların neden olduğu ciddi infeksiyonlar kısaca aşağıda özetlenmiştir.

Yabancı Cisimle İlişkili Kan Dolaşım İnfeksiyonları: Kalıcı veya geçici olarak implant edilmiş tıbbi cihazlar ile ilişkili kan dolaşım infeksiyonlarından çoğunlukla KNS izolatları sorumludur (189). Bu infeksiyonlar lokal veya sistemik olabilir. Kolonizasyonun başlangıç sürecinde tıbbi cihazlar ile ilişkili kan dolaşım infeksiyonlarının semptomları belirsiz veya hafif olabilir fakat KNS kalıcılığı devam ettiğinde metastatik yayılma, embolik komplikasyon ve septik tromboflebit gibi ciddi ağır komplikasyonlu sonuçlara yol açabilmektedir (190). Nozokomial menenjit veya ventrikülit vakalarında *S. epidermidis* kaydedilmiş infeksiyonların %73'ünden sorumludur ve bu izolatların üçte ikisinin oksasiline karşı dirençli olduğu bildirilmiştir.(191).

Yenidoğan İnfeksiyonları: Sağlıklı ve süresinde doğmuş bebeklerde KNS türleri oldukça düşük invaziv özelliğe sahipken prematüre yenidoğan bebeklerin invaziv KNS infeksiyonlarına yatkınlığı vardır. Bunun nedenleri de olgunlaşmamış bağışıklık sistemi, cilt ve mukoza bariyerinin zayıf olmasıdır. İnsan vücut yüzeyinde KNS'lerin kolonizasyonu ilk birkaç gün veya haftalarda başlar ve *S. epidermidis*, *S. warneri*, ve *S. haemolyticus* sırasıyla en sık kolonize olan türlerdir (192, 193). Hastane yatışı sırasında özellikle çoklu dirençli,

mecA-pozitif *S. haemolyticus* türleri daha fazla yaygınlık gösterir (193). Yoğum bakımında yatan yenidoğanlarda biyofilm oluşumu, kalıcı KNS bakteriyemisi için en önemli risk faktörüdür (194).

Nötropenik Hastalarda Bakteriyemi, Septisemi: Özellikle kemoterapiye bağlı nötropenik hastalarda, vakaların yaklaşık %20-%40'ında KNS'lerin *S. epidermidis* türleri ateşli septisemiye neden olan etken olarak sorumlu tutulmaktadır (195-198). 1.051 bakteriyemi olgusunun etiyojisini inceleyen çok merkezli bir çalışmada, 785 kanserli hastadan izole edilen patojenlerin %40'ından fazlasının KNS türleri olduğu belirlenmiştir (199). Nötropenik hematoloji hastaları arasında KNS nozokomiyal yayılma ile bulaşabilmekte ve onkoloji hasta servislerinde *S. epidermidis* klonları bulunabilmektedir. Bu hastalarda KNS bakterileri kan dolaşım infeksiyonunun yaygın etkeni olarak kabul edilmektedirler.

2.8. KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Koagülaz negatif stafilokokların önemi, esas olarak sahip oldukları çoklu antibiyotik direnci ve biyofilm üretebilme gücü gibi özelliklerinden dolayı yıllar içinde artmıştır (200, 201-205). Bu bakterilerde antibiyotik direncin artmasıyla ilgili birkaç mekanizma üzerinde tartışılmaktadır. Birincisi, biyofilm içindeki hücreleri çevreleyen matrisin kalınlığı ve kompozisyonu antibiyotiklerin içeriye girmesi ve difüzyonunu engelleyebileceği, ikinci mekanizma ise stafilokok biyofilm popülasyonunun mutasyona çok yatkın oluşu ve bunun da antibiyotiklere karşı direncin yükselmesine neden olabileceğidir (206, 207). Bu varsayımlar doğrultusunda birkaç antibiyotikten oluşan kokteylin tedavide kullanılması bugün önemli bir strateji olmuştur (200, 208-2012). Ancak, biyofilm hücreleri içerisinde KNS'lerin antibiyotik toleransının yüksek olması bu yöntemin başarısızlıkla sonuçlanmasına yol açabilmektedir. (11). Yıllar içinde KNS'lerin antibiyotiklere karşı direncinin artmasına, uygunsuz ve/veya yaygın antibiyotik kullanımı, evcil ve tarla hayvanlar için antibiyotik kullanımı, yeni antibiyotik icat oranının düşmesi, çevre koşullarındaki değişiklikler, bakterilerin antibiyotiklere karşı adaptasyon elde etmeleri gibi faktörler neden olmuştur. (213-220).

2.8.1. B-laktam Antibiyotiklere Direnç

KNS izolatlarını sıklıkla temsil eden *S. epidermidis* (221), *S. haemolyticus* (222) ve *S. sciuri* (223) gibi türlerin metisiline yüksek oranda direnç gösterdiği bilinmektedir (224, 225). Bu fenotip belli bir bölgeye spesifik bir durum olarak kabul edilmez çünkü farklı coğrafik

bölgelerden örneğin: Avrupa'dan Kuzey Amerika'da yapılan çalışmalar, kan dolaşım infeksiyonlarından izole edilen %60 ila %80 oranında KNS türlerinin metisiline direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. (226-229). Bu direncin ilk önce antibiyotiklerin *b*-laktam halkasını hidrolize eden penisilinaz enziminin etkisi sonucunda ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Günümüzde stafilokokların *b*-laktam antibiyotiklerin aktivitelerini etkisizleştirmeden sorumlu spesifik penisilin bağlayıcı protein (PBP2a) ürettiği ve bu dirençli fenotipteki suşlarda direncin, PBP2a proteinini kodlayan *mecA* genini içeren stafilokok kaset kromozomu (SCCmec) taşımalarına bağlı bir durum olduğu belirtilmektedir (230-232). Bugün hastane ortamından izole edilen KNS'lerin %90'ı penisilin türevli antibiyotiklere karşı artan dirence sahiptir (216, 222, 233).

2.8.2. Diğer Antibiyotiklere Direnç

Yıllar içerisinde MR-KNS infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan glikopeptid antibiyotiklere karşı direnç geliştiren KNS suşlarının sayısında artış olduğu görülmüştür. Örnek olarak, *S. epidermidis*'in farklı etki mekanizmasına sahip birbirinden farklı sekiz antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği ve nozokomiyal izolatlar içerisinde %80'inin metislin dışındaki antibiyotiklere de direnç gösterdiği tespit edilmiştir. (229, 234). Bununla beraber vankomisin, KNS izolatlarına karşı etkinliğini halen korumaktadır ve dirençli KNS infeksiyonlarında kullanılan antibiyotiklerin en üst listesinde yerini korumaktadır. Vakomisin veya teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotikler tek başına veya sefazolin, rifampisin ve fosfomisin gibi antibiyotikler ile kullanılabilir (201, 216, 234, 235). Son yıllarda, siprofloksasin, klindamisin, eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere karşı önemli ve endişe verici düzeyde direnci artışı bildirilmiştir. (236, 203, 213, 237, 9, 238-241). Linezolid daha yeni bir antibiyotik sınıfına aittir ve çoklu direnç gösteren stafilokok infeksiyonlarına karşı mücadelede ümit vaat edici olarak ortaya çıkmıştır. (242, 243).

Tablo 2.2: Stafilokoklarda görülen antibiyotiklere direnç mekanizmaları (244).

Antibiyotik	Direnç mekanizması	Direncin temeli
Penisilin	β -laktamaz ile inaktivasyon 2. PBP'de değişimler	Plazmit
Metisilin	PBP'lerde değişim PBP2a varlığı	Yeni bir DNA bölgesi eklenmesi
Tetrasiksin	1. Hücreden dışa atım pompa sistemi (efflux) ile uzaklaştırma 2. Ribozom modifikasyon	1. Plazmid 2. Yeni bir DNA bölgesi (lokus) kazanımı
Kloramfenikol	Enzimatik inaktivasyon	Plazmit
Gentamisin	Enzimatik inaktivasyon	Plazmit, transpozon
Eritromisin	Ribozomal rRNA'nın enzimatik değişimi sonucu ilacın bağlanamaması	Plazmit
Trimetoprim	Alternatif dihidrofolat redüktaz	Plazmit
Florokinolonlar	1. DNA giraz da değişme 2. Efflux sistemi	1.Gen mutasyonu 2. Mutasyon neticesinde pompa sistemi aktivasyonu

2.9. KLİNİK TANI VE LABORATUVAR TANISI

İnsan mikrobiyota üyesi olmasından dolayı, infeksiyon etkeninin KNS olduğunu teşhis etmek kafa karıştıran ve kolay olmayan bir durumdur çünkü klinik örnek alımı sırasında mikrobiyotadan kontaminasyon yoluyla bulaşmış olabilme olasılığı vardır. Bu nedenle KNS'lerin etken olarak tanımlanması zorlayıcı bir durumdur (234). Bu tür sorunların ortadan kaldırılması ve özellikle *S. epidermidis* için infeksiyon etkeni mi kolonizasyon mu sorusuna yanıt bulmak için ayırt edici kapasiteye sahip bir markerin bulunabilmesine yönelik yıllarca çalışmalar yapılmıştır. Ancak komensal olarak deri veya mukozada yaşamını sürdürdürebilmesini sağlayan faktörler ile infeksiyona yol açan KNS virülans faktörleri aynı olduğundan anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (138). Yapılan birkaç çalışmanın sonuçlarına bağlı olarak komensal suşların antibiyotiklere daha fazla duyarlı olduğu ve çoğu kez de “accumulation associated protein” (aap), “arginine catabolic mobile elements” (ACME) ve “format dehidrogenaz” (fdh) adı verilen genleri taşıdıkları gözlemlenmiştir (245, 246-248). Klinik izolatlar için ise patojen KNS türleri yüksek antibiyotik direnci, biyofilm ile ilişkili *icaABCD* genlerinin varlığı ve IS256 ve *SCCmec* elementleri taşımalarıyla ilişkilendirilmektedir (246-251).

Koagülaz negatif stafilokokların bazı biyokimyasal özellikleri basit testlerle ortaya çıkarılabilmektedir (Tablo 2.1). Katalaz pozitifliği, oksidaz negatifliği, nitratın nitrite indirgenmesi gibi testler ön tanıda kullanılan basit testlerdir. Bunların yanı sıra koagülaz

aktivitesi de laboratuvarında kolayca gösterilebilen bir özelliktir. KNS ön tanısında Gram boyamada gram pozitif küme yapmış kokların görülmesi, izolatin katalaz pozitif olması ve koagülaz negatif olması gerekmektedir. Tür tayini için hemoliz özelliği, novobiyosine duyarlılık, mannitol mannoz, maltoz ve sükroza etkisi, termonükleaz testleri de uygulanabilir.

Gelişen teknoloji ile günümüzde bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasında işlemlerin daha standart olmasını sağlayan, analitik hataları azaltan iş yükünü daha basite indirgeyen yarı otomatize ve otomatize sistemler kullanılmaktadır. APİ (BioMerieux), Vitek 2(BioMerieux), Phoenix sistem (Becton Dickinson) bunlara örnek teşkil etmektedir.

Moleküler yöntemlerin klinik bakteriyolojisinde hızla kullanıma geçmesi ile 16S rRNA geni, dizi analizi gibi yöntemler tür düzeyinde bakterilerin doğru tanımlanmasında sıklıkla tercih edilmektedir (252). Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry (MALDI-TOF MS) günümüzde bakteri ve bazı mantarların tür düzeyinde tanımlanması için tercih edilen yeni bir yöntemdir ve pek çok laboratuvarında kullanıma girmiştir.

2.9.1. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF MS)

Bu yöntem, mikroorganizmalardaki biyomoleküllerin iyonize olduktan sonra manyetik alandan geçirilmesi neticesinde protein profillerinin görüntülenmesine dayanmaktadır. Bu profillerin grafik şeklinde görünümüleri, cihazın veri tabanındaki mikroorganizmalar ile olan uyumuna göre tür düzeyinde tanımlanır (253). Bu Kütle spektrometri yöntemi 1900'lerde keşfedildiği halde uzun süre çok sınırlı kullanılmıştır. 1970'li yıllarda mikrobiyoloji alanında kullanılmaya başlanmıştır.

MALDI, 1980'lerin sonunda soft iyonizasyon tekniklerinin geliştirilmesi sonucu proteinler için uygulanabilir duruma geldi. Bu teknikte protonların eklenmesi ya da çıkarılması ile peptit zincirleri iyonize olmaktadır. MALDI-MS cihazı ilk kez 1990'ların başında ticari kullanıma sunuldu (254). Günümüzde Vitek MS (BioMerieux, Etoile France) ve MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc, Fremont, CA) olarak satılan MALDI -TOF sistemleri bulunmaktadır. Bakteri izolatları için MALDITOF MS'in tür düzeyinde doğru tanımlama oranı %84,1 ile %95,2 arasında değişebilmektedir (255, 256).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Şubat 2022-Temmuz 2022 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Başhekimliği, Tıbbi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarına gönderilen kateter, cerahat, doku parçası örneklerinden infeksiyon etkeni olduğu öngörülen 100 adet KNS izolatu ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Klinik Araştırmalar Etik kurulunca 05 Mayıs 2022 tarihli, 374100 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

Çalışmada

1. Hastanın hekimi tarafından bakteriyolojik analiz için laboratuvara gönderilen kateter, cerahat ve doku örneklerinden standart mikrobiyolojik yöntemlerle üretilip izole edilen 100 adet KNS izolatu, araştırmamız kapsamındaki deneylerde kullanılmak üzere, %10 gliserinli brusella sıvı besiyerinde -80°C 'de saklandı.
Çalışmaya dahil edilen KNS'lerin seçiminde aşağıdaki özellikler dikkate alındı.
 - a. Hastanın kateter kültüründe üreyen KNS eş zamanlı olarak hastanın kan kültüründe de üredi ise izolat çalışmaya alındı.
 - b. Aynı hastaya ait birkaç gün ara ile gönderilen doku veya cerahat örneklerinde sürekli aynı antimikrobiyal direnç profiline sahip aynı KNS izolatu saf olarak üreyorsa bu izolat çalışmaya alındı.
2. ATCC 35984 *S. epidermidis* standart kökeni üretici firma önerileri doğrultusunda brusella sıvı besiyerinde çözdürüldü, duyarlılık deneylerinde ve biyofilm varlığının fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması sırasında kullanılmak üzere -80°C 'de saklandı.
3. Koagülaz negatif stafilokokların Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesinin (EUCAST) 2023 kriterleri doğrultusunda penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, siprofloksasin, rifampisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve linezolid antibiyotiklerine duyarlılıkları Mueller Hinton agar da Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi ile saptandı. Vankomisin ve teikoplanin duyarlılığının

belirlenmesinde bu antibiyotiklerin MİK'unu saptamak için E-test yöntemi kullanıldı. Metisilin duyarlılığı, sefoksitin diski kullanılarak araştırıldı, ayrıca geotipik olarak *mecA* geninin varlığı Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle tespit edildi. Sonuçlar EUCAST 2023 kriterleri doğrultusunda değerlendirildi.

4. Koagülaz Negatif Stafilokokların ön tanısı konvansiyonel yöntemlerle, tür tanısı ise Matriks-Destekli Lazer Desorpsiyon/Iyonizasyon Kütle Spektrometresi (MALDI TOF-MS) yöntemi ile yapıldı.
5. Koagülaz negatif stafilokokların biyofilm oluşturma özellikleri fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırıldı. Fenotipik yöntemle, Kongo Kırmızılı agara tek koloni ekimleri yapılarak araştırıldı. Genotipik yöntemle RT-PCR ile *icaA* ve *icaD* biyofilm genlerinin varlığı araştırıldı.
6. Ayrıca biyofilm oluşumuyla ilgili olan *ica* operonuna geri dönüşümlü olarak eklenmek suretiyle *ica* operonu ekspresyonunu ve sonrasında da biyofilm oluşumunu etkileme kapasitesine sahip olan mobil genetik eleman IS256 da spesifik primeri ile saptandı.
7. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. DeneYlerde Kullanılan Malzemeler

Eppendorf tüpleri (steril 2mLlik)

Petri kutuları (steril, 90 x17 mm)

Tek kullanımlık öze (steril, 0.01mm çaplı)

Mikropipet (10-100 µL'lik, Corning marka)

Mikropipet (100-1000 µL'lik, Corning marka)

Filtreli pipet uçları (100,250 ve 1000 µL'lik Kırgen marka)

PZR Tüpleri (steril, ince çeperli,2 mL (Nest marka)

MALDİ-TOF MS için matris solüsyonu (VITEK® MS CHCA)

MALDİ-TOF MS için Tek kullanımlık VITEK® MS slaytları

Primer: *icaA* (Sentromer DNA Teknolojileri)

Primer: *icaD* (Sentromer DNA Teknolojileri)

Primer: *mecA* (Sentromer DNA Teknolojileri)

Primer: IS256 (Sentromer DNA Teknolojileri)

S. epidermidis ATCC 12228

S. epidermidis ATCC 35984

S. aureus. ATCC 25923

Antibiyotik diskleri: Penisilin (10 µg), Eritromisin (15µg), Klindamisin (2µg), Linezolid (10µg) Tetrasiklin (30µg), Siprofloksasin (5µg), Rifampisin (5 µg), Trimetoprim-Sulfametoksazol (1,25-23,75µg). Sefoksitin (30 µg) antibiyotik diskleri (Bioanalyse) Vankomisin ve Teicoplanin E-test (Gradient test)

Gram boyama seti; Jansiyen moru (Riedel-De-Haën), Lugol (Riedel-De-Haën), Etil alkol (%96), Sulu fuksin (Riedel-De-Haën).

3.1.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı (Arçelik 5272 NH)

Derin dondurucusu (LG-B502GVTW)

İnkübatör (Memmert)

Otoklav (Hiryama HA-300M IV)

McFarland otomatik ölçüm cihazı (VITEK® DensiCHEK)

MALDİ TOF (VITEK® MS- BioMérieux)

PTC-200 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Inc., MA, USA).

Applied Biosystems™ SimpliAmp™ Plus Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific)

Thermal Cycler (Labcycler, SensoQuest GmbH)

UV - translüminatör (Model Tuv 20 Owl Scientific, A.B.D)

3.1.3. Deneyleerde Kullanılan Besiyerleri, Stok Solüsyonlar ve Ayıraçlar

Koyun Kanlı Agar

Defibrine koyun kanı.....50 ml

Agar (jeloz) besiyeri.....40 g

Distile Su.....1lt

40 gr toz besiyeri (Oxoid) 1 lt distile su içerisinde eritildi. Otoklavlama işlemi 121°C’de 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. pH’sı 7,2 – 7,4’e ayarlandı. 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanı ilave edilerek iyice karışması sağlandı. Sonrasında

petri kutularına 4 mm kalınlıkta olacak şekilde dağıtılarak donduruldu. Bu besiyeri bakterilerin hemoliz özelliklerine göre ayrıştırılması amacıyla kullanıldı (257).

Çikolatamsı Agar

Agar (jeloz) besiyeri.....	40 g
Defibrine koyun kanı.....	50 ml
Distile Su.....	1000ml

40 gr toz besiyeri (Oxoid) 1 lt distile su içerisinde erimesi sağlandı. Otoklavlama işlemi 121°C'de 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. pH'sı 7,2 – 7,4'e ayarlandı. 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanı ilave edilerek iyice karışması sağlandı. 2 dk boyunca kaynayan suda tutuldu. Tekrar 45°C'ye gelinceye kadar soğutuldu ve iyice karışması sağlandıktan sonra 4 mm kalınlıkta olacak şekilde petri kutularına dağıtıldı. Bu besiyeri genel üretim amaçlı kullanıldı (257).

DNaz Besiyeri

Deoksiribonukleik asit.....	2 gr
Triptoz.....	20 gr
Agar.....	15 gr
Sodyum klorür.....	5 gr
Distile su.....	1lt

Üretici firmadan(Himedia) temin edilen 500 gr'lık kutu üzerindeki prosedüre göre 42 g toz besiyeri 1 lt distile su içerisinde eritildi. Otoklavlama işlemi 121°C'de 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. 45°C'ye kadar soğutulan besiyeri karışımı 4 mm kalınlıkta olacak şekilde petri kutularına dağıtılarak donduruldu. Bu besiyeri bakterinin DNaz aktivitesini göstermek için kullanıldı (257).

Gliserollü Brusella Sıvı Besiyeri

Brusella Sıvı Besiyeri.....	28 g
Distile Su.....	900 ml
Gliserin.....	100 ml

Brusella sıvı besiyeri üretici firmadan (Acumedia) temin edilen 500 gr'lık kutu üzerindeki prosedüre göre 28 g toz besiyeri 900 ml distile suda eritildi, 100 ml gliserin eklenerek elde edilen karışıma 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlama işlemi yapıldı. 45°C'ye kadar soğutulan karışım steril ependorf tüplerine aktarıldı. Bu besiyeri aerop bakterileri -20°C'de saklamak amacıyla kullanıldı.

Mueller Hinton Agar

Nişasta.....1,5 g

Kazein hidrolizatı.....17 g

Agar.....17g

Sığır et suyu (B-21).....300 ml

Distile su.....1lt

Üretici firmadan (Oxoid) temin edilen 500 gr'lık kutu üzerindeki prosedüre göre 38 g toz besiyeri 1 lt distile su içerisinde eritildi. Elde edilen karışıma otoklavlama işlemi 121°C'de 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. pH'sı 7,4'e ayarlandı. 45°C'ye kadar soğutulan karışım 4 mm kalınlıkta olacak şekilde petri kutularına dağıtılarak donduruldu. Bu besiyeri antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kullanıldı.

Kongo Kırmızılı Agar

Kongo kırmızısı solüsyonu.....100 ml

Sükroz solüsyonu.....100ml

Brain Heart Infusion Agar(BHIA).....37 g

Distile su.....800 ml

Üretici firmadan (Merck) temin edilen 500 g'lık kutu üzerindeki prosedüre göre 37 g toz besiyeri 800 ml distile su içerisinde eritildi. Karışıma 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavlama işlemi yapıldı. Otoklav cihazından çıkarıldıktan sonra besiyeri karışımı ve kongo kırmızısı solüsyonu karıştırıldı. Besiyeri ve boya karışımı yeterince soğuduktan sonra (55 °C) sükroz bu karışıma ilave edildi. pH'sı 7,2'ye ayarlandı. Besiyeri karışımı 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra 4 mm kalınlıkta olacak şekilde petri kutularına dökülerek donduruldu. Bu besiyeri bakterilerin biyofilm oluşturma özelliğini saptamak için kullanıldı (258).

3.1.3.1. Stok Solüsyonlar

Kongo Kırmızısı solüsyonu

Kongo kırmızısı.....0,8 g

Distile su.....100 ml

Kongo kırmızısı boyası (Mediko Kimya) 100 ml distile su içerisinde çözündürüldü. Elde edilen karışıma 121 °C’de 15 dakika boyunca otoklavlama işlemi yapıldı (258).

Sükroz solüsyonu

Sükroz.....50 g

Distile su.....100 ml

Sükroz 100 ml distile suda çözündürüldü. 0,22 µm por çaplı filtreden süzülerek steril edildi (258).

3.1.3.2. Ayıraçlar

Katalaz Ayıracı

Bu ayıraç %3’lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) olarak stafilokokların ön tanısında kullanıldı (257).

DNaz Ayıracı

Bu ayıraç 1N HCl (hidroklorik asit) olarak Koagülaz Negatif Stafilokokların ön tanısında kullanıldı (259).

3.1.4. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

Hot Start Master Mix (2X) (NucleoGene): Bu set içerisinde Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, MgCl₂, dNTP (dATP, dCTP, dGTP ve dTTP), stabilizörler ve güçlendiriciler bulunmaktadır. PCR karışımı için 12.5µl hacmi hazırlanır.

Forward primer (10µM) : 2.5µl

Reverse primer (10µM) : 2.5µl

DNA : 5µl

Nuclease-Free Water : 2.5µl

2,5’ er µl düz ve ters primerlerden alınarak 2.5 µl DNaz/RNaz içermeyen Nuclease-Free Water ve 5µl DNA ilavesi ile 12.5µl Hot Start Master Mix hazırlandı. Kullanılıncaya kadar -20 de saklandı.

Genomik DNA ekstrasyon Kiti (NucleoGene)

Lysis Buffer : 17 ml , Binding Buffer : 17 ml, Wash Buffer I* ve II : 11 ml
Elution Buffer 5 ml, Proteinase K 2 şişe, Spin Columns 50 adet, Toplama tüpleri : 50
adet içermektedir

PCR İçin Kullanılan Primerler

Çalışmamızda *icaA* ve *icaD* genlerini araştırmak için kullanılan primerler Arciola CR ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan alınmıştır (260).

Tablo 3.1 : Çalışmada kullanılan primerler.

Gen	Yönü	Dizisi	Ürün boyutu
<i>icaA</i>	Düz	5-TCTCTTGCAGGAGCAATCAA-3	188 bp
	Ters	5-TCAGGCACTAACATCCAGCA-3	
<i>icaD</i>	Düz	5-ATGGTCAAGCCCAGACAGAG-3	198 bp
	Ters	5-CGTGTTTTCAACATTTAATGCAA-3	
<i>mecA</i>	Düz	5-TGGCTATCGTGTCACAATCG-3	307bp
	Ters	5-CTGGAACCTTGTTGAGCAGAG-3	
<i>IS256</i>	Düz	5-TGAAAAGCGAAGAGATTCAAAGC-3	762bp
	Ters	5-ATGTAGGTCCATAAGAACGGC-3	



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan primerlerin ambalaj görüntüsü

A: icaA primeri B: icaB primeri C: IS256 primeri D: MecA primeri

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Klinik Örnekler ve İzolatlar

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinin çeşitli kliniklerinde yatan hastalardan bakteriyolojik yönden incelemek üzere alınan ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bakteriyoloji birimine gönderilen kateter, cerahat ve doku örneklerinden izole edilen KNS izolatları ile çalışıldı.

3.2.2. Koagülaz Negatif Stafilokokların İzole Edilmesi ve Tür Tanımlanması

Cerahat örnekleri ve güvenlik kabini içinde steril bistüri ile küçük parçalara ayrılan doku örnekleri kanlı agar, çikolatamsı agar ve MacConkey ağara, tiyoglikolatlı sıvı besiyerine ekildi ve Gram preparasyonlar hazırlandı. Kateter örnekleri ise MAKİ yöntemi ile çikolatamsı agar üzerine kateteri yuvarlayarak ekildi. Besiyerleri 35-37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerin makroskopik ve mikroskopik özellikleri katalaz, koagülaz, beta hemoliz ve DNaz aktiviteleri araştırılıp KNS ön tanısı alanlar belirlendi. Bu izolatların tür tanısı için konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra Matris-Destekli Lazer Desorpsiyon/Iyonizasyon (MALDI TOF-MS) Kütle Spektrometresi tekniği kullanıldı.

Gram Boyama: Kanlı ve çikolatamsı besiyerlerinde üreyen kolonilerden alınarak bir damla tuzlu suyla lama yayılıp preparatlar hazırlandı ve kurumaya bırakıldı. Tespit işleminden sonra preparatlar Gram boyama yöntemi ile boyandı. Gram boyama yönteminde aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı.

1. Jansiyen moru boyası damlatılarak 2 dakika bekletildi. Sonrasında su ile yıkandı.
2. Lugol boyası damlatılarak 2 dakika bekletildi ve sonrasında su ile yıkandı.
3. Alkol ile renk giderme işlemi yapıldı ve sonrasında su ile yıkandı.
4. Sulu fuksin boyası damlatılıp 30 saniye beklendi ve sonrasında su ile yıkandı.

Boyama işlemi sonrası preparatların havada kuruması sağlandı. Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda 100'lük büyütme objektifte immersiyon yağı damlatılarak incelendi (261).

Katalaz Enziminin Belirlenmesi: Stafilokoklar gibi gram pozitif kok morfolojisinde olan *Micrococcaceae* ve *Streptococcaceae* familyasındaki türleri ayırt etmek için bu test uygulandı. Temiz bir lam üzerine bir damla %3 H₂O₂ damlatıldı, 18-24 saatlik

inkübasyondan sonra çikolatamsı besiyerinde üreyen saf kolonilerden steril plastik bir özeyle alındı ve lam üzerindeki H_2O_2 ile karıştırıldı. Katalaz enzimi H_2O_2 'i su ve oksijene ayrıştırdığı için ortamdaki oksijen çıkışı kabarcık oluşumu ile belirlendi ve bakterinin katalaz enzimine sahip olduğu anlaşıldı. Kabarcıkların oluşmaması katalaz negatif olarak değerlendirildi (262).

Dnaz Testi: Kültürlerde üreyen stafilocok olduğu belirlenen izolatların DNaz besiyerine çizgi şeklinde ekimi yapıldı. Besiyeri $37^\circ C$ 'de 18-24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası besiyerinin üzeri tamamen kaplanacak şekilde %1'lik HCl döküldü. *S. aureus* ATCC 25923 standart kökeni pozitif kontrol olarak kullanıldı. İzolatların üreme çizgisinin çevresinde saydamlaşma gözlenmesi izolatın DNaz (+) olduğunu gösterdi. Saydamlaşma gözlenmeyen izolatlar ise DNaz (-) kabul edildi (263).

Koagülaz Deneyi: Tüpte Koagülaz Deneyi: Bu deney ile besiyerinde üreyen stafilocokların oluşturdukları ve besiyerine saldıkları bağımsız koagülaz araştırıldı. Koagülaz enzimi plazmada bulunan Coagulase reacting factor (CRF) ile ilişki kurarak fibrinojeni pıhtılaştırmayı sağladı. Bir deney tüpü içerisine 1 ml fizyolojik tuzlu su konuldu ve stafilocoklarla yoğun bir süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan 0,5 ml alınarak, içinde 0,5 ml 1:5 oranında sulandırılmış sitratlı plazma bulunan tübe aktarıldı. $37^\circ C$ de beklettikten sonra 1. ve 4. saatlerde ekim yapılmış tüpler kontrol edildi. Pıhtı oluşmaması durumunda tüpler oda ısısında bir gece bekletildi. Pıhtının oluşması pozitif oluşmaması ise negatif sonuç olarak değerlendirildi (263). *S. aureus* ATCC 25923 standart kökeni pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Lamda Koagülaz Deneyi: Bu deney ile bağlı koagülaz, kümeleyici faktör (clamping factor) ortaya konuldu. Bakteri yüzeyindeki faktör plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırarak stafilocokların kümelenmesini sağladı. Temiz bir lamın bir ucuna 1 damla fizyolojik tuzlu su, diğer ucuna da bir damla plazma damlatıldı. Stafilocok olduğu belirlenen kökenlerden öze ile alındı ve bu iki damlaya karıştırılıp homojen süspansiyon haline getirildi. Çevirme hareketleri ile karıştırıldı. 1,0-3,0 saniye içinde stafilocoklarda gözle görülen kümelerin oluştuğu kökenler koagülaz pozitif, küme oluşturmayan kökenler ise koagülaz negatif olarak değerlendirildi (261) *S. aureus* ATCC 25923 standart kökeni pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Koagülaz Negatif Stafilocok Kökenlerinin MALDI-TOF ile tanımlanması: Koagülaz Negatif Stafilocok izolatlarına ait 18-24 saatlik kolonilerden alındı "hedef slayt" olarak adlandırılan tek kullanımlık VITEK[®] MS slaytları üzerindeki işaretli bölgelere yayıldı. 1'er μL matriks solüsyonu (VITEK[®] MS CHCA) örnekler üzerine eklendi ve havada 3,0-5,0

dakikada kurutmaya bırakıldı. Örnekler hazırlandıktan sonra slayt “MALDİ TOF (VITEK® MS- BioMérieux) cihazına yüklendi ve çalışma başlatıldı. Sonuçlar 1 saat sonra elde edildi. Bu cihazda lazer ışığına maruz kalan metal slayt üzerindeki bakteri ışınları emer ve peptitler iyonize hale dönüşerek vakum borusu içinde dedektöre doğru hareket ederler. Dedektör proteinlerin kütesine bağlı olarak varış hızlarını ölçüp, bakterinin bilgisini oluşturur. Bu bilgi veri tabanındaki bilgi ile karşılaştırılarak tür düzeyinde tanımlama yapılır.

3.2.3. Koagülaz Negatif Stafilocokların Saklanması

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına göndereilen kateter, cerahat ve doku örneklerinden üretilen ve KNS olduğu belirlenen kökenler kanlı agar'a ekilerek 35°C - 37°C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra saf olarak üreyen kökenler biyofilm üretiminin fenotipik ve genotipik araştırılmasına alınmaya kadar %10 gliserollü sıvı brusella besiyerine süspanse edilerek derin dondurucuda -20°C'de saklandı.

3.2.4. Koagülaz Negatif Stafilocokların ve Standart kökenlerin canlandırılması

Derin dondurucuda -20°C'de %10 gliserollü sıvı brusella besiyerinde saklanan KNS kökenleri ve kürsümüzde aynı şartlarda önceden muhafaza edilmiş olan *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *S. aureus* ATCC 25923 standart kökenleri derin dondurucudan çıkarıldı. Derhal tüpün içindeki süspanسیونun tamamen erimesi beklenmeden steril öze yardımı ile tüpün üst kısmından yavaşça kazıyarak bir öze dolusu alındı ve çikolatamsı ağara ekildi. Derin dondurucudan çıkarılan tüpler hızlıca tekrar derin dondurucuya yerleştirildi. Ekim yapılmış olan çikolata besi yerleri 35°C - 37°C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. Çalışmalar inkübasyondan sonra saf olarak üreyen izolatlarla gerçekleştirildi. Yeni satın alınmış olan *S. epidermidis* ATCC 35984 standar kökeni prospektüs bilgileri doğrultusunda canlandırıldı.

3.2.5. Koagülaz Negatif Stafilocoklarda Slime Üretiminin Saptanması

Koagülaz Negatif Stafilocok Kökenlerinde slime üretimi, Freeman ve ark. (258)'nin tanımladığı Kongo kırmızılı agar (KKA) yöntemiyle araştırıldı. Ayrıca suşlarda slime oluşumunda görev yaptığı düşünülen *icaA*, *icaD* genleri ve IS256 PCR yöntemi ile araştırıldı.

Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi: Üretilen her Koagülaz Negatif Stafilocok kökeninin, % 5 koyun kanlı agar besiyerindeki 24 saatlik kültüründen KKA besiyerine azaltma yöntemi ile ekildi. Eş zamanlı olarak ekimlerin yapıldığı KKA besiyerlerinden birer tanesine pozitif kontrol ve negatif kontrol standart kökenleri ekildi. 35°C'de 24 saat inkübasyon sonunda, pembemsi-kırmızı, parlak düz koloni yapan stafilocok kökenleri slime negatif, siyah,

pürüzlü, kuru koloni yapan stafilokok kökenleri slime pozitif olarak değerlendirildi (258, 263). Biyofilm oluşturan *S. epidermidis* ATCC 35984 standart kökeni pozitif kontrol, biyofilm oluşturmayan *S. epidermidis* ATCC 12228 standart kökeni negatif olarak kullanıldı.

3.2.6. Koagülaz Negatif Stafilokokların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Koagülaz negatif stafilokokların antibiyotiklere duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile saptandı. KNS izolatlarının çikolatamsı agar besiyerindeki 24 saatlik saf kültüründen alınarak %0,85 tuzlu su içinde 0,5 McFarland standardına uygun şekilde (10^8 kob/mL) süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan standart tek kullanımlık steril öze ile alınarak Mueller Hinton agar besiyerlerinin yüzeyine yayıldı. 15 dk bekledikten sonra besiyeri üzerine Penisilin (10 µg), Eritromisin (15µg), Klindamisin(2µg), Linezolid(10µg) Tetrasiklin(30µg), Siprofloksasin(5µg), Rifampisin(5µg), Trimetoprim-Sulfametoksazol(1,25-23,75µg), Sefoksitin (30µg) antibiyotik diskleri yerleştirildi. İnkübasyon için $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18 ± 2 saat kuralı uygulandı. İnkübasyondan sonra disklerin etrafında meydana gelen ürememe zonlarının çapı ölçüldü. Sonuçlar EUCAST 2023 dokümanına göre değerlendirildi (264).

Metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin (30µg) diski kullanıldı. EUCAST 2023 direnç sınır değerleri doğrultusunda *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis* dışındaki KNS izolatları için < 22 mm inhibisyon zon çapı dirençli, ≥ 22 mm inhibisyon zon çapı duyarlı kabul edildi. *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis* için < 27 mm inhibisyon zon çapı dirençli, ≥ 27 mm inhibisyon zon çapı duyarlı kabul edildi. Metisilin dirençli mecA pozitif *S. epidermidis* ATCC 35984 standart kökeni pozitif kontrol olarak, Metisilin duyarlı mecA negatif *S. epidermidis* ATCC 12228 standart kökeni negatif olarak kullanıldı (263, 264).

Koagülaz negatif stafilokokların vankomisin ve teikoplanin duyarlılıkları E-test yöntemi ile saptandı. Disk difüzyon yöntemi için hazırlanan bakteri süspansiyonundan tek kullanımlık steril standart öze ile alınarak Mueller Hinton agar içeren petrielerde besiyerlerinin yüzeyine yayıldı. 15 dakika kadar beklendikten sonra vankomisin ve teikoplanin E test stripleri (Liofilmchem, Italy) kondu. $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18 ± 2 saat inkübasyonun ardından striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesişme noktalarındaki MİK değerleri not edildi. Vankomisin ve teikoplanin için MİK > 4 µg/mL dirençli, ≤ 4 µg/ml ise duyarlı olarak değerlendirildi.

Avrupa Hastalıklardan Korunma ve Kontrol Merkezi ile ABD Hastalıklardan Korunma ve Kontrol Merkezi bakterilerin antimikrobiyal direnç profilini belirtirken kullanılan “Çoklu İlaç Direnci” (Multidrug Resistant, MDR)’ni üç ya da daha fazla antibiyotik grubuna ait olan

antimikrobiyal maddeye karşı kazanılmış direnç olarak tanımlamaktadır. “Aşırı Antibiyotik Direnci” (extensively drug-resistant, XDR)’ni bir veya iki antibiyotik grubu dışında tüm antibiyotik gruplarına ait olan antimikrobiyal maddelere karşı kazanılmış direnç olarak tanımlamaktadır. “Panrezistan” (Pundrug-resistant, PDR) ise tüm antibiyotik gruplarına ait olan antimikrobiyal maddelere karşı kazanılmış olarak tanımlamaktadır (265).

3.2.7. Moleküler Yöntemler

3.2.7.1. DNA İzolasyonu

Koagülaz Negatif Satafilokok (KNS) izolatlarından DNA izolasyonu için kullanılan kit içeriği: Lysis Buffer (Kullanıma hazır) Binding Buffer (Kullanıma hazır), Wash Buffer I (11 mL % 96 lık etanol ile çözüldü), Wash Buffer II (11 mL % 96 lık etanol ile çözüldü) Elution Buffer (Kullanıma hazır), Proteinase K (1000 µl Nuclease Free Water ile çözüldü) Spin Columns (Kullanıma hazır), Collection Tubes (Kullanıma hazır) içermektedir.

DNA izolasyonunda sırası ile aşağıdaki işlemler uygulandı

1. Örneklerden 500 µl alınarak 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine alındı. 10 dakika 5.000 xg’de santrifüj edilip süpernatant kısmı uzaklaştırıldı.
2. Üzerine 400 µl Lysis Buffer, 25 µl Proteinase K, 20 µl Lysozyme ilave edilip 56°C’de yarım saat inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası; 400 µl Binding Buffer ilave edilip, iyice karışması için 15 saniye her örnek vortekslendi.
4. 800 µl olan karışım spin kolona aktarıldı ve 11.000 xg’de 2 dakika santrifüj edildi.
5. Spin kolon altında kalan kısım uzaklaştırıldı ve yeni bir toplama tüpüne spin kolon aktarıldı.
6. 500 µl yıkama solüsyonu (Wash Buffer I) spin kolona ilave edildi. 11.000 xg’de 1 dakika santrifüj edildi.
7. Spin kolon altında kalan kısım uzaklaştırıldı ve yeni bir toplama tüpüne spin kolon aktarıldı.
8. 750 µl yıkama solüsyonu (Wash Buffer II) spin kolona ilave edildi. 11.000 xg’de 1 dakika santrifüj edildi.

9. Spin kolon altında kalan kısım uzaklaştırıldı ve yeni bir toplama tüpüne spin kolon aktarıldı.
10. Spin kolon 11.000 xg'de 3 dakika etanolden uzaklaştırmak için santrifüj edildi.
11. Spin kolon altında kalan kısım uzaklaştırılır ve spin kolon yeni bir steril 1.5 ml mikrosantrifüj tübüne aktarıldı.
12. 200 µl of Elution Buffer, spin kolonun merkezine tam ortasına ilave edildi ve 1 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra 11.000 xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
13. Santrifüj sonrası, elde edilen DNA kullanıma hazır duruma geldi. PCR işlemi yapılmaya kadar örnekler -20°C'de saklandı.

3.2.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

DNA Amplifikasyonu: Çalışmamızda incelenecek kökenlerin *mecA*, *icaA* ve *icaD* genlerinin ve IS256 tespiti tek aşamalı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırıldı. Amplifikasyon, SensoQuest Labcycler da gerçekleştirildi. Her bir köken için reaksiyon hacminin 5 mikrolitresi DNA ekstraktı olmak üzere *mecA*, *icaA* ve *icaD* genleri ve IS256 için ayrı ayrı PCR karışımı yukarıdaki şekilde hazırlandı. Her bir tüp üzerine birer damla mineral yağı eklendi ve tüplerin kapağı kapatıldı. Örnekler Thermo SimpliAmp Thermal Cycler' a yerleştirildi ve aşağıdaki PCR programı uygulandı.

Tablo 3.2: *mecA* Primeri PCR Aşamaları.

İşlemler	Sıcaklık°C	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	40
Yapışma sıcaklığı (Annealing)	57.3°C	30 saniye	40
Uzama	72°C	1 dakika	40
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Tablo 3.3: *icaA* Primeri PCR Aşamaları.

İşlemler	Sıcaklık°C	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	40
Yapışma sıcaklığı (Annealing)	56.3°C	30 saniye	40
Uzama	72°C	1 dakika	40
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Tablo 3.4: *icaD* Primeri PCR Aşamaları.

İşlemler	Sıcaklık°C	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	40
Yapışma sıcaklığı (Annealing)	56.5°C	30 saniye	40
Uzama	72°C	1 dakika	40
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Tablo 3.5: IS256 Primeri PCR Aşamaları.

İşlemler	Sıcaklık°C	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	40
Yapışma sıcaklığı (Annealing)	57.5°C	30 saniye	40
Uzama	72°C	1 dakika	40
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

3.2.7.3. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

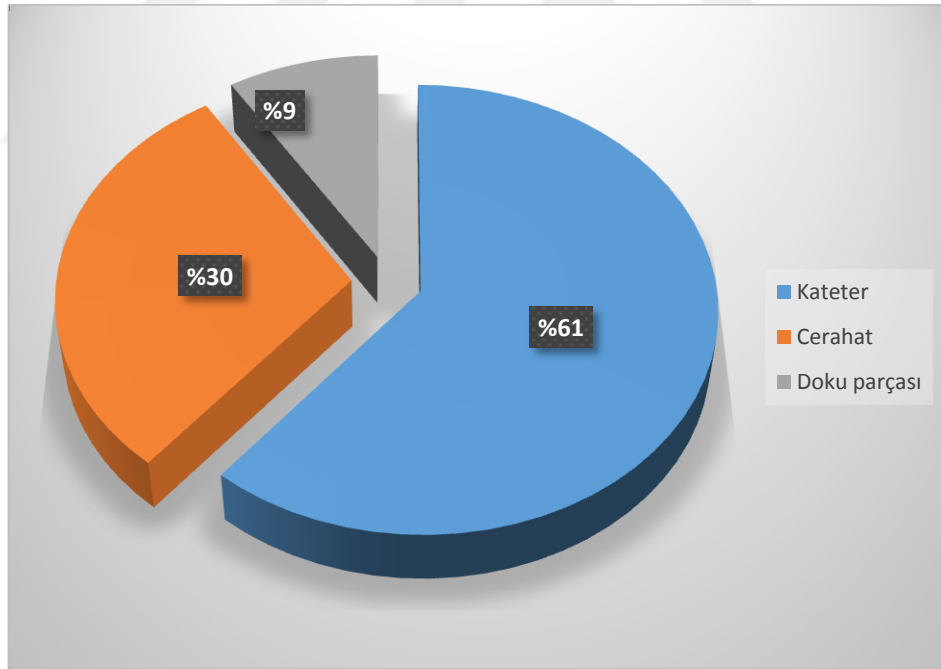
Ürünün görüntülenmesi için sırası ile aşağıdaki işlemler uygulandı

1. Agaroz jel hazırlamak için %1,5 oranında agaroz (Peqlab, Biotechnologie GmbH) tartılarak üstüne 100 ml 0.5X TAE tamponu eklendi.
2. Mikrodalgada 750 watta eriyinceye kadar ısıtılarak jel eritildi
3. Jel yaklaşık 50°C'ye soğutulduktan sonra içine 5 µl Genoxxon Marka SafeGel red boya ilave edildi ve çalkalayarak tüm çözeltiliye dağılması sağlandı.
4. Traye yavaşça döküldü ve polimerize olması için 20 dakika beklendi
5. Jel tanka yerleştirildi ve tank, jelin üstünü kapatacak kadar TAE ile dolduruldu.
6. Örnekler 1:5 oranında yükleme boyası (Thermo Scientific 6X DNA Loading Dye) ile karıştırılıp jele yüklendi.
7. İlk kuyucuğa da her yürütülen ürün grubuna elde edilen bantların büyüklüğünü karşılaştırmak için 50- 1000bp DNA baz çiftlerini içeren size marker Canvax Marka Bright MAX DNA Ladder 5 µl yüklendi.
8. 120 V da 45-60 dakika yürütüldü. (Minnie. The. Gel. CicleHE 33, Hoefler Scientific Instruments, San Fransisco)
9. UV - translüminatör (Biometra) altında incelendi ve araştırılan bantlar değerlendirilerek pozitif örneklerin fotoğrafları çekildi (Kodak 1D 3.5).

4. BULGULAR

Hastanemizde yatan hastalara ait kateter, cerahat ve doku parçası örneklerinden KNS'ler izole edilmiştir. Tür düzeyinde tanımlama için MALDI TOF-MS kullanılmış ve izolatların antimikrobiyal duyarlılığı saptanmıştır.

Kongo kırmızılı agarda KNS ların slime oluşturma özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca izolatlarda *icaA* ve *icaD* genlerinin varlığı ve biyofilm oluşumunu etkileme kapasitesine sahip olan mobil genetik eleman IS256 varlığı araştırılmış ve bulgular sunulmuştur.



Şekil 4.1: İzole edilen KNS'lerin örneklere göre dağılımı.

İnfeksiyon etkeni olduğu ön görülen KNS izolatlarımızın 61'i (61/100) kateter örneklerinden, 30'u (30/100) cerahat örneklerinden ve 9'u (9/100) Doku parçalarından üretilmiştir (Şekil 4.1).

Tablo 4.1: KNS türlerinin örneklerle göre dağılımı.

KNS Türleri (s)	Örnekler		
	Kateter	Cerahat	Doku parçası
<i>S. epidermidis</i> (54)	35 (%64,81)	15 (%27,77)	4 (%7,40)
<i>S. haemolyticus</i> (19)	8 (%42,10)	7 (%36,84)	4 (%21,05)
<i>S. hominis</i> (18)	12 (%66,66)	5 (%27,77)	1 (%5,55)
<i>S. capitis</i> (4)	3 (%75)	1 (%25)	0
<i>S. warneri</i> (2)	1 (%50)	1 (%50)	0
<i>S. lugdunensis</i> (1)	1 (%100)	0	0
<i>S. saprophyticus</i> (1)	1 (%100)	0	0
<i>S. simulans</i> (1)	0	1 (%100)	0

İzole edilen toplam 100 KNS izolatından, 54'ü *S. epidermidis*, 19'u *S. haemolyticus*, 18'i *S. hominis*, 4'ü *S. capitis*, 2'si *S. warneri*, 1'i *S. lugdunensis*, 1'i *S. saprophyticus*, 1'i *S. simulans* olarak tanımlanmıştır.

Bu izolatların klinik örneklerimize göre dağılımı incelendiğinde kateter örneklerinde 61 KNS izolatının %57,3 (35/61)'ü *S. epidermidis*, %13,1 (8/61)'i *S. haemolyticus*, %19,6 (12/61)'si *S. hominis*, %4,9 (3/61)'u *S. capitis*, %1,6 (1/61)'si *S. warneri*, %1,6 (1/61)'si *S. lugdunensis* ve %1,6 (1/61)'si *S. saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. Cerahat örneklerinde ise izole edilen 30 KNS izolatının %50 (15/30)'si *S. epidermidis*, %23,3 (7/30)'ü *S. haemolyticus*, %16,6 (5/30)'si *S. hominis*, %3,3 (1/30)'ü *S. capitis*, %3,3 (1/30)'ü *S. warneri*, %3,3 (1/30)'ü *S. simulans* olarak tanımlanmıştır.

Doku parçalarında ise 9 KNS izolatının %44,4 (4/9)'ünün *S. epidermidis*, %44,4(4/9)'ünün *S. haemolyticus* ve %11,1(1/9)'inin *S. hominis* olduğu belirlenmiştir.

Bu veriler doğrultusunda kateter örneklerinde başta *S. epidermidis* olmak üzere ikinci sıklıkta *S. hominis* ve ardından *S. haemolyticus*'un etken olarak üretildiği, cerahat ve doku örneklerinde ise yine başta *S. epidermidis* olmak üzere ikinci sıklıkta *S. haemolyticus* ve ardından *S. hominis*'in izole edildiği görülmektedir (Tablo 4.1).

Tablo 4.2: Koagülaz negatif stafilokokların antibiyotiklere duyarlılıkları.

KNS türü	No	P	E	DA	LZ	TET	CIP	RİF	SXT	FOX**	VAN*	TEC*	MecA***
<i>S. epidermidis</i>	1	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	2	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	3	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	4	R	R	S	S	S	I	S	R	R	S	S	+
	5	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	+
	6	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	7	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	8	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	9	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	-
	10	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	S	-
	12	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	+
	14	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	17	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	19	S	R	R	S	S	I	S	R	S	S	S	-
	20	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	21	S	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	-
	22	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	25	S	R	S	S	R	I	S	S	S	S	S	-
	27	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	+
	29	R	R	R	S	R	I	S	R	S	S	S	+
	34	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	S	-
	35	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	+
	39	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	-
	40	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	+
	41	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	42	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	-
	44	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	45	R	R	S	S	R	I	S	S	R	S	S	+
	48	R	R	R	S	R	I	S	R	R	S	S	+
	49	S	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	-
50	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	+	

Tablo 4.2 (devam): Koagülaz negatif stafilokokların antibiyotiklere duyarlılıkları.

KNS türü	No	P	E	DA	LZ	TET	CIP	RİF	SXT	FOX**	VAN*	TEC*	MecA***	
<i>S. epidermidis</i>	51	R	S	S	S	S	I	R	S	R	S	S	+	
	52	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+	
	53	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	+	
	54	R	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	+	
	56	R	R	S	S	S	I	S	S	R	S	S	+	
	62	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	+	
	67	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	+	
	72	R	R	R	S	S	I	S	R	S	S	S	+	
	73	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	-	
	74	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	+	
	75	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	76	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	+	
	82	S	S	S	S	S	R	I	S	R	S	S	S	-
	85	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	-
	95	R	R	R	S	S	R	I	R	S	S	S	S	+
	97	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	102	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	+
	103	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	+
	105	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	106	R	R	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	+
108	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	+	
111	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	+	
112	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	+	
<i>S. haemolyticus</i>	11	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	+	
	15	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+	
	24	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+	
	31	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+	

Tablo 4.2 (devam): Koagülaz negatif stafilokokların antibiyotiklere duyarlılıkları.

KNS türü	No	P	E	DA	LZ	TET	CIP	RİF	SXT	FOX**	VAN*	TEC*	<i>MecA</i> ***
<i>S. haemolyticus</i>	32	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	+
	37	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	+
	43	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	47	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	55	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	57	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	61	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	64	R	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	68	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	+
	81	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	+
	87	R	R	R	S	S	I	S	R	S	S	S	+
	90	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	-
	93	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	+
	109	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S
113	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	+
<i>S. hominis</i>	23	R	R	S	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	26	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	30	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	46	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	+
	65	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	+
	66	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	+
	69	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	70	R	R	S	S	S	I	S	R	R	S	S	+
	79	S	R	R	S	S	I	S	R	S	S	S	-
	84	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	86	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	+
	91	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	-

Tablo 4.2 (devam): Koagülaz negatif stafilokokların antibiyotiklere duyarlılıkları.

KNS türü	No	P	E	DA	LZ	TET	CIP	RİF	SXT	FOX**	VAN*	TEC*	<i>MecA</i> ***
<i>S. hominis</i>	94	R	R	S	S	R	I	S	S	S	S	S	-
	98	R	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	99	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	-
	100	R	R	S	S	S	I	S	R	S	S	S	+
	101	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S	+
	104	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S	+
<i>S. capitis</i>	13	R	S	S	S	R	I	S	S	R	S	S	+
	16	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	+
	107	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	-
	110	R	R	R	S	S	I	S	S	R	S	S	+
<i>S. warneri</i>	36	R	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	+
	38	R	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	+
<i>S. lugdunensis</i>	58	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	-
<i>S. saprophyticus</i>	83	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	+
<i>S. simulans</i>	33	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	+

*Duyarlılık Gradient Difüzyon Duyarlılık Testi (E test) ile saptanmıştır. S: Duyarlı; I: Orta Duyarlı; R: Dirençli; P: Penisilin, E: Eritromisin; DA: Klindamisin; SXT: Trimetoprim-Sulfametoksazol; TET: Tetrasiklin; LZ: Linezolid; CIP: Siprofloksasin; RIF: Rifampisin; FOX: Sefoksitin; VAN: Vankomisin; TEC: Teicoplanin, ** Metisilin direncinin fenotipik olarak saptanmasında kullanıldı. *MecA****: Genin varlığı Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) yöntemi ile tespit edildi. No: İzolat numarası; KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

Tablo 4.3: Koagülaz negatif stafilkokların antibiyotiklere direnç profili s (%).

Antibiyotikler (µg/disk)	<i>S. epidermidis</i> 54	<i>S. haemolyticus</i> 19	<i>S. hominis</i> 18	<i>S. capitis</i> 4	<i>S. warneri</i> 2	<i>S. lugdunensis</i> 1	<i>S. saprophyticus</i> 1	<i>S. simulans</i> 1
Penisilin (10 µg)	R: 42 (%77,77) S: 12 (%22,22)	R: 18 (%94,73) S: 1 (%5,26)	R: 15 (%83,33) S: 3 (%16,66)	R: 3 (%75) S: 1 (%25)	R: 2 (%100) S: 0	R: 0 S: 1 (%100)	R: 1 (%100) S: 0	R: 0 S: 1 (%100)
Sefoksitin* (30 µg)	R: 35 (%64,81) S: 19 (%35,18)	R: 16 (%84,21) S: 3 (%15,78)	R: 10 (%55,55) S: 8 (%44,44)	R: 3 (%75) S: 1 (%25)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)
Eritromisin (15µg)	R: 43 (%79,62) S: 11 (%20,37)	R: 15 (%78,94) S: 4 (%21,05)	R: 16 (%88,88) S: 2 (%11,11)	R: 2 (%50) S: 2 (%50)	R: 2 (%100) S: 0	R: 0 S: 1 (%100)	R: 1 (%100) S: 0	R: 1 (%100) S: 0
Klindamisin (2µg)	R: 31 (%57,40) S: 23 (%42,59)	R: 13 (%68,42) S: 6 (%31,57)	R: 8 (%44,44) S: 10 (%55,55)	R: 2 (%50) S: 2 (%50)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)
Linezolid (10µg)	R: 0 S: 54 (%100)	R: 0 S: 19 (%100)	R: 0 S: 18 (%100)	R: 0 S: 4 (%100)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)
Tetrasiklin (30µg)	R: 24 (%44,44) S: 30 (%55,55)	R: 6 (%31,57) S: 13 (%68,42)	R: 10 (%55,55) S: 8 (%44,44)	R: 2 (%50) S: 2 (%50)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 1 (%100) S: 0	R: 0 S: 1 (%100)
Siprofloksasin (5µg)	R: 32 (%59,25) I: 22 (%40,74)	R: 18 (%94,73) I: 1 (%5,26)	R: 12 (%66,66) I: 6 (%33,33)	R: 1 (%25) I: 3(%75)	R: 0 I: 2 (%100)	R: 0 I: 1 (%100)	R: 1 (%100) S: 0	R: 0 I: 1 (%100)
Rifampisin (5 µg)	R: 18 (%33,33) S: 36 (%66,66)	R: 14 (%73,68) S: 5(%26,31)	R: 0 S: 18 (%100)	R: 0 S: 4 (%100)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)
Trimetoprim- Sulfametoksazol (1,25-23,75µg)	R: 34 (%62,96) S: 20 (%37,03)	R: 16 (%84,21) S: 3 (%15,78)	R: 14 (%77,77) S: 4 (%22,22)	R: 1 (%25) S: 3 (%75)	R: 0 S: 2 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)	R: 0 1 (%100)	R: 0 S: 1 (%100)

*Metisilin direncinin fenotipik olarak saptanmasında kullanıldı. I: Antibiyotik yüksek dozda kullanıldığında duyarlı

Çalışmamızda izole edilen KNS'ların disk difüzyon yöntemiyle elde edilen antibiyotik duyarlılık testi (ADT) sonuçlarına göre antibiyotik direnç oranları incelendiğinde;

En sık üretilen *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* türleri arasında denenilen antibiyotiklere en fazla direnç gösteren türün *S. haemolyticus* olduğu, daha az sayıda izole edilen *S. capitis*, *S. warneri*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* türleri arasından denenilen antibiyotiklere en fazla direnç gösteren türün *S. capitis* olduğu belirlenmiştir.

Antibiyotik direnç durumu türlere göre incelendiğinde:

Koagülaz negatif stafiokok suşlarımızın 64 (%64)'ü Metisiline dirençli 36'sı metisiline duyarlı bulunmuştur. Metisiline dirençli KNS izolatları arasında en yüksek metisilin direncinin %84,21 oranıyla *S. haemolyticus* 'ta görüldüğü, bunu %75 oranıyla *S. capitis*, %64,81 oranıyla *S. epidermidis* ve %55,55 oranıyla *S. hominis* in izlediği görülmektedir.

İzole edilen 54 *S. epidermidis* suşunun 43 (%79,62)'ünde eritromisin, 42 (%77,7)'sinde penisilin, 35 (%64,81)'inde metisilin, 34 (%62,96)'ünde trimetoprim-sulfametoksazol, 32 (%59,25)'sinde siprofloksasin, 31 (%57,40)'inde klindamisin, 24 (%44,44)'ünde tetrasiklin, 18 (%33,33)'inde rifampisin direnci olduğu belirlenmiştir. *S. epidermidiste* en yüksek direnç oranının %79,62 ile eritromisin'e karşı olduğu görülmüştür (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

İzole edilen 19 *S. haemolyticus* suşunun 18 (%94,73)'inde penisilin, 18 (%94,73)'inde siprofloksasin, 16(%84,21)'sında metisilin ve trimetoprim-sulfametoksazol, 15 (%78,94)'inde eritromisin, 14 (%73,68)'ünde rifampisin, 13 (%68,42)'ünde klindamisin, 6 (%31,57)'sında tetrasiklin direnci belirlenmiştir. Bu izolatlarda en yüksek direnç oranının %94,73 ile penisiline ve siprofloksasin'e karşı olduğu saptanmıştır (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

İzole edilen 18 *S. hominis* türünün 16 (%88,88)'sında eritromisin, 15 (%83,33)'inde penisilin, 14 (%77,77)'ünde trimetoprim-sulfametoksazol, 12 (%66,66)'sinde siprofloksasin 10 (%55,55)'unda metisilin ve tetrasiklin, 8 (%44,44)'inde klindamisin direnci tespit edilmiştir. En yüksek direnç oranının %88,88 ile eritromisin'e karşı olduğu görülmüştür (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

Örneklerden az sayıda tanımlanan *S. capitis*'te 4 türün 3 (%75)'ünde penisilin ve metisilin direnci, 2 (%50)'sinde eritromisin, klindamisin, tetrasiklin direnci, 1 (%25)'inde siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol direnci saptanmıştır (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

S. warneri olarak tanımlanan 2 suş bulunmaktadır. Bunların ikisinde de penisilin ve eritromisin direnci olduğu araştırılan diğer antibiyotiklere karşı direnç olmadığı gözlemlenmiştir.

S. lugdunensis, *S. simulans*, *S. saprophyticus* türleri için birer suş izole edilmiş olup; *S. lugdunensis*' in araştırılan antibiyotiklerden hiçbirine karşı direnç göstermediği, *S. simulans*' ın sadece eritromisin'e direnç gösterdiği, *S. saprophyticus*' un ise eritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklin'e karşı dirençli olduğu görülmüştür (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

İzole edilen tüm KNS türlerinde metisilin direncinden sonra ikinci en yüksek direnç oranı eritromisin olduğu gözlenmektedir. Metisilin direnci %84.21 oranında en fazla *S. haemolyticus* izolatlarında saptanmıştır.

Metisilin direnci saptanan 64 KNS izolatında *mecA* pozitifliği de gösterilmiştir ancak bu izolatları dışında 17 KNS izolatında (%17) sefoksitin duyarlılığı ile birlikte *MecA* pozitifliği saptanmıştır. 7 (%12,9) *S. epidermidis*, 2 (%10,5) *S. haemolyticus*, 4 (%27,7) *S. hominis*, 2 (%100) *S. warneri*, 1 (%100) *S. saprophyticus* ve 1 (%100) *S. simulans* izolatlarında Sefoksitin duyarlılığı ile birlikte *MecA* pozitifliği saptanmıştır (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

Araştırmamızda slime oluşumunun fenotipik olarak gösterilmesinde KKA kullanılmıştır.

Üremelerin değerlendirilmesi sonucunda KKA'da üreyen *S. epidermidis* izolatlarının %44,4 (24/54)'ünün slime pozitif ve %55,6 (30/54) 'inin slime negatif olduğu saptanmıştır.

S. haemolyticus izolatlarının %52,6 (10/19)'sinin KKA'da slime pozitif ve %47,4 (9/19)'ünün slime negatif olduğu, *S. hominis* incelendiğinde %77,8 (14/18)'sinin slime pozitif ve %22,2 (4/18)'sinin slime negatif olduğu saptanmıştır.

Kongo kırmızılı agarda üreyen 4 *S. capitis* izolatından 1'inin slime pozitif 3'ünün slime negatif izolat olduğu ayrıca örneklerden az sayıda tanımlanan *S. warneri*, *S. ludunensis* ve *S. saprophyticus* türlerinin üremeleri değerlendirildiğinde her tür içinde sadece kateterden üretilen birer izolatta slime oluşumu saptanmıştır (Tablo 4.4 ve Tablo 4.5).

Tablo 4.4: Kongo Kırmızılı Agarda üreyen *S. epidermidis* izolatlarına ait veriler.

Koagülaz negatif stafilokok türü	No	Örnek türü	Kongo Kırmızılı Agar
<i>S. epidermidis</i>	97	Kateter	-
	85	Kateter	-
	82	Kateter	+
	62	Kateter	+
	56	Kateter	-
	51	Kateter	+
	3	Kateter	-
	4	Kateter	-
	5	Kateter	+
	6	Kateter	+
	7	Kateter	+
	8	Kateter	-
	9	Kateter	-
	10	Kateter	-
	12	Kateter	-
	22	Kateter	-
	29	Kateter	+
	42	Kateter	-
	50	Kateter	-
	53	Kateter	+
	67	Kateter	-
	103	Kateter	-
	105	Kateter	+
	111	Kateter	-
	108	Kateter	-
	1	Kateter	+
	2	Kateter	-
	14	Kateter	+
	17	Kateter	-
	19	Kateter	+
	20	Kateter	+
	21	Kateter	-
	25	Kateter	+
	27	Kateter	+
	40	Kateter	-
	45	Cerihat	-
	49	Cerihat	-
	54	Cerihat	-
	72	Cerihat	-
	106	Cerihat	+
	112	Cerihat	+
	34	Cerihat	+
	35	Cerihat	-
	39	Cerihat	-
	41	Cerihat	-
44	Cerihat	+	
48	Cerihat	-	
73	Cerihat	-	
74	Cerihat	+	
95	Cerihat	-	
52	Doku parçası	+	
75	Doku parçası	+	

Tablo 4.4 (devam): Kongo Kırmızılı Agarda üreyen *S. epidermidis* izolatlarına ait veriler.

Koagülaz negatif stafilokok türü	No	Örnek türü	Kongo Kırmızılı Agar
<i>S. epidermidis</i>	76	Doku parçası	+
	102	Doku parçası	+

Tablo 4.5: Kongo Kırmızılı Agarda üreyen diğer KNS ait veriler.

KNS türü	No	Örnek türü	Kongo Kırmızılı Agar
<i>S. haemolyticus</i>	11	Kateter	-
	15	Kateter	-
	43	Kateter	+
	24	Kateter	+
	31	Kateter	+
	32	Kateter	-
	37	Kateter	-
	68	Kateter	-
	57	Cerihat	+
	113	Cerihat	+
	61	Cerihat	-
	64	Cerihat	-
	81	Cerihat	+
	87	Cerihat	-
	90	Cerihat	-
	47	Doku parçası	+
	109	Doku parçası	+
55	Doku parçası	+	
93	Doku parçası	+	
<i>S. hominis</i>	23	Kateter	+
	30	Kateter	-
	46	Kateter	-
	65	Kateter	+
	69	Kateter	+
	70	Kateter	-
	86	Kateter	+
	98	Kateter	+
	99	Kateter	+
	100	Kateter	+
	101	Kateter	+
	104	Kateter	+
	26	Cerihat	+
	66	Cerihat	-
	79	Cerihat	+
	84	Cerihat	+
	94	Cerihat	+
91	Doku parçası	+	
<i>S. capitis</i>	13	Kateter	-
	16	Kateter	-
	110	Kateter	+
	107	Cerihat	-
<i>S. warneri</i>	36	Kateter	+
	38	Cerihat	-
<i>S. lugdunensis</i>	58	Kateter	+
<i>S. saprophyticus</i>	83	Kateter	+
<i>S. simulans</i>	33	Cerihat	-

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

Tablo 4.6: Kongo Kırmızılı Agarda slime pozitif KNS izolatlarının örnek türüne göre dağılımı.

KNS türü	Örnek türü	Slime pozitif izolatlar s (%)	Slime negatif izolatlar s (%)
<i>S. epidermidis</i> (54)	Kateter (35)	15 (42.8)	20 (57.2)
	Cerahat (15)	5 (33.3)	10 (66.7)
	Doku parçası (4)	4 (100)	0 (0)
		Toplam: 24 (44,4)	Toplam: 30 (55,6)
<i>S. haemolyticus</i> (19)	Kateter (8)	3(37,5)	5 (62.5)
	Cerahat (7)	3 (42.9)	4 (57.1)
	Doku parçası (4)	4(100)	0 (0)
		Toplam: 10 (%52,6)	Toplam: 9 (47,4)
<i>S. hominis</i> (18)	Kateter (12)	9 (75)	3 (25)
	Cerahat (5)	4 (80)	1 (20)
	Doku parçası (1)	1(100)	0 (0)
		Toplam: 14 (77,8)	Toplam: 4 (22,2)
<i>S. capitis</i> (4)	Kateter (3)	1 (33.3)	2 (66.7)
	Cerahat (1)	0 (0)	1 (100)
	Doku parçası (0)	0 (0)	0 (0)
		Toplam: 1 (25)	Toplam:3 (75)
<i>S. warneri</i> (2)	Kateter (1)	1 (100)	0 (0)
	Cerahat (1)	0 (0)	1 (100)
	Doku parçası (0)	0 (0)	0 (0)
		Toplam: 1 (50)	Toplam: 1 (50)
<i>S. lugdunensis</i> (1)	Kateter (1)	1 (100)	0 (0)
	Cerahat (0)	0 (0)	0 (0)
	Doku parçası (0)	0 (0)	0 (0)
		Toplam: 1 (100)	Toplam: 0 (0)
<i>S. saprophyticus</i> (1)	Kateter (1)	1 (100)	0 (0)
	Cerahat (0)	0 (0)	0 (0)
	Doku parçası (0)	0 (0)	0 (0)
		Toplam: 1 (100)	Toplam: 0 (0)

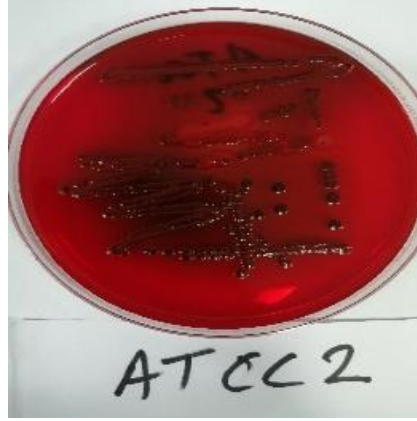
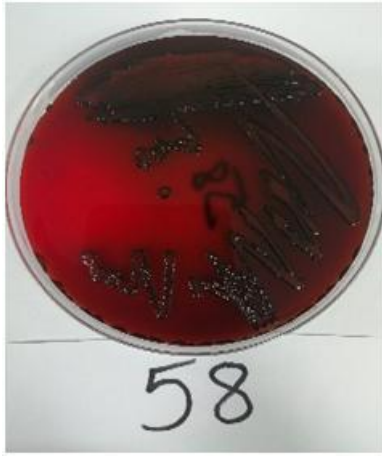
KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

Slime pozitif *S. epidermidis* izolatları kateterlerin %42.8 (15/35)'inde cerahatlerin %33.3 (5/15)'ünde ve doku parçalarının %100 (4/4)'ünde üretilmiştir.

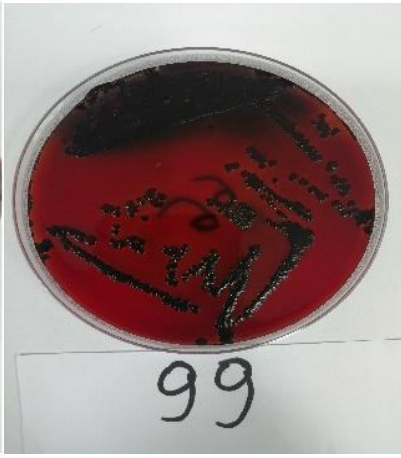
Slime pozitif *S. haemolyticus* izolatları kateterlerin %37,5 (3/8)'i, cerahatlerin %42,8 (3/7)'inde ve doku parçalarının %100 (4/4)'ünde üretilmiştir

Slime pozitif *S. hominis* izolatları kateterlerin %75 (9/12)'inde, cerahatlerin %80 (4/5)'inde ve 1 adet doku parçasında %100 (1/1)'ünde saptanmıştır.

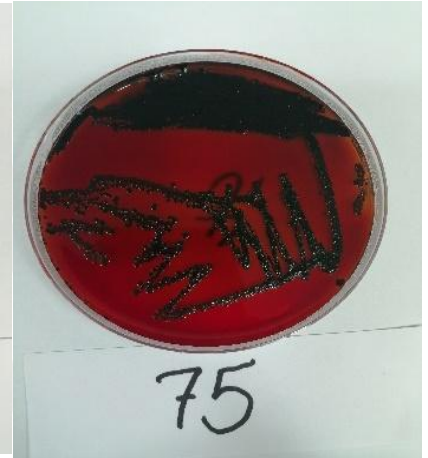
S. warneri, *S. ludunensis* ve *S. saprophyticus* türlerinin her birinde sadece kateterden üretilen birer izolatta slime oluşumu saptanmıştır (Tablo 4.6).

ATCC 35984 *S. epidermidis*

58

S. lugdunensis (kateter +)

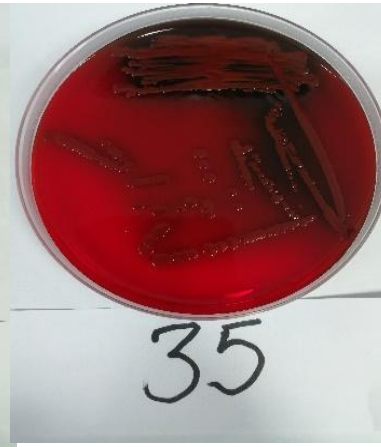
99

S. hominis (kateter +)

75

S. epidermidis (doku parçası +)

107

S. capitis (cerahat -)

35

S. epidermidis (cerahat -)

46

S. hominis (kateter -)

Şekil 4.2: Koagülaz negatif stafülokokların KKA'da üreme sonucu görüntüleri.

+: KKA pozitif; -: KKA negatif; KKA: Kongo kırmızılı agar

Tablo 4.7: KNS izolatlarında KKA, icaAD ve IS256 sonuçlarının karşılaştırılması.

KNS Türü	KKA (+)	KKA (-)	icaA+/icaD (+)	IS 256 (+)	P*
<i>S. epidermidis</i> (54)	24	30	54	40	<0.05
<i>S. haemolyticus</i> (19)	10	9	19	19	<0.05
<i>S. hominis</i> (18)	14	4	17	15	>0.05
<i>S. capitis</i> (4)	1	3	4	3	-
<i>S. warneri</i> (2)	1	1	1	1	-
<i>S. simulans</i> (1)	0	1	1	1	-
<i>S. lugdunensis</i> (1)	1	0	1	1	-
<i>S. saprophyticus</i> (1)	1	0	1	1	-
Toplam	52	48	98	81	

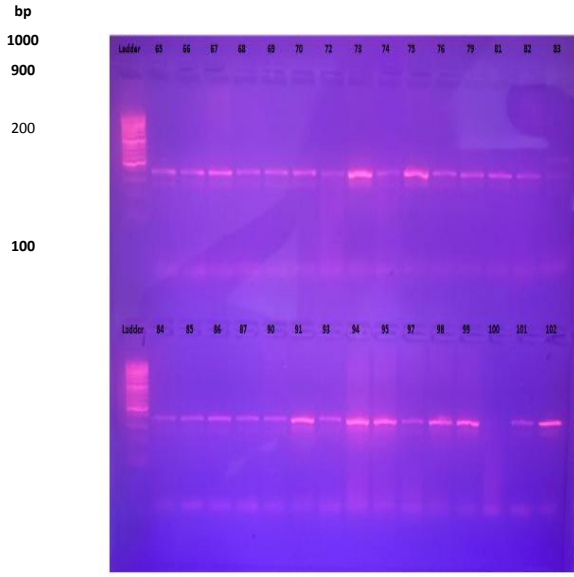
P* KKA pozitifliği ile icaA+/icaD pozitifliği karşılaştırılmıştır.

Tüm *S.epidermidis* izolatlarında icaA+/icaD pozitifliği gözlenirken Kongo kırmızılı agarda yalnız 24 *S.epidermidis* izolatında slime oluşumu saptanmıştır. Biyofilm oluşturma özelliğinin saptanmasında her iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir.

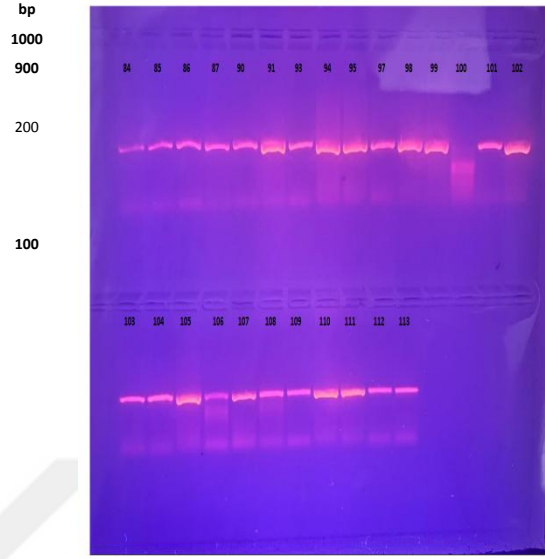
Tüm *S. epidermidis* izolatlarında (54 izolat), tüm *S. haemolyticus* izolatlarında (19 izolat) ve 17 *S. hominis* izolatında (17/18 izolat) icaA+/icaD pozitifliği gözlenirken, Kongo kırmızılı agarda yalnız 24 *S. epidermidis* izolatında, 10 *S. haemolyticus* izolatında ve 14 *S. hominis* izolatında slime oluşumu saptanmıştır. KNS izolatlarımızdan özellikle *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatlarında biyofilm oluşumunun araştırılmasında kullandığımız KKA yönteminde elde ettiğimiz slime oluşturan izolat sayısı ile icaA ve icaD genlerinin araştırılmasına dayanan yöntemle elde ettiğimiz slime oluşturan izolat sayı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p<0.05)

IS256 ise icaA ve icaD genlerinin bulunduğu tüm *S. haemolyticus* (19 izolat) ve 15 *S. hominis* izolatlarında bulunurken icaA ve icaD genleri bulunan 54 *S. epidermidis* izolatının yalnızca 40'inde görülmüştür (Tablo 4.7).

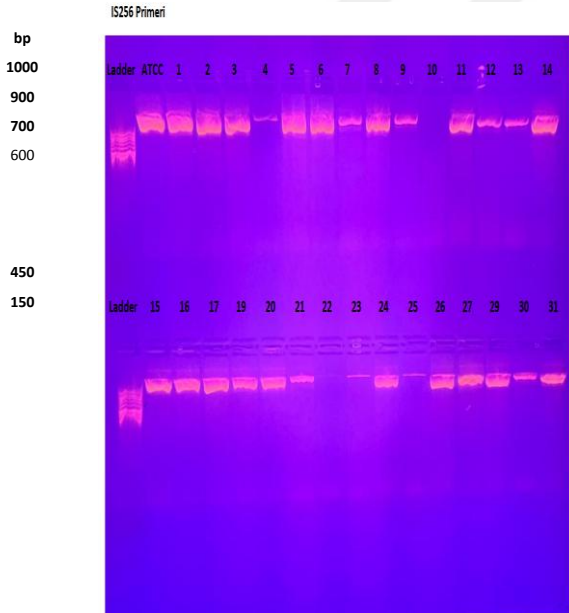
icaA geni



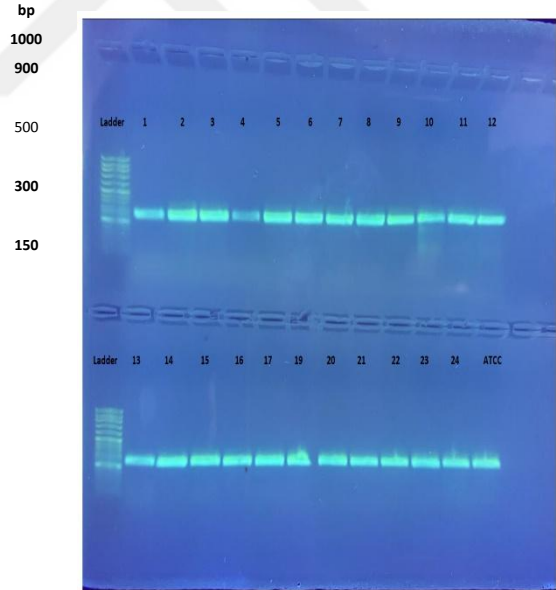
icaD geni



IS256 geni



mecA geni

Şekil 4.3: *icaA*, *icaD*, IS256 ve *mecA* genlerin jel elektroforez görüntüsü.

Tablo 4.8: Çoklu antibiyotik direnci olan KNS izolatlarında dirençli bulunan antibiyotik grubu sayısı ile *icaA*, *icaD* ve IS256'nın dağılımı.

KNS türü	No	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>	IS256	Dirençli bulunan antibiyotik grubu sayısı
<i>S. epidermidis</i>	1	+	+	+	7
	2	+	+	+	7
	3	+	+	+	7
	6	+	+	+	7
	7	+	+	+	7
	8	+	+	+	7
	14	+	+	+	7
	17	+	+	+	7
	20	+	+	+	7
	41	+	+	+	7
	44	+	+	+	7
	52	+	+	+	7
	112	+	+	+	7
	5	+	+	+	6
	12	+	+	+	6
	22	+	+	-	6
	75	+	+	+	6
	97	+	+	+	6
	105	+	+	+	6
	29	+	+	+	5
	40	+	+	+	5
	48	+	+	+	5
	53	+	+	-	5
	62	+	+	+	5
	102	+	+	+	5
	111	+	+	+	5
	4	+	+	+	4
	21	+	+	+	4
	27	+	+	+	4
	35	+	+	+	4
	45	+	+	+	4
	50	+	+	+	4
	67	+	+	+	4
	95	+	+	-	4
	103	+	+	+	4
	108	+	+	-	4
	9	+	+	+	3
	19	+	+	+	3
	49	+	+	+	3
	51	+	+	+	3
56	+	+	-	3	
72	+	+	-	3	
74	+	+	-	3	
76	+	+	-	3	
85	+	+	+	3	
106	+	+	-	3	
<i>S. haemolyticus</i>	47	+	+	+	7
	57	+	+	+	7
	68	+	+	+	7
	113	-	+	+	7
	15	+	+	+	6
	24	+	+	+	6

Tablo 4.8 (devam): Çoklu antibiyotik direnci olan KNS izolatlarında dirençli bulunan antibiyotik grubu sayısı ile *icaA*, *icaD* ve IS256'nın dağılımı.

KNS türü	No	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>	IS256	Dirençli bulunan antibiyotik grubu sayısı
<i>S. haemolyticus</i>	31	+	+	+	6
	43	+	+	+	6
	55	+	+	+	6
	64	+	+	+	6
	81	+	+	+	6
	109	+	+	+	6
	11	+	+	+	5
	37	+	+	+	5
	61	+	+	+	5
	32	+	+	+	4
	93	+	+	+	4
	87	+	+	+	3
<i>S. hominis</i>	23	+	+	-	6
	26	+	+	+	6
	30	+	+	+	6
	69	+	+	+	6
	84	+	+	+	6
	65	+	+	+	5
	98	+	+	+	5
	101	+	+	-	5
	104	+	+	+	5
	46	+	+	+	4
	70	+	+	+	4
	99	+	+	+	4
	86	+	+	+	4
	66	+	+	+	3
	79	+	+	-	3
	94	+	+	+	3
100	-	-	+	3	
<i>S. capitis</i>	16	+	+	+	6
	13	+	+	+	3
	110	+	+	+	3
<i>S. saprophyticus</i>	83	-	+	+	4

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

Tablo 4.9: Çoklu antibiyotik direnci olan izolatlarda *icaA*, *ica D* ve IS256'nın dağılımı.

KNS türü	Çoklu Antibiyotik direnci gösteren izolat sayısı	<i>icaA/icaD</i> (+) S	<i>icaA/icaD</i> (-) S	IS256 (+)
<i>S. epidermidis</i> (54)	46	46	0	37
<i>S. haemolyticus</i> (19)	18	18	1	18
<i>S. hominis</i> (18)	17	16	1	14
<i>S. capitis</i> (4)	3	3	0	3
<i>S. saprophyticus</i> (1)	1	1	1	1

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

İzole ettiğimiz KNS izolatlarımızda üç ya da daha fazla antibiyotik grubuna ait antimikrobiyal maddeye karşı kazanılmış direnç olarak tanımlanan “Çoklu İlaç Direnci” ni incelediğimizde 9 farklı antibiyotik grubundan en fazla 7’sine en az 3’üne dirençli izolatlar olduğu görülmektedir.

S. epidermidis izolatlarının %85,2 (46/54)’sinde, *S. haemolyticus* izolatlarının %94.7 (18/19)’sinde ve *S. hominis* izolatlarının %94.4 (17/18)’ünde çoklu ilaç direnci saptanmıştır.

Çoklu ilaç direnci saptanan 46 *S. epidermidis* izolatının 46’sinde (%100) *icaA* ve *icaD* pozitifliği saptanmıştır. Bunların 37 (%80,4)’sinde IS256 varlığı gözlenmiştir.

Çoklu ilaç direnci saptanan 18. *S. haemolyticus* izolatının 18’inde (%100) *icaA* ve *icaD* pozitifliği saptanmıştır. Bunların 18 (%100)’sinde IS256 varlığı gözlenmiştir.

Çoklu ilaç direnci saptanan 17 *S. hominis* izolatının 16’sında (%94.1) *icaA* ve *icaD* pozitifliği saptanmıştır. Bunların 14 (% 82.3)’ünde IS256 varlığı gözlenmiştir (Tablo 4.9).

Çalışmamız sonucunda bulgularımızı özetlemek istersek:

1. Klinik örneklerden topladığımız 100 KNS izolatı MALDI-TOF ile tanımlanması sonucunda izolatların *S. epidermidis* (54 izolat), *S. haemolyticus* (19 izolat), *S. hominis* (18 izolat), *S. capitis* (4 izolat), *S. warneri* (2 izolat), *S. lugdunensis* (1 izolat), *S. saprophyticus* (1 izolat) ve *S. simulans* (1 izolat) olduğu saptanmıştır.
2. Disk difüzyon yöntemiyle elde edilen antibiyotik duyarlılık testi (ADT) sonuçlarına göre denenen antibiyotiklere en fazla direnç gösteren türün *S. haemolyticus* olduğu belirlenmiştir.
3. Stafilokok türleri için en önemli antibiyotik direnci olduğu bilinen metisilin direncinin disk difüzyon yöntemi ile sefoksitin diski ile belirlenmesi sonucunda 100 KNS izolatının 64’ünde (%64) metisilin direnci saptanmıştır. Bu direnç türlere göre değerlendirildiğinde %84,21 oranıyla *S. haemolyticus* ‘ta en yüksek oranda olduğu, bunu %75 oranıyla *S. capitis*, %64,81 oranıyla *S. epidermidis* ve %55,55 oranıyla *S. hominis* in izlediği görülmektedir. Metisilin direnci %84.21 oranında en fazla *S. haemolyticus* izolatlarında saptanmıştır.
4. Metisilin direnci saptanan 64 KNS izolatında *mecA* pozitifliği de gösterilmiştir ancak bu izolatları dışında 17 KNS izolatında (%17) sefoksitin duyarlılığı ile birlikte *MecA* pozitifliği saptanmıştır.

5. Slime oluşumunun fenotipik olarak gösterilmesinde KKA kullanılmıştır. Toplam 100 KNS izolatının 52'sinde KKA'da slime pozitifliği saptanmıştır (%52). *S. epidermidis* izolatlarında slime saptanma oranı %44.4'tür. *S. haemolyticus* izolatlarında %52,6, *S. hominis* izolatlarında %77,8'dir. Doku parçalarında üreyen tüm KNS türlerinde KKA'da slime pozitifliği saptanmıştır
6. Tüm *S.epidermidis* izolatlarında (54 izolat), tüm *S.haemolyticus* izolatlarında (19 izolat) ve 17 *S.hominis* izolatında (17/18 izolat) *icaA*/*icaD* pozitifliği gözlenmiştir. *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatlarında, KKA'da bulunan slime pozitif izolat sayısı ile *icaA* ve *icaD* genlerini taşıyan izolat sayı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$)
7. IS256 ise *icaA* ve *icaD* genleriyle beraber tüm *S. haemolyticus* (19 izolat) ve 15 *S. hominis* izolatlarında bulunmuştur ancak *icaA* ve *icaD* genleri bulunan 54 *S. epidermidis* izolatının yalnızca 40'inde görülmüştür.
8. Çoklu ilaç direnci saptanan *S.epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatının %100 ünde, *S. hominis* izolatının ise %94.1'inde *icaA* ve *icaD* pozitifliği saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Koagülaz negatif stafilokoklar mikrobiyota bakterileri olmaları yanı sıra günümüzde fırsatçı infeksiyonlar oluşturabilen ve antibiyotiklere giderek artan oranlarda direnç geliştirebilen önemli patojenler arasında yerlerini almışlardır. Biyofilm oluşturma özelliğine sahip bu bakterilerin infeksiyon bölgesinden uzaklaştırılması, biyofilm içinde antibiyotiklerin etkisinden ve immün sistem hücrelerinden korundukları için kolay olmamaktadır. Bu bakterilerin izole edildiği klinik örneklerde etken mi kontaminant mı olduklarını belirlemede güçlükler yaşandığından son yıllarda KNS'lerin etken olduğunu gösterebilecek belirteçler bulma yönünde çabalar artmıştır. İnfeksiyon etkeni olan KNS ile mikrobiyotadan kontamine olan KNS'in ayırımı bugün halen yapılamamıştır ancak pek çok çalışmada biyofilm genlerinin ve özellikle IS256 varlığının invaziv suşlarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (266-269).

Klinik örneklerden üretilen KNS'ler önceleri yalnızca *S. epidermidis* olarak bilinirken gelişen tanımlama tekniklerinin ve moleküler yöntemlerin kullanımı ile değişik KNS türlerinin infeksiyon bölgesinde bulunabileceği gösterilmiştir. Manadhar S. ve ark (270) 2021 yılında yaptıkları çalışmada farklı klinik örneklerden 214 KNS izolatı üretmişler ve bunların arasında *S. epidermidis*'in en yüksek oranda (%57.5) üreyen tür olduğunu belirtmişlerdir. *S. haemolyticus* %11.2, *S. hominis* %7 ve *S. capitis*'i %5.6 oranlarında saptamışlardır. Manoharan M. ve ark (271) 2021 yılında 427 KNS izolatından 356 (%83.3)'sını MALDI-TOF MS ile *S. haemolyticus* olarak tanımlamışlardır. Bora P. ve ark (272) 2018'de 120 KNS klinik izolatını MALDI-TOF MS ile tanımlayarak bunların %56.6'sının *Staphylococcus epidermidis*, %21.6'sının *Staphylococcus haemolyticus*, %11.6'sının *Staphylococcus lugdunensis*, %5'inin *Staphylococcus caprae*, %3.3'ünün *Staphylococcus cohnii* ve %1.6'sının *Staphylococcus vitulinus* olduğunu belirtmişlerdir. Ülkemizde Öcal D. ve ark (273) 2022'de 80 klinik KNS izolatından %36,25'ini *Staphylococcus hominis*, %35'ini *Staphylococcus epidermidis*, %13,7'sini *Staphylococcus haemolyticus*, %11,2'sini *Staphylococcus capitis*, %2,5'ini *Staphylococcus saprophyticus* ve %1.2'inin *Staphylococcus warneri* olarak tiplendirmişlerdir. Türkiye'den Köksal ve ark (9) 2009 yılında kan dolaşımı infeksiyonlarında KNS'lerin dağılımını araştırmışlar ve %43.5'i *S. epidermidis* en yüksek

oranda izole etmişlerdir, bunu sırayla %11.5'ini *S. haemolyticus* ve %9.5'ini *S. hominis* izlemiştir. Bizim çalışmamızda da 61'i kateter 30'u cerahat ve 9'u doku parçası olmak üzere 100 klinik örnekte ürettiğimiz KNS türlerinin MALDI-TOF MS ile tanımlanması sonucunda %54'ünün *S. epidermidis*, %19'unun *S. haemolyticus*, %18'inin *S. hominis* olduğu ayrıca 4 *S. capitis*, 2 *S. warneri*, 1 *S. lugdunensis*, 1 *S. saprophyticus* ve 1 *S. simulans* izolatının da tanımlandığı görülmüştür. *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* oranlarımız Bora P. ve ark belirttiği oranlarla *S. warneri* oranımız Öcal D. ve ark belirttiği oranla uyuşmaktadır, *S. hominis* ve *S. capitis* oranlarımız ise Manadhar S. ve ark 'nın belirttiği oranlara çok yakın bulunmuştur.

Koagülaz negatif stafilokokların etken olduğu infeksiyonlar incelendiğinde bir bölümünün kronikleşen infeksiyonlar olduğu dikkat çekmektedir. İnfeksiyonun kronikleşmesi uygun olmayan antibiyotik tedavisi ve yabancı cisim varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle suşların antibiyotiklere direnç oranları hakkında fikir sahibi olunması önem taşımaktadır.

Metisilin direnci suşun beta laktam antibiyotiklere karşı direnci hakkında bilgi veren önemli bir özelliktir. Metisilin direncinin saptanmasında rutinde kullanılan fenotipik yöntem sefoksitin diskine olan direncin saptanmasına dayanır ancak bu yöntem *mecA* geninin ekspresyonundaki heterojen davranış nedeniyle her zaman tutarlı bir sonuç vermemektedir. Metisilin direnci saptanmasında genotipik bir yöntem olan *mecA* geninin gösterilmesi altın standart olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada biz de metisilin direncini hem sefoksitin diski ile disk difüzyon yöntemi uygulayarak hem de PZR ile *mecA* genini saptayarak belirledik. Çalışma sonucunda 100 KNS izolatının 64'ünde (%64) sefoksitin diski ile metisilin direnci saptanmıştır. Bu direnç türlere göre değerlendirildiğinde %84,21 oranıyla *S. haemolyticus* 'ta en yüksek oranda olduğu, bunu %75 oranıyla *S. capitis*, %64,81 oranıyla *S. epidermidis* ve %55,55 oranıyla *S. hominis* in izlediği görülmektedir. Metisilin direnci %84.21 oranında en fazla *S. haemolyticus* izolatlarında saptanmıştır. *mecA* geni ile yapılan çalışma sonucunda ise 100 KNS izolatının 81 'inde (%81) metisilin direnci saptanmıştır.

Araştırmamızda metisilin direncinin saptanmasında kullandığımız fenotipik ve genotipik yöntemi karşılaştırdığımızda 17 (%21) KNS izolatında *mecA* geni varlığına dayanan metisilin direnci saptanmış ancak bu izolatların sefoksitin diskine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bizim bulgumuza benzer şekilde ancak biraz daha düşük oranda olmak üzere Öcal D. ve ark (273) metisilin direncinin saptanmasında kullandıkları genotipik yöntemle fenotipik yöntemi karşılaştırmışlar ve 15 (%9,43) KNS izolatında *mecA* pozitif iken sefoksitin

duyarlılığı saptamışlardır. Fenotipik yöntem olan sefoksitin diski ve genotipik yöntem olan *mecA* geni ile metisilin direnci saptama oranları birçok çalışmada incelenmiştir. Palazzo I.C. ve ark (274) 58 KNS izolatından 1'inin *mecA* geni taşımaya rağmen sefoksitin duyarlılığına sahip olduğunu saptamışlardır. Perazzi B. ve ark (275) 107 KNS izolatı ile yaptıkları çalışmada 61 *S. epidermidis*, 18 *S. saprophyticus*, 13 *S. haemolyticus*, 4 *S. hominis*, 4 *S. simulans*, 2 *S. capitis*, 1 *S. auricularis*, 1 *S. sciuri*, 1 *S. cohnii*, 1 *S. warneri* ve 1 *S. lugdunensis* izolatlarının 41(%38)' inde *mecA* genini pozitif saptamışlar ancak bunların 8' inde sefoksitin duyarlılığı bildirmişlerdir.

Makrolid linkoazmid streptogramin (MLS) direnci eritromisin ve klindamisin direncine göre belirlenmiştir. KNS'lerde *ermC* eritromisin direncine neden olan en önemli genidir. Duran N. ve ark (276) fenotipik yöntemle 159 KNS izolatının 61'inde eritromisin, 87'sinde klindamisin direnci saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise izolatlarımızın %80'inde eritromisin ve %54'ünde klindamisin direnci saptanmıştır. Demirci M. ve ark (277) metisiline dirençli 58 KNS suşunun gentamisine %56.8, tetrasikline %68.9, klindamisine %60.3, siprofloksasine %43.1, trimetoprim-sülfametoksazole %41.3 oranlarında direnç geliştirdiğini belirtmişlerdir. Bulgularımızın uyduğu dikkat çekmektedir

Linezolid oksazolidinon grubundan bir antibiyotiktir. ABD'de 761 KNS izolatında %98.4 oranda duyarlılık tespit edilmiştir. Linezolide dirençli olduğu belirlenen KNS izolatı yok denecek kadar azdır. Bu çalışmamızda da tüm izolatlarımız linezolid'e duyarlı bulunmuştur. Tetrasiklin direnci incelendiğinde kaynaklarda KNS izolatlarında %35-%70 arasında belirtilen direnç oranları yer almaktadır. Almanyada yapılan bir çalışmada sağlıklı kişilerden alınan örneklerde üretilen KNS izolatlarında %39 oranında tetrasiklin direnci gösterilmiştir. Demirci M. ve ark (277) %68.9 oranında, Köksal F ve ark (9) %60 oranında tetrasiklin direnci belirtmişlerdir. Bizim izolatlarımızda saptadığımız %44 oranındaki tetrasiklin direnci kaynaklardaki direnç oranları ile uyumludur.

Rifampisin özellikle antibiofilm etkinliği nedeniyle inatçı KNS infeksiyonlarının tedavisinde diğer antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılabilir. Trimetoprim-sülfametoksazole ise Demirci M. ve ark (277) %41 oranında direnç belirtmiştir. Çalışmamızda saptadığımız %66 oranındaki direnç ülkemizden Köksal F. ve ark (9) 2007 yılında belirttiği %60 oranındaki dirençle uyum göstermektedir.

Fluorokinolonlar günümüzde ancak yüksek dozlarda uygulandığında KNS'lere etkili bulunmuşlardır. Köksal F ve ark (9) %67 oranında, Demirci ve ark (277) %43 oranında

siprofloksasin direnci bildirmişlerdir. Bu oran bizim saptadığımız %64 kinolon direnç oranıyla uyumludur

Çoklu antibiyotik direnci gösteren KNS'lerin artması tedaviye glikopeptid antibiyotiklerin girişini sağlamıştır. Vankomisin ve Teicoplanin bu grupta en çok kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak son yıllarda glikopeptid antibiyotiklere de direnç gösterebilen suşlar ortaya çıkmaktadır. Bakterinin duvar yapısında kalınlaşma ve peptidoglikan bağlarında gevşeme ayrıca antibiyotiğin D alanin D alanin bölgesinde yoğunluk artışı ve aktif madde birikiminin bu dirence neden olduğu belirtilmekte ve 2012'de 150 KNS ile yapılan bir çalışmada vankomisin direncine sadece bir suşta rastlanmıştır (278,279). Bunun dışında, yurt dışı pek çok çalışmada ve ülkemizden de bildirilen verilerde glikopeptid antibiyotiklere dirençli suşların bulunmadığı vurgulanmaktadır (280, 281). Bizim çalışmamızda da glikopeptid antibiyotiklerden vankomisine ve teikoplanine dirençli olan suş rastlanmamıştır.

Araştırmamızda yer alan KNS türleri arasında en yüksek direnç *S. haemolyticus* izolatlarında rastlanmıştır. İzole edilen 19 *S. haemolyticus* suşunun 18 (%94,73)'inde penisilin direnci, 18 (%94,73)'inde siprofloksasin, 16(%84,21)'sında metisilin ve trimetoprim-sulfametoksazol, 15 (%78,94)'inde eritromisin, 14 (%73,68)'ünde rifampisin, 13 (%68,42)'ünde klindamisin, 6 (%31,57)'sında tetrasiklin direnci belirlenmiştir. Bu izolatlarda en yüksek direnç oranının %94,73 ile penisiline ve siprofloksasin'e karşı saptanmıştır. Bulgumuza benzer şekilde Öcal D. ve ark (273) *S. haemolyticus* izolatlarında antimikrobiyal direncin diğer KNS izolatlarına göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle bu suşlarda belirttikleri %84.4 oranındaki trimetoprim-sülfametoksazol direnci bizim bulgumuzla tamamen örtüşmektedir. Diğer antibiyotiklerde ise direnç oranları bizim verilerimize yakın çıkmıştır.

Biyofilm oluşumu KNS'lerde en önemli virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Biyofilm içinde bulunan bakterilerin biyofilmden ayrılan planktonik bakterilere göre antibiyotiklere çok daha dirençli olduğu belirtilmektedir. Araştırmamızda biyofilm oluşumunun saptanmasında altın standart olarak kabul edilen *icaA* ve *icaD* genlerinin tespiti ile izolatlarımızın %98 inde biyofilm oluşturma özelliğinin bulunduğu görülmüştür. Bu izolatların % 86.7'sinde (85/98) çoklu antibiyotik direnci olduğu belirlenmiştir. Nayak N. ve ark (282) keratitli olgulardan ürettikleri 132 *S. epidermidis* izolatında KKA ile %43.2 oranında slime pozitifliği saptamışlardır. Araştırmamızda KKA da %52 oranında slime pozitifliği saptadık bu oran %43'lük orana yakındır. Bu verilere karşıt olarak Foka A. ve ark (283) pre-term yenidoğanlara ait örneklerde 132 metisilin dirençli KNS izolatında %89

oranında slime pozitifliği saptamışlardır. Preterm bebeklerde saptanan bu yüksek oran slime pozitifliği ile invazif suşlar arasındaki ilişkinin sorgulanmasına neden olmaktadır.

Biyofilm oluşumu sıklıkla *S. epidermidis*'te gösterilmiştir. Diğer stafiokok türlerinde biyofilm genlerinin araştırılmasına yönelik çalışmalara son yıllarda ağırlık verilmiştir. Ülkemizden Köksal F. ve ark (9) *S. epidermidis* izolatlarında %71, *S. haemolyticus* izolatlarında %35, *S. hominis* izolatlarında %26, *S. lugdunensis* izolatlarında %22, *S. capitis*'te % 7 ve *S. xylosum*'ta %10 slime pozitifliği belirlemişlerdir. Manandhar S. ve ark (270) 2021 yılında yaptıkları çalışmada *icaA* varlığını gösterdikleri KNS izolatlarının %23.6 'sının *S. epidermidis*, %12.5'inin *S. saprophyticus*, %8.3'ünün *S. haemolyticus*, %20 sinin *S. hominis*, %16.7 sinin *S. capitis* olduğunu belirtmişlerdir. Bizim araştırmamızda *icaA* ve *icaD* genlerini saptadığımız KNS türleri *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatlarımızda %100, *S. haemolyticus* izolatının ise %94 tür. Bu izolatların aynı odaktan belirli aralıklarla gönderilen kültürlerde tekrar ederek üreyen ve benzer antibiyotik direnç profiline sahip izolatlar olması ayrıca çoklu ilaç direnci göstermeleri kontaminant değil de etken olabilecekleri ihtimalini güçlendirmektedir.

Araştırmamızın sınırlılıkları değerlendirildiğinde, incelenen örnek türünün kateter cerahat ve doku parçaları ile sınırlandırılmayıp kan, idrar, vücut sıvıları gibi örnekleri de dahil ederek daha kapsamlı verilere ulaşmak mümkün olabilirdi. Ayrıca araştırmamızda virülans faktörlerini *icaA*, *icaD* ve IS256 ile sınırlı tutmayıp daha kapsamlı bir araştırma yapılabilirdi. İzolatlarımızı saklayıp ileride yağılacak olan daha geniş kapsamlı araştırmalara dahil edilmeleri planlanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinde yatan hastalara ait kateter, cerahat ve doku örneklerinde infeksiyon etkeni olarak izole edilen KNS'lerin tür düzeyinde tanımlanarak, başta metisilin direnci olmak üzere, antimikrobiyal direnç durumlarının ve biyofilm oluşturma özelliklerinin araştırılması, elde edilen sonuçlar doğrultusunda, izolatların antibiyotik direnç profilleri ve biyofilm oluşturabilme özellikleri arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1. Koagülaz negatif stafilokok türlerimizin *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* olarak tanımlandığı, bu türler arasında *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*'in örneklerden en sık üretilen türler olduğu ve türler arasından denenen antibiyotiklere en fazla direnç gösteren türün *S. haemolyticus* olduğu saptanmıştır. Tüm türlerde eritromisin direncinin en yüksek orandaki direnç olduğu belirlenmiştir.

2. Koagülaz negatif stafiokok suşlarımızın 64 (%81)'i Metisiline dirençli 36'sı metisiline duyarlı bulunmuştur. Metisiline dirençli izolatlar arasında en yüksek direnç oranı *S. haemolyticus* (%94.7), *S. hominis* (%83.3) ve *S. epidermidis* (%75.9) izolatlarımızda görülmüştür.

3. Metisilin direnci saptanan 64 KNS izolatında *mecA* pozitifliği de gösterilmiştir ancak bu izolatlar dışında 7 (%12,9) *S. epidermidis* izolatında, 2 (%10,5) *S. haemolyticus* izolatında, 4 (%27,7) *S. hominis* izolatında, 2 (%100) *S. warneri*, 1 (%100) *S. saprophyticus* ve 1 (%100) *S. simulans* izolatında Sefoksitin duyarlılığı ile birlikte MecA pozitifliği saptanmıştır.

4. Tüm *S. epidermidis* izolatlarında (54 izolat), tüm *S. haemolyticus* izolatlarında (19 izolat) ve 17 *S. hominis* izolatında *icaA*/*icaD* pozitifliği gözlenmiştir. *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatlarında KKA'da bulunan slime pozitif izolat sayısı ile *icaA* ve *icaD* genlerini taşıyan izolat sayı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$)

5. IS256 ise *icaA* ve *icaD* genleriyle beraber tüm *S. haemolyticus* ve 15 *S. hominis* izolatlarında bulunmuştur ancak *icaA* ve *icaD* genleri bulunan 54 *S. epidermidis* izolatının yalnızca 40'inde görülmüştür.

6. Çoklu ilaç direnci saptanan *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* izolatının %100 ünde, *S. hominis* izolatının ise %94.1'inde *icaA* ve *icaD* pozitifliği saptanmıştır. Çoklu antibiyotik direnci gösteren toplam 85 KNS izolatının 84 (%98.8)'ünde *icaA* ve *icaD* genleri bulunmuştur.

7. IS256 biyofilm oluşturan izolatların %83.5 inde saptanmıştır

Klinik örneklerden üretilen çoklu antibiyotik direncine sahip KNS'lerin biyofilmler içinde bulunan veya biyofilm oluşturma gücüne sahip olan stafilokoklar olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. KNS'ler gibi biyofilm oluşturan bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yaşanan güçlükler nedeniyle yeni antibiyofilm ajanların geliştirilmesi yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Becker, K., Heilmann, C., Peters, G., 2014, Coagulase-negative staphylococci, *Clin Microbiol Rev.*, 27(4), 870-926.
2. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., Genus, I.V., 1986, *Staphylococcus*, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G. (Eds), Volume 2, Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
3. França, A., Gaio, V., Lopes, N., Melo, L.D.R., 2021, Virulence Factors in Coagulase-Negative Staphylococci, *Pathogens*, 10 (2), 170.
4. Peters, G., Locci, R., Pulverer, G., 1982, Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters, *J. Infect.Dis.*, 146, 479-482.
5. Zheng, Y., He, L., Asiamah, T.K., Otto, M., Colonization of medical devices by staphylococci, *Environ. Microbiol.*, 20, 3141-3153.
6. Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., et al., 2018, Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis, *Infect Drug Resist.*, 11, 1645-1658.
7. Cerca, N., Martins, S., Cerca, F., Jefferson, K.K., Pier, G.B., Oliveira, R., Azeredo, J., 2005, Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry, *J. Antimicrob. Chemother.*, 56, 331-336.
8. Ryder, V.J., Chopra, I., O'Neill, A.J., 2012, Increased Mutability of Staphylococci in Biofilms as Consequence of Oxidative Stress. *PLoS ONE*, 7, e47695.
9. Koksall, F., Yasar, H., Samasti, M., 2009, Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey, *Microbiol Res.*, 164(4), 404-10.
10. Azap, Ö.K., Arslan, H., Timurkaynak, F., Yapar, G., Oruç, E., Gair, Ü., 2005, Incidence of inducible clindamycin resistance in staphylococci: first results from Turkey, *Clin. Microbiol Infect.*, 11(7), 582-584.
11. Morgenstern, M., Post, V., Erichsen, C., Hungerer, S., Bühren, V., Militz, M., Richards, R.G., Moriarty, T.F., 2016, Biofilm formation increases treatment failure in Staphylococcus epidermidis device-related osteomyelitis of the lower extremity in human patients, *J. Orthop. Res.*, 34, 1905-1913.
12. Otto, M., 2012, Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections, *Semin Immunopathol.*, 34(2), 201-14.
13. Piette, A., Verschraegen, G., 2009, Role of coagulase-negative staphylococci in human disease, *Vet. Microbiol.*, 134, 45-54.
14. Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S.M., Seifert, H., Wenzel, R.P., Edmond, M.B., 2004, Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.*, 39, 309-317.
15. Sievert, D.M., Ricks, P., Kallen, A.J., Edwards, J.R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A., Limbago, B., Fridkin, S., 2013, Antimicrobial resistant pathogens associated with healthcare associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 14, 1-14.
16. Asante, J., Hetsa, A.B., Amoako, D.G., Abia, A.L.K., Bester, L.A., Essac, S.Y., 2021, Multidrug-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Bloodstream in

- the uMgungundlovu District of KwaZulu-Natal Province in South Africa: Emerging Pathogens. *Antibiotics (Basel)*, 18, 10(2), 198.
17. Cui, J., Liang, Z., Mo, Z., Zhang, J., 2019, The species distribution, antimicrobial resistance and risk factors for poor outcome of coagulase-negative staphylococci bacteraemia in China. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.*, 8, 65.
 18. Arda, B., 1997, *Koagülaz negatif stafilokoklarda slime faktörünün araştırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi*, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi.
 19. Dündar, V., Dündar, D.Ö., 2008, *Stafilokok enfeksiyonları*, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, In: Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M. (Ed.), 3. Basım, Cilt 2, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, s. 2065-2076.
 20. Tünger, A., 2004, *Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri enfeksiyonları*, Staphylococcus aureus: mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji, In: Ulusoy, S., Usluer, G., Ünal, S. (Ed.), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s. 9–22.
 21. Bilgehan, H., 2000, *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları 10. Basım*, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir, s. 239–268.
 22. Kapuğası, A., Ağalar, C., Diri, C., Apaydın, N., Türkyılmaz, R., 1997, Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarının antibiyotik direnç oranlarının değerlendirilmesi, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 50 (2), 105-108.
 23. Tefvik, C., 1999, *Staphylococcus*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, In: Ustaçelebi, Ş.G. (Ed.), Güneş Kitapevi, Ankara, s.339– 347.
 24. Biçer, A.T., 2009, *Hastane izolatu Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif staphylococcus suşlarında metisilin direncinin farklı yöntemlerle araştırılması*, Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi.
 25. Güneş, H., 2008, *Metisiline dirençli stafilokoklarda glikopeptid antibiyotiklere duyarlılık durumunun araştırılması*, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
 26. Gökırmak, F., 1994, *Staphylococcus*, Klinik Mikrobiyoloji 2.Baskı, In: Turgay, K.K. (Ed.), Güneş&Nobel Tıp Kitapevleri, Bursa, s. 5-13.
 27. Moreillon, P., Que, Y.A., Glauser, M.P., 2005, *Staphylococcus aureus (including staphylococcal toxic shock)*, Principles and Practice of Infectious Diseases 6th Edition, In: Mandell, G.L., Bennett, J.H., Dolin, R. (Ed.), Elsevier Churchill Livingstone, USA, pp. 2321.
 28. Mathema, B., Mediavilla, J.R., Chen, L., Kreiswirth, B.N., 2009, *Evolution and taxonomy of Staphylococci*, Staphylococci in Human Disease, In: Crossley, K.B., Jefferson, K.K., Archer, G.L., Fowler, V.G. (Eds.), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 31-64.
 29. Wang, C., Li, M., Dong, D., Wang, J., Ren, J., Otto, M., Gao, Q., 2007, Role of ClpP in biofilm formation and virulence of Staphylococcus epidermidis, *Microbes Infect.*, 9, 1376-1383.
 30. Reichmann, N.T., Cassona, C.P., Gründling, A., 2013, Revised mechanism of D-alanine incorporation into cell wall polymers in Gram-positive bacteria. *Microbiology*, 159, 1868-1877.
 31. Peschel, A., Otto, M., Jack, R.W., Kalbacher, H., Jung, G., Götz, F., 1999, Inactivation of the dlt operon in Staphylococcus aureus confers sensitivity to defensins, protegrins, and other antimicrobial peptides, *J. Biol. Chem.*, 274, 8405-8410.
 32. Gross, M., Cramton, S.E., Götz, F., Peschel, A., 2001, Key role of teichoic acid net charge in Staphylococcus aureus colonization of artificial surfaces, *Infect. Immun.*, 69, 3423-3426.

33. Wang, X.M., Noble, L., Kreiswirth, B.N., Eisner, W., McClements, W., Jansen, K.U., Anderson, A.S., 2003, Evaluation of a multilocus sequence typing system for *Staphylococcus epidermidis*, *J. Med. Microbiol.*, 52, 989-998.
34. Kloos, W.E., Musselwhite, M.S., 1975, Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin., *Appl. Microbiol.*, 30, 381-385.
35. Becker, K., Both, A., Weißelberg, S., Heilmann, C., Rohde, H., 2020, Emergence of coagulase-negative staphylococci, *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 18 (4), 349-366.
36. Natsis, N.E., Cohen, P.R., 2018, Coagulase-negative staphylococcus skin and soft tissue infections, *Am. J. Clin. Dermatol.*, 19, 671-677.
37. Rogers, K.L., Fey, P.D., Rupp, M.E., 2009, Coagulase-negative staphylococcal infections, *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, 23, 73-98.
38. Heilmann, C., Ziebuhr, W., Becker, K., 2019, Are coagulase-negative staphylococci virulent? *Clin. Microbiol. Infect.*, 25, 1071-1080.
39. Widerström, M., Wiström, J., Sjöstedt, A., Monsen, T., 2012, Coagulase-negative staphylococci: Update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus*, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 31, 7-20.
40. Bilgehan, H., 2002, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı 3. Basım*, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir.
41. Gülay, Z., 2004, *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*, Koagülaz-negatif stafilkoklar: mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez, In: Ulusoy, S., Usluer, G., Ünal, S., (Ed.), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s. 73-101.
42. Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procor, G., Schreckenberger, P., Woods, G., 2006, *Koneman's Color atlas and textbook of diagnostic microbiology Sixth Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, New York, pp. 624-662.
43. Archer, G.L., Climo, M.W., 2005, *Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative staphylococci*, Principles and Practice of Infectious Diseases 6th Edition, In: Mandell, G.L., Bennett, J.H., Dolin, R. (Ed.), Elsevier Churchill Livingstone, USA, pp. 2352-2358.
44. Akan, A.Ö., 2006, Koagülaz Negatif Stafilkoklar, *XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı*, 12-16 Eylül, Belek-Antalya, Türk Mikrobiyoloji Kongresi, s. 97.
45. Özkuyumcu, C., 2009, *Staphylococcus*, Hacetepe Mikrobiyoloji serisi-1, Klinik Bakteriyoloji El Kitabı, Güneş Tıp Kitapevi, Ankara, s. 43-50.
46. Le, K.Y., Park, M.D., Otto, M., 2018, Immune Evasion Mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* Biofilm Infection, *Front Microbiol.*, 9, 359.
47. Diekema, D.J., Pfaller, M.A., Schmitz, F.J., Smayevsky, J., Bell, J., Jones, R.N., Beach, M., 2001, Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, *Clin Infect Dis.*, 32 (2), S114-132.
48. Chambers, H.F., Hartman, B.J., Tomasz, A., 1985, Increased amounts of a novel penicillin-binding protein in a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to nafcillin, *J Clin Invest.*, 76(1), 325-331.
49. Rogers, K.L., Fey, P.D., Rupp, M.E., 2009, Coagulase-negative staphylococcal infections, *Infect Dis Clin North Am.*, 23(1), 73-98.

50. Jones, R.N., 2006, Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains, *Clin Infect Dis.*, 42(1), S13–24.
51. Torun, M.M., Bahar, H., Demirci, M., Altaş, K., Bağdatlı, Y., Kocazeybek, B., Kapi, M., Hiramatsu, K., 2005, Two heterogeneously vancomycin-intermediate clinical isolates of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital: brief report of a surveillance study, *Int J Antimicrob Agents.*, 26(6), 508-10.
52. Falcone, M., Campanile, F., Ganella, M., Borbone, S., Stefani, S., Venditti, M., 2007, *Staphylococcus haemolyticus* endocarditis clinical and microbiologic analysis of 4 cases, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 57, 325-331.
53. Kristo'f, K., Kocsis, E., Szabo', D., Kardos, S., Cser, V., Nagy, K., Hermann, P., Rozgonyi, F., 2011, Significance of methicillin–teicoplanin resistant *Staphylococcus haemolyticus* in bloodstream infections in patients of the Semmelweis University hospitals in Hungary, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 30, 691–699.
54. Otto, M., 2004, Virulence factors of coagulase-negative staphylococci, *Front Biosci.*, 9, 841–863.
55. Rodri'guez-Aranda, A., Daskalaki, M., Villar, J., Sanz, F., Otero, J.R., Fernando Chaves, F., 2009, Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 63, 398–402.
56. Krzymińska, S., Szczuka, E., Kaznowski, A., 2012, *Staphylococcus haemolyticus* strains target mitochondria and induce caspase-dependent apoptosis of macrophages, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 102 (4), 611-20.
57. Mack, D., Rohde, H., Harris, L.G., Davies, A.P., Horstkotte, M.A., Knobloch, J.K.M., 2006, Biofilm formation in medical device-related infection, *Int J Artif Organs* 29, 343–359.
58. Rodhe, H., Mack, D., Christner, M., Burdelski, C.H., Franke, G., Knobloch, J.K.M., 2006, Pathogenesis of staphylococcal device-related infections: from basic science to new diagnostic, therapeutic and prophylactic approaches, *Rev Med Microbiol.*, 17, 45-54.
59. Froggatt, J.W., Johnston, J.L., Galetto, D.W., Archer, G.L., 1989, Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*, *Antimicrob Agents Chemother*, 33(4), 460-6.
60. Ronald, A., 2002, The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am J Med.*, 113 (1A), 14S-19S.
61. Gatermann, S., Kreft, B., Marre, R., Wanner, G., 1992, Identification and characterization of a surface-associated protein (Ssp) of *Staphylococcus saprophyticus*, *Infect Immun.*, 60(3), 1055-60.
62. Gatermann, S., John, J., Marre, R., 1989, *Staphylococcus saprophyticus* urease: characterization and contribution to uropathogenicity in unobstructed urinary tract infection of rats, *Infect Immun.*, 57, 110-116.
63. Kahlmeter, G., ECO.SENS., 2003, An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project, *J Antimicrob Chemother.*, 51(1), 69-76.

64. Freney, J., Brun, Y., Bes, M., Meugnier, H., Grimont, F., Grimont, P.A., Nervi, C., Fleurette, J., 1988, *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., Two Species from Human Clinical Specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38, 168-172.
65. Choi, S.H., Chung, J.W., Lee, E.J., Kim, T.H., Lee, M.S., Kang, J.M., Song, E.H., Jun, J.B., Kim, M.N., Kim, Y.S., Woo, J.H., Choi, S.H., 2010, Incidence, characteristics, and outcomes of *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia, *J Clin Microbiol.*, 48 (9), 3346-9.
66. Shah, N.B., Osmon, D.R., Fadel, H., Patel, R., Kohner, P.C., Steckelberg, J.M., Mabry, T., Berbari, E.F., 2010, Laboratory and clinical characteristics of *Staphylococcus lugdunensis* prosthetic joint infections, *J Clin Microbiol.*, 48(5), 1600-3
67. Patel, R., Piper, K.E., Rouse, M.S., Uhl, J.R., Cockerill, F.R.3rd., Steckelberg, JM., 2000, Frequency of isolation of *Staphylococcus lugdunensis* among staphylococcal isolates causing endocarditis: a 20-year experience. *J Clin Microbiol.*, 38(11), 4262-3.
68. Sampathkumar, P., Osmon, D. R., Cockerill, F. R.3rd., 2000, Prosthetic joint infection due to *Staphylococcus lugdunensis*, *Mayo Clinic Proc.*, 75, 511–512.
69. Elliott, S.P., Yogev, R., Shulman, S.T., 2001, *Staphylococcus lugdunensis*: an emerging cause of ventriculoperitoneal shunt infections, *Pediatr Neurosurg*, 35, 128-30.
70. Sotutu, V., Carapetis, J., Wilkinson, J., Davis, A., Curtis, N., 2002, The “surreptitious *Staphylococcus*”: *Staphylococcus lugdunensis* endocarditis in a child, *Pediatr Infect Dis J.*, 21, 984-6.
71. Tristan, A., Lina, G., Etienne, J., Vandenesch, F., 2006, *Biology and Pathogenicity of Staphylococci Other than Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis*, Gram-Positive Pathogens, In: eds Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Rood, J.I., (ed.), Chapter 47, ASM Press, Washington, USA, pp.572-586.
72. Ebright, J.R., Penugonda, N., Brown, W., 2004, Clinical experience with *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia: a retrospective analysis, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 48, 17-21.
73. Hellbacher, C., Törnqvist, E., Söderquist, B., 2006, *Staphylococcus lugdunensis*: clinical spectrum, antibiotic susceptibility, and phenotypic and genotypic patterns of 39 isolates, *Clin Microbiol Infect.*, 12, 43-9.
74. Freney, J., Brun, Y., Bes, M., Meugnier, H., Grimont, F., Grimont, P.A., Nervi, C., Fleurette, J., 1988, *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., Two Species from Human Clinical Specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38, 168-172.
75. Ozturkeri, H., Kocabeyoglu, O., Yergok, Y.Z., Kosan, E., Yenen, O.S., Keskin, K., 1994, Distribution of coagulase-negative staphylococci, including the newly described species *Staphylococcus schleiferi*, in nosocomial and community acquired urinary tract infections, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 13, 1076-9.
76. Leung, M.J., Nuttall, N., Mazur, M., Taddei, T.L., McComish, M., Pearman, J.W., 1999, Case of *Staphylococcus schleiferi* endocarditis and a simple scheme to identify clumping factor-positive staphylococci, *J Clin Microbiol*, 37, 3353-6.
77. Celard, M., Vandenesch, F., Darbas, H., Grando, J., Jean-Pierre, H., Kirkorian, G., Etienne J., 1997, Pacemaker infection caused by *Staphylococcus schleiferi*, a member of the human preaxillary flora: four case reports, *Clin Infect Dis.*, 24 (5),1014-5.

78. Vandenesch, F., Lebeau, C., Bes, M., Lina, G., Lina, B., Greenland, T., Benito, Y., Brun, Y., Fleurette, J., Etienne, J., 1994, Clotting activity in *Staphylococcus schleiferi* subspecies from human patients, *J Clin Microbiol.*, 32, 388-92.
79. Becker, K., Heilmann, C., Peters, G., 2014, Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.*, 27(4), 870-926.
80. Szczuka, E., Makowska, N., Bosacka, K., Słotwińska, A., Kaznowski, A., 2016, Molecular basis of resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins in *Staphylococcus hominis* strains isolated from clinical specimens, *Folia Microbiol (Praha)*., 61(2):143-7.
81. Legius, B., Landuyt, K.V., Verschueren, P., Westhovens, R., 2012, Septic arthritis due to *Staphylococcus warneri*: a diagnostic challenge, *Open Rheumatol J.*, 6:310-1.
82. von Eiff, C., Arciola, C.R., Montanaro, L., Becker, K., Campoccia, D., 2006, Emerging *Staphylococcus* species as new pathogens in implant infections, *Int J Artif Organs.*, 29(4):360-7.
83. Cerca, F., França, Â., Pérez-Cabezas, B., Carvalhais, V., Ribeiro, A., Azeredo, J., Pier, G., Cerca, N., Vilanova, M., 2014, Dormant bacteria within *Staphylococcus epidermidis* biofilms have low inflammatory properties and maintain tolerance to vancomycin and penicillin after entering planktonic growth, *J Med Microbiol.*, 63(Pt 10), 1274-1283.
84. Yin, L.Y., Lazzarini, L., Li, F., Stevens, C.M., Calhoun, J.H., 2005, Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model, *J Antimicrob Chemother.*, 55(6), 995-1002.
85. Krishnan, S., Haglund, L., Ashfaq, A., Leist, P., Roat, T., 1996, Prosthetic valve endocarditis due to *Staphylococcus saccharolyticus*, *Clin Infect Dis.*, 22, 722-723.
86. Steinbrueckner, B., Singh, S., Freney, J., Kuhnert, P., Pelz, K., Aufenanger, J., 2001, Facing a mysterious hospital outbreak of bacteraemia due to *Staphylococcus saccharolyticus*, *J Hosp Infect.*, 49, 305-307.
87. Seng, P., Barbe, M., Pinelli, P.O., Gouriet, F., Drancourt, M., Minebois, A., Cellier, N., Lechiche, C., Asencio, G., Lavigne, J.P., Sotto, A., Stein, A., 2014, *Staphylococcus caprae* bone and joint infections: a re-emerging infection? *Clin Microbiol Infect.*, 20(12), 1052-1058.
88. Mazur, E., Żychowski, P., Juda, M., Korona-Głowniak, I., Niedzielska, G., Malm, A., Koziół-Montewka, M., 2017, First report of a *Staphylococcus caprae* isolated from middle ear fluid of an infant with recurrent acute otitis media, *Ann Agric Environ Med.*, 24(3), 357-359.
89. Shuttleworth, R., Behme, R.J., McNabb, A., Colby, W.D., 1997, Human isolates of *Staphylococcus caprae*: association with bone and joint infections, *J Clin Microbiol.*, 35(10), 2537-41.
90. Vandenesch, F., Eykyn, S.J., Bes, M., Meugnier, H., Fleurette, J., Etienne, J., 1995, Identification and ribotypes of *Staphylococcus caprae* isolates isolated as human pathogens and from goat milk, *J Clin Microbiol.*, 33(4), 888-92.
91. Kato, J., Mori, T., Sugita, K., Murata, M., Ono, Y., Yamane, A., Shimizu, T., Okamoto, S., 2010, Central line-associated bacteremia caused by drug-resistant *Staphylococcus caprae* after chemotherapy for acute myelogenous leukemia, *Int J Hematol.*, 91(5), 912-3.

92. Takemura, K., Takagi, S., Baba, T., Goto, Y., Nonogi, H., 2000, A 72-year-old man with recurrent sepsis due to *Staphylococcus caprae*, *J Cardiol.*, 36(4), 269-71.
93. Henry, C.R., Schwartz, S.G., Flynn, H.W.Jr., 2014, Endophthalmitis following pars plana vitrectomy for vitreous floaters, *Clin Ophthalmol.*, 8, 1649-53.
94. Blanc, V., Picaud, J., Legros, E., Bes, M., Etienne, J., Moatti, D., Raynaud, M.F., 1999, Infection sur prothèse totale de hanche à *Staphylococcus caprae*. Cas clinique et revue de la littérature [Infection after total hip replacement by *Staphylococcus caprae*. Case report and review of the literature]., *Pathol Biol (Paris)*., 47(5), 409-13.
95. Elsner, H.A., Dahmen, G.P., Laufs, R., Mack, D., 1998, Intra-articular empyema due to *Staphylococcus caprae* following arthroscopic cruciate ligament repair, *J Infect.*, 37, 66–67.
96. d'Ersu, J., Aubin, G.G., Mercier, P., Nicollet, P., Bémer, P., Corvec, S., 2016, Characterization of *Staphylococcus caprae* Clinical Isolates Involved in Human Bone and Joint Infections, Compared with Goat Mastitis Isolates, *J Clin Microbiol.*, 54(1), 106-13.
97. Benedetti, P., Pellizzer, G., Furlan, F., Nicolini, R., Rassa, M., Sefton, A., 2008, *Staphylococcus caprae* meningitis following intraspinal device infection, *J Med Microbiol.*, 57(Pt 7), 904–906.
98. Allignet, J., Galdbart, J.O., Morvan, A., et al., 1999, Tracking adhesion factors in *Staphylococcus caprae* strains responsible for human bone infections following implantation of orthopaedic material, *Microbiology*, 145 (Pt 8), 2033–2042.
99. Allignet, J., Aubert, S., Dyke, K.G., El Solh, N., 2001, *Staphylococcus caprae* strains carry determinants known to be involved in pathogenicity: a gene encoding an autolysin-binding fibronectin and the *ica* operon involved in biofilm formation, *Infect Immun.*, 69, 712–718.
100. Chesneau, O., Morvan, A., Grimont, F., Labischinski, H., el Solh, N., 1993, *Staphylococcus pasteurii* sp. nov., isolated from human, animal, and food specimens, *Int J Syst Bacteriol.*, 43, 237-44.
101. Faria, C., Vaz-Moreira, I., Serapicos, E., Nunes, O.C., Manaia, C.M., 2009, Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water, *Sci Total Environ.*, 407, 3876-82.
102. Rantsiou, K., Iacumin, L., Cantoni, C., Comi, G., Cocolin, L., 2005, Ecology and characterization by molecular methods of *Staphylococcus* species isolated from fresh sausages, *Int J Food Microbiol.*, 97, 277-84.
103. Regecova, I., Pipova, M., Jevinova, P., Marušková, K., Kmet', V., Popelka, P., 2014, Species identification and antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from the meat of sea fish, *J Food Sci.*, 79, M898-902.
104. Bhargava, K., Zhang, Y., 2014, Characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) in retail meat, *Food Microbiol.*, 42, 56-60.
105. Madsen, A.M., Moslehi-Jenabian, S., Islam, M.Z., Frankel, M., Spilak, M., Frederiksen, M.W., 2018, Concentrations of *Staphylococcus* species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and *S. aureus*-positive occupants, *Environ Res.*, 160, 282-91.
106. Bezjian, M., Bezjian, M., 2014, American kestrel (*Falco sparverius*) fledgling with severe bilateral periorbital swelling and infection with *Mycoplasma buteonis*, *Avibacterium (Pasteurella) gallinarum*, and *Staphylococcus pasteurii*, *J Avian Med Surg.*, 28, 127-31.

107. Ramnarain, J., Yoon, J., Runnegar, N., 2019, *Staphylococcus pasteurii* infective endocarditis: A case report, *IDCases*, 18, e00656.
108. Savini, V., Catavittello, C., Bianco, A., Balbinot, A., D'Antonio, D., 2009, Epidemiology, pathogenicity and emerging resistances in *Staphylococcus pasteurii*: from mammals and lampreys, to man, *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.*, 4 (2), 123-9.
109. Kloos, W. E., Zimmerman, R.J., Smith, R.F., 1976, Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin, *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, 53–59.
110. Kessie, G., Ettayebi, M., Haddad, A.M., Shibl, A.M., al-Shammery, F.J., Tawfik, A.F., al-Ahdal, M.N., 1998, Plasmid profile and antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci isolated from polluted water, *J. Appl. Microbiol.*, 84, 417-422.
111. Planchon, S., Gaillard-Martinie, B., Dordet-Frisoni, E., Bellon-Fontaine, M.N., Leroy, S., Labadie, J., Hebraud, M., Talon, R., 2006, Formation of biofilm by *Staphylococcus xylosum*, *Int. J. Food Microbiol.*, 109, 88–96.
112. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., 1986, *Genus IV. Staphylococcus*, In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Williams & Wilkins, Baltimore, p. 1013– 1035.
113. Talon, R., Leroy-Se'trin, S., Fadda, S., 2002, *Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products*, In: Toldra, F. (ed.), *Handbook of research advances in quality of meat and meat products*, Research Signpost, Kerala, India, p. 175–191.
114. Siqueira, J.F.Jr., Lima, K.C., 2002, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus xylosum* in a secondary root canal infection with persistent symptoms: a case report, *Aust. Endod. J.* 28 (2), 61–63.
115. Won, Y.S., Kwon, H.J., Oh, G.T., Kim, B.H., Lee, C.H., Park, Y.H., Hyun, B.H., Choi, Y.K., 2002, Identification of *Staphylococcus xylosum* isolated from C57BL/6J-Nos2tm1Lau mice with dermatitis, *Microbiol. Immunol.*, 46, 629–632.
116. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., 1975, Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin II. Descriptions of Four New Species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*, *Int J Syst Bacteriol.*, 25(1), 62-79.
117. Bannerman, T.L., Kloos, W.E., 1991, *Staphylococcus capitis* subsp. *ureolyticus* subsp. nov. from human skin, *Int J Syst Bacteriol.*, 41(1), 144-7.
118. Rasigade, J.P., Raulin, O., Picaud, J.C., Tellini, C., Bes, M., Grando, J., Ben Saïd, M., Claris, O., Etienne, J., Tigaud, S., Laurent, F., 2012, Methicillin-resistant *Staphylococcus capitis* with reduced vancomycin susceptibility causes late-onset sepsis in intensive care neonates, *PLoS One*, 7(2), e31548.
119. Schleifer, K.H., Kloos, W.E., 1975, Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin I. Amended Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosum*, *Int J Syst Bacteriol.*, 25, 50-61.
120. Kloos, W.E., Wolfshohl, J.F., 1991, *Staphylococcus cohnii* subspecies: *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii* subsp. nov. and *Staphylococcus cohnii* subsp. *ureolyticus* subsp. nov., *Int J Syst Bacteriol.*, 41, 284-289.

121. Soldera, J., Nedel, W.L., Cardoso, P.R., d'Azevedo, P.A., 2013, Bacteremia due to *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus* caused by infected pressure ulcer: case report and review of the literature. *Sao Paulo Med J.*, 131(1), 59-61.
122. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., 1983, *Staphylococcus auricularis* sp. nov.: an Inhabitant of the Human External Ear, *Int J. Syst. and Evol. Microbiol.*, 33(1), 9-14.
123. Hoffman, D.J., Brown, G.D., Lombardo, F.A., 2007, Early-onset sepsis with *Staphylococcus auricularis* in an extremely low-birth weight infant-an uncommon pathogen, *J Perinatol.*, 27(8), 519-20.
124. Rosenstein, R., Götz, F., 2013, What distinguishes highly pathogenic staphylococci from medium and non-pathogenic? *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 358, 33-89.
125. O'Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R., 2000, Biofilm formation as microbial development, *Annu Rev Microbiol.*, 54, 49-79.
126. Uludağ Altun, H., Şener, B., 2008, Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Med. J.*, 39, 82-88.
127. Fux, C.A., Costerton, J.W., Stewart, P.S., Stoodley, P., 2005, Survival strategies of infectious biofilms, *Trens Microbiol.*, 13, 34-40.
128. Blot, F., Nitenberg, G., Chachaty, E., Raynard, B., Germann, N., Antoun, S., Laplanche, A., Brun-Buisson, C., Tancrede, C., 1999, Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub - blood versus peripheral - blood cultures, *Lancet*, 354 (9184), 1071-1077.
129. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L., Beachey, E.H., Adherence of Slime Producing Strains of *Staphylococcus epidermidis* to Smooth Surfaces. *Infect Immun.*, 37, 318-26.
130. Otto, M., 2013, Staphylococcal infections: Mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity, *Annu. Rev. Med.*, 64, 175-188.
131. Ponnuraj, K., Bowden, M.G., Davis, S., Gurusiddappa, S., Moore, D., Choe, D., Xu, Y., Hook, M., Narayana, S.V.L., 2003, A “dock, lock, and latch” structural model for a staphylococcal adhesin binding to fibrinogen, *Cell*, 115, 217-228.
132. Heilmann, C., Hussain, M., Peters, G., Götz, F., 1997, Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface, *Mol. Microbiol.*, 24, 1013-1024.
133. Foster, T.J., 2020, Surface Proteins of *Staphylococcus epidermidis*, *Front. Microbiol.*, 11, 1829.
134. Ortega-Peña, S., Martínez-García, S., Rodríguez-Martínez, S., Cancino-Díaz, M.E., Cancino-Díaz, J.C., 2020, Overview of *Staphylococcus epidermidis* cell wall-anchored proteins: Potential targets to inhibit biofilm formation, *Mol. Biol. Rep.*, 47, 771-784.
135. Paharik, A.E., Horswill, A.R., 2016, The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, Regulation, and Host Response, *Virulence Mech. Bact. Pathog.*, 4, 529-566.
136. Heilmann, C., 2011, Adhesion mechanisms of staphylococci, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 7, 105-123.
137. Chajęcka-Wierzchowska, W., Gajewska, J., Wiśniewski, P., Zadernowska, A., 2020, Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci from ready-to-eat food, *Pathogens*, 9 (9), 734.
138. Otto, M., 2009, *Staphylococcus epidermidis*- The “accidental” pathogen, *Nat. Rev. Microbiol.*, 7, 555-567.

139. Von Eiff, C., Peters, G., Heilmann, C., 2002, Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci, *Lancet Infect. Dis.*, 2, 677–685.
140. Vacheethasanee, K., Temenoff, J.S., Higashi, J.M., Gary, A., Anderson, J.M., Bayston, R., Marchant, R.E., 1998, Bacterial surface properties of clinically isolated *Staphylococcus epidermidis* strains determine adhesion on polyethylene, *J. Biomed. Mater. Res.*, 42, 425–432.
141. Conlon, B.P., Geoghegan, J.A., Waters, E.M., McCarthy, H., Rowe, S.E., Davies, J.R., Schaeffer, C.R., Foster, T.J., Fey, P.D., O’Gara, J.P., 2014, Role for the A domain of unprocessed accumulation-associated protein (Aap) in the attachment phase of the *Staphylococcus epidermidis* biofilm phenotype, *J. Bacteriol.*, 196, 4268–4275.
142. Schaeffer, C.R., Woods, K.M., Longo, G.M., Kiedrowski, M.R., Paharik, A.E., Büttner, H., Christner, M., Boissy, R.J., Horswill, A.R., Rohde, H., Fey, P.D., 2015, Accumulation-associated protein enhances *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation under dynamic conditions and is required for infection in a rat catheter model, *Infect. Immun.*, 83, 214–226.
143. Brown, S., Santa Maria, J.P., Walker, S., 2013, Wall Teichoic Acids of Gram-Positive Bacteria, *Annu. Rev. Microbiol.*, 67, 313–336.
144. Pasquina, L.W., Santa Maria, J.P., Walker, S., 2013, Teichoic acid biosynthesis as an antibiotic target, *Curr. Opin. Microbiol.*, 16, 531–537.
145. Patti, J.M., Allen, B.L., McGavin, M.J., Hook, M., 1994, MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues, *Annu. Rev. Microbiol.*, 48, 585–617.
146. Gill, S.R., Fouts, D.E., Archer, G.L., Mongodin, E.F., DeBoy, R.T., Ravel, J., Paulsen, I.T., Kolonay, J.F., Brinkac, L., Beanan, M., et al., 2005, Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain, *J. Bacteriol.*, 187, 2426–2438.
147. Hussain, M., Wilcox, M.H., White, P.J., 1993, The slime of coagulase-negative staphylococci: Biochemistry and relation to adherence, *FEMS Microbiol. Lett.*, 104, 191–208.
148. Flemming, H.C., Neu, T.R., Wozniak, D.J., 2007, The EPS matrix: The “House of Biofilm Cells”, *J. Bacteriol.*, 189, 7945–7947.
149. Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., Thurnheer, T., 2020, Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities, *Trends Microbiol.*, 28, 668–681.
150. Koo, H., Yamada, K.M., 2016, Dynamic cell-matrix interactions modulate microbial biofilm and tissue 3D microenvironments, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 42, 102–112.
151. Mack, D., Fischer, W., Krokotsch, A., Leopold, K., Hartmann, R., Egge, H., Laufs, R., 1996, The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear-1,6-linked glucosaminoglycan: Purification and structural analysis, *J. Bacteriol.*, 178, 175–183.
152. Heilmann, C., Schweitzer, O., Gerke, C., Vanittanakom, N., Mack, D., Götz, F., 1996, Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*, *Mol. Microbiol.*, 20, 1083–1091.
153. Rohde, H., Burandt, E.C., Siemssen, N., Frommelt, L., Burdelski, C., Wurster, S., Scherpe, S., Davies, A.P., Harris, L.G., Horstkotte, M.A., Knobloch, J.K., Ragunath, C., Kaplan, J.B., Mack, D., 2007, Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus*

- aureus isolated from prosthetic hip and knee joint infections, *Biomaterials*, 28, 1711–1720.
154. Kogan, G., Sadovskaya, I., Chaignon, P., Chokr, A., Jabbouri, S., 2006, Biofilms of clinical strains of *Staphylococcus* that do not contain polysaccharide intercellular adhesin, *FEMS Microbiol. Lett.*, 255, 11–16.
 155. Frank, K.L., Patel, R., 2007, Poly-N-acetylglucosamine is not a major component of the extracellular matrix in biofilms formed by icaADBC-positive *Staphylococcus lugdunensis* isolates, *Infect. Immun.*, 75, 4728–4742.
 156. Rohde, H., Burdelski, C., Bartscht, K., Hussain, M., Buck, F., Horstkotte, M.A., Knobloch, J.K.M., Heilmann, C., Herrmann, M., Mack, D., 2005, Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases, *Mol. Microbiol.*, 55, 1883–1895.
 157. Bateman, A., Holden, M.T.G., Yeats, C., 2005, The G5 domain: A potential N-acetylglucosamine recognition domain involved in biofilm formation, *Bioinformatics*, 21, 1301–1303.
 158. Kaplan, J.B., 2010, Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses, *J. Dent. Res.*, 89, 205–218.
 159. Wille, J., Coenye, T., 2020, Biofilm dispersion: The key to biofilm eradication or opening Pandora's box?, *Biofilm*, 2, 100027.
 160. Davies, D.G., 2011, *Biofilm dispersion*, Biofilm Highlights, In: Flemming, H.C., Wingender, J., Szewzyk, U.(ed.), Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 1–28.
 161. Kaplan, J.B., Raganath, C., Velliyagounder, K., Fine, D.H., Ramasubbu, N., 2004, Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 48, 2633–2636.
 162. Boles, B.R., Horswill, A.R., 2008, agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms, *PLoS Pathog.*, 4, e1000052.
 163. Beenken, K.E., Spencer, H., Griffin, L.M., Smeltzer, M.S., 2012, Impact of extracellular nuclease production on the biofilm phenotype of *Staphylococcus aureus* under in vitro and in vivo conditions, *Infect. Immun.*, 80, 1634–1638.
 164. Wang, R., Khan, B.A., Cheung, G.Y.C., Bach, T.H.L., Jameson-Lee, M., Kong, K.F., Queck, S.Y., Otto, M., 2011, *Staphylococcus epidermidis* surfactant peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice, *J. Clin. Invest.*, 121(1), 238–248.
 165. Periasamy, S., Joo, H.S., Duong, A.C., Bach, T.H.L., Tan, V.Y., Chatterjee, S.S., Cheung, G.Y.C., Otto, M., 2012, How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109 (4), 1281–6.
 166. Mehlin, C., Headley, C.M., Klebanoff, S.J., 1999, An inflammatory polypeptide complex from *Staphylococcus epidermidis*: isolation and characterization, *J Exp Med.*, 189, 907–918.
 167. Klebanoff, S.J., Kazazi, F., Van Voorhis, W.C., Schlechte, K.G., 1994, Activation of the human immunodeficiency virus long terminal repeat in THP-1 cells by a staphylococcal extracellular product, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 91(22), 10615–9.
 168. Rosenstein, R., Götz, F., 2000, Staphylococcal lipases: biochemical and molecular characterization, *Biochimie*, 82 (11), 1005–14.

169. Moon, J.L., Banbula, A., Oleksy, A., Mayo, J.A., Travis, J., 2001, Isolation and characterization of a highly specific serine endopeptidase from an oral strain of *Staphylococcus epidermidis*, *Biol Chem.*, 382, 1095-1099.
170. Chamberlain, N.R., Brueggemann, S.A., 1997, Characterisation and expression of fatty acid modifying enzyme produced by *Staphylococcus epidermidis*, *J Med Microbiol.*, 46, 693-697.
171. Liles, W.C., Thomsen, A.R., O'Mahony, D.S., Klebanoff, S.J., 2001, Stimulation of human neutrophils and monocytes by staphylococcal phenol- soluble modulin, *J Leukoc Biol.*, 70, 96-102.
172. Grice, E.A., Segre, J.A., 2011, The skin microbiome, *Nat. Rev. Microbiol.*, 9, 244-253.
173. Costello, E.K., Lauber, C.L., Hamady, M., Fierer, N., Gordon, J.I., Knight, R., 2009, Bacterial community variation in human body habitats across space and time, *Science*, 326, 1694–1697.
174. Kloos, W.E., Musselwhite, M.S., 1975, Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin, *Appl. Microbiol.*, 30, 381–385.
175. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., 1975, Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 25, 62–79.
176. Foka, A., Chini, V., Petinaki, E., Kolonitsiou, F., Anastassiou, E.D., Dimitracopoulos, G., Spiliopoulou, I., 2006, Clonality of slime-producing methicillinresistant coagulase-negative staphylococci disseminated in the neonatal intensive care unit of a university hospital, *Clin. Microbiol. Infect.*, 12, 1230–1233.
177. Peters, G., Locci, R., Pulverer, G., 1982, Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters, *J. Infect. Dis.*, 146, 479–482.
178. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L., Beachey, E.H., 1982, Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces, *Infect. Immun.*, 37, 318–326.
179. Peters, G., Locci, R., Pulverer, G., 1981, Microbial colonization of prosthetic devices. II. Scanning electron microscopy of naturally infected intravenous catheters, *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. B.*, 173 (5), 293–9.
180. Heilmann, C., 2011, Adhesion mechanisms of staphylococci, *Adv. Exp. Med. Biol.* 715, 105–123.
181. Clarke, S.R., Foster, S.J., 2006, Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*, *Adv. Microb. Physiol.*, 51, 187–224.
182. Patti, J.M., Allen, B.L., McGavin, M.J., Höök, M., 1994, MSCRAMMmediated adherence of microorganisms to host tissues, *Annu. Rev. Microbiol.*, 48, 585–617.
183. Chavakis, T., Wiechmann, K., Preissner, K.T., Herrmann, M., 2005, *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial “secretable expanded repertoire adhesive molecules” (SERAM) in disturbing host defense systems, *Thromb. Haemost.*, 94, 278–285.
184. Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Höök, M., 2014, Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*, *Nat. Rev. Microbiol.*, 12, 49-62.
185. Spanu, T., Sanguinetti, M., Ciccaglione, D., D’Inzeo, T., Romano, L., Leone, F., Fadda, G., 2003, Use of the VITEK 2 system for rapid identification of clinical

- isolates of staphylococci from bloodstream infections, *J Clin. Microbiol.*, 41, 4259-4263.
186. Huang, C.R., Lu, C.H., Wu, J.J., Chang, H.W., Chien, C.C., Lei, C.B., Chang, W.N., 2005, Coagulase-negative staphylococcal meningitis in adults: clinical characteristics and therapeutic outcomes, *Infection*, 33, 56–60.
 187. Shin, J.H., Kim, S.H., Jeong, H.S., Oh, S.H., Kim, H.R., Lee, J.N., Yoon, Y.C., Kim, Y.W., Kim, Y.H., 2011, Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid using 16S ribosomal RNA, *tuf*, and *sodA* gene sequencing, *Perit. Dial. Int.*, 31, 340-346.
 188. Petti, C.A., Simmon, K.E., Miro, J.M., Hoen, B., Marco, F., Chu, V.H., Athan, E., Bukovski, S., Bouza, E., Bradley, S., Fowler, V.G., et al., 2008, Genotypic diversity of coagulase-negative staphylococci causing endocarditis: a global perspective, *J. Clin. Microbiol.*, 46, 1780-1784.
 189. Hugonnet, S., Sax, H., Eggimann, P., Chevrolet, J.C., Pittet, D., 2004, Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis, *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 76–81.
 190. Von Eiff, C., Jansen, B., Kohnen, W., Becker, K., 2005, Infections associated with medical devices: pathogenesis, management and prophylaxis, *Drugs*, 65, 179–214.
 191. Scheithauer, S., Bürgel, U., Ryang, Y.M., Haase, G., Schiefer, J., Koch, S., Häfner, H., Lemmen, S., 2009, Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 80, 1381- 1385.
 192. Björkqvist, M., Liljedahl, M., Zimmermann, J., Schollin, J., Söderquist, B., 2010, Colonization pattern of coagulase-negative staphylococci in preterm neonates and the relation to bacteremia, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 29, 1085–1093.
 193. Hira, V., Kornelisse, R.F., Sluijter, M., Kamerbeek, A., Goessens, W.H, de Groot, R., Hermans, P.W., 2013, Colonization dynamics of antibiotic-resistant coagulase-negative staphylococci in neonates, *J. Clin. Microbiol.*, 51, 595–597.
 194. De Silva, G.D., Kantzanou, M., Justice, A., Massey, R.C., Wilkinson, A.R., Day, N.P., Peacock, S.J., 2002, The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit, *J. Clin. Microbiol.*, 40, 382–388.
 195. Horasan, E.S., Ersoz, G., Tombak, A., Tiftik, N, Kaya, A., 2011, Bloodstream infections and mortality-related factors in febrile neutropenic cancer patients, *Med. Sci. Monit.*, 17, CR304- CR309.
 196. González-Barca, E., Fernández-Sevilla, A., Carratalá, J., Grañena, A., Gudiol, F., 1996, Prospective study of 288 episodes of bacteremia in neutropenic cancer patients in a single institution, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15, 291–296.
 197. Cherif, H., Kronvall, G., Björkholm, M., Kalin, M., 2003, Bacteraemia in hospitalised patients with malignant blood disorders: a retrospective study of causative agents and their resistance profiles during a 14-year period without antibacterial prophylaxis. *Hematol. J.*, 4, 420–426.
 198. Rubio, M., Palau, L., Vivas, J.R., del Potro, E., Diaz-Mediavilla, J., Alvarez, A., Martinez, R., Picazo, J.J., 1994, Predominance of gram-positive microorganisms as a cause of septicemia in patients with hematological malignancies, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 15, 101–104.
 199. Coullioud, D., van der Auwera, P., Viot, M., Lasset, C., 1993, Prospective multicentric study of the etiology of 1051 bacteremic episodes in 782 cancer patients. CEMIC (French-Belgian Study Club of Infectious Diseases in Cancer), *Support Care Cancer*, 1, 34–46.

200. Osman, K., Badr, J., Al-Maary, K.S., Moussa, I.M.I., Hessain, A.M., Amin Girah, Z.M.S., Abo-shama, U.H., Orabi, A., Saad, A., 2016, Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-positive- and negative-staphylococcus in chicken meat retailed to consumers, *Front. Microbiol.*, 7, 1846.
201. Zhanel, G.G., Adam, H.J., Baxter, M.R., Fuller, J., Nichol, K.A., Denisuk, A.J., Lagacé Wiens, P.R.S., Walkty, A., Karlowsky, J.A., Schweizer, F., et al., Antimicrobial susceptibility of 22,746 pathogens from Canadian hospitals: Results of the CANWARD 2007-11 study, *J. Antimicrob. Chemother.*, 68, 7–22.
202. Jones, J.W., Scott, R.J.D., Morgan, J., Pether, J.V.S., 1992, A study of coagulase-negative staphylococci with reference to slime production, adherence, antibiotic resistance patterns and clinical significance, *J. Hosp. Infect.*, 22, P217–P227.
203. Cui, J., Liang, Z., Mo, Z., Zhang, J., 2019, The species distribution, antimicrobial resistance and risk factors for poor outcome of coagulase-negative staphylococci bacteraemia in China, *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 8, 65.
204. Leelaporn, A., Paulsen, I.T., Tennent, J.M., Littlejohn, T.G., Skurray, R.A., 1994, Multidrug resistance to antiseptics and disinfectants in coagulase-negative staphylococci, *J. Med. Microbiol.*, 40, 214–220.
205. Alcaráz, L.E., Satorres, S.E., Lucero, R.M., Puig De Centorbi, O.N., 2003, Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase-negative staphylococci isolated from nosocomial specimens, *Braz. J. Microbiol.*, 34, 45–51.
206. Oh, E., McMullen, L., Jeon, B., 2015, Impact of oxidative stress defense on bacterial survival and morphological change in *Campylobacter jejuni* under aerobic conditions, *Front. Microbiol.*, 10, 295.
207. Ryder, V.J., Chopra, I., O'Neill, A.J., 2012, Increased Mutability of Staphylococci in Biofilms as a Consequence of Oxidative Stress, *PLoS ONE*, 7, e47695.
208. Tschudin-Sutter, S., Frei, R., Dangel, M., Jakob, M., Balmelli, C., Schaefer, D.J., Weisser, M., Elzi, L., Battegay, M., Widmer, A.F., 2016, Validation of a treatment algorithm for orthopaedic implant-related infections with device-retention-results from a prospective observational cohort study, *Clin. Microbiol. Infect.*, 22 (5), 457.e1-9.
209. Spellberg, B., Lipsky, B.A., 2012, Systemic antibiotic therapy for chronic osteomyelitis in adults, *Clin. Infect. Dis.*, 54, 393–407.
210. Sutherland, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharides: A strong and sticky framework, *Microbiology (Reading)*, 147 (pt 1), 3–9.
211. Tornero, E., Morata, L., Martínez-Pastor, J.C., Angulo, S., Combalia, A., Bori, G., García-Ramiro, S., Bosch, J., Mensa, J., Soriano, A., 2016, Importance of selection and duration of antibiotic regimen in prosthetic joint infections treated with debridement and implant retention, *J. Antimicrob. Chemother.*, 71, 1395–1401.
212. Zimmerli, W., Sendi, P., 2019, Role of rifampin against staphylococcal biofilm infections in vitro, in animal models, and in orthopedicdevice-related infections, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 63, e01746-18.
213. May, L., Klein, E.Y., Rothman, R.E., Laxminarayan, R., 2014, Trends in antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci in the United States, 1999 to 2012, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, 1404–1409.
214. Schoenfelder, S.M.K., Dong, Y., Feßler, A.T., Schwarz, S., Schoen, C., Köck, R., Ziebuhr, W., 2017, Antibiotic resistance profiles of coagulase-negative staphylococci in livestock environments, *Vet. Microbiol.*, 200, 79–87.
215. Wedley, A.L., Dawson, S., Maddox, T.W., Coyne, K.P., Pinchbeck, G.L., Clegg, P., Jamrozny, D., Fielder, M.D., Donovan, D., Nuttall, T., et al., 2014, Carriage of

- Staphylococcus species in the veterinary visiting dog population in mainland UK: Molecular characterisation of resistance and virulence, *Vet. Microbiol.*, 170, 81–88.
216. Kresken, M., Becker, K., Seifert, H., Leitner, E., Körber-Irrgang, B., Von Eiff, C., Löschmann, P.A., 2011, Resistance trends and in vitro activity of tigecycline and 17 other antimicrobial agents against Gram-positive and Gram-negative organisms, including multidrug-resistant pathogens, in Germany, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 30, 1095–1103.
 217. Steinke, D., Davey, P., 2001, Association between antibiotic resistance and community prescribing: A critical review of bias and confounding in published studies, *Clin. Infect. Dis.*, 33, 193–205.
 218. Martinez, J.L., 2009, Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants, *Environ. Pollut.*, 157, 2893–2902.
 219. Deptuła, A., Trejnowska, E., Ozorowski, T., Hryniewicz, W., 2015, Risk factors for healthcare-associated infection in light of two years of experience with the ECDC point prevalence survey of healthcare-associated infection and antimicrobial use in Poland, *J. Hosp. Infect.*, 90, 310–315.
 220. Metsini, A., Vazquez, M., Sommerstein, R., Marschall, J., Voide, C., Troillet, N., Gardiol, C., Pittet, D., Zingg, W., 2018, The Swissnoso Network, Point prevalence of healthcare-associated infections and antibiotic use in three large Swiss acute-care hospitals, *Swiss Med. Wkly*, 148, w14617.
 221. Ruppé, E., Barbier, F., Mesli, Y., Maiga, A., Cojocar, R., Benkhalfat, M., Benchouk, S., Hassaine, H., Maiga, I., Diallo, A., et al., 2009, Diversity of staphylococcal cassette chromosome mec structures in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* strains among outpatients from four countries, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 53, 442–449.
 222. Barros, E.M., Ceotto, H., Bastos, M.C.F., Dos Santos, K.R.N., Giambiagi-deMarval, M., 2012, *Staphylococcus haemolyticus* as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes, *J. Clin. Microbiol.*, 50, 166–168.
 223. Couto, I., Wu, S.W., Tomasz, A., De Lencastre, H., 2003, Development of methicillin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus sciuri* by transcriptional activation of the *mecA* homologue native to the species, *J. Bacteriol.*, 185, 645–653.
 224. Huber, H., Ziegler, D., Pflüger, V., Vogel, G., Zweifel, C., Stephan, R., 2011, Prevalence and characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from livestock, chicken carcasses, bulk tank milk, minced meat, and contact persons, *BMC Vet. Res.*, 7, 6.
 225. Lebeaux, D., Barbier, F., Angebault, C., Benmahdi, L., Ruppé, E., Felix, B., Gaillard, K., Djossou, F., Epelboin, L., Dupont, C., et al., 2012, Evolution of nasal carriage of methicillin resistant coagulase-negative staphylococci in a remote population, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56, 315–323.
 226. Fluit, A.C., Jones, M.E., Schmitz, F.J., Acar, J., Gupta, R., Verhoef, J., 2000, Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 and 1998, *Clin. Infect. Dis.*, 30, 454–460.
 227. Fluit, A.C., Visser, M.R., Schmitz, F., 2001, Molecular detection of antimicrobial resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 836–871.
 228. Diekema, D.J., Pfaller, M.A., Jones, R.N., Doern, G.V., Kugler, K.C., Beach, M.L., Sader, H.S., 2000, Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections in the USA, Canada and Latin America, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 13, 257–271.

229. Fluit, A.C., Visser, M.R., Schmitz, F., 2001, Molecular detection of antimicrobial resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 836–871.
230. Matsuhashi, M., Song, M.D., Ishino, F., Wachi, M., Doi, M., Inoue, M., Ubukata, K., Yamashita, N., Konno, M., 1986, Molecular cloning of the gene of a penicillin-binding protein supposed to cause high resistance to β -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*, *J. Bacteriol.*, 167, 976–980.
231. Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu, K., 2000, A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44, 1549–1555.
232. Hartman, B.J., Tomasz, A., 1984, Low-affinity penicillin-binding protein associated with β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*, *J. Bacteriol.*, 158, 513–516.
233. Gordon, R.J., Miragaia, M., Weinberg, A.D., Lee, C.J., Rolo, J., Giacalone, J.C., Slaughter, M.S., Pappas, P., Naka, Y., Tector, A.J., et al., 2012, *Staphylococcus epidermidis* colonization is highly clonal across US cardiac centers, *J. Infect. Dis.*, 205, 1391–1398.
234. Elzi, L., Babouee, B., Vögeli, N., Laffer, R., Dangel, M., Frei, R., Battegay, M., Widmer, A.F., 2012, How to discriminate contamination from bloodstream infection due to coagulase-negative staphylococci: A prospective study with 654 patients, *Clin. Microbiol. Infect.*, 18, E355–E361.
235. Mendes, R.E., Sader, H.S., Jones, R.N., 2010, Activity of telavancin and comparator antimicrobial agents tested against *Staphylococcus* spp. isolated from hospitalised patients in Europe (2007–2008), *Int. J. Antimicrob. Agents*, 36, 374–379.
236. Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Sierpińska, M., Laniewska-Trokenheim, L., 2015, Coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin—Phenotypic and genotypic antibiotic resistance, *Food Microbiol.*, 46, 222–226.
237. Kresken, M., Hafner, D., 1999, Drug resistance among clinical isolates of frequently encountered bacterial species in Central Europe during 1975–1995. Study group bacterial resistance of the Paul-Ehrlich-Society for chemotherapy, *Infection*, 27, S2–S8.
238. Yilmaz, G., Aydin, K., Iskender, S., Caylan, R., Koksall, I., 2007, Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci, *J. Med. Microbiol.*, 56, 342–345.
239. Lerbech, A.M., Opintan, J.A., Bekoe, S.O., Ahiabu, M.A., Tersbøl, B.P., Hansen, M., Brighton, K.T.C., Ametep, S., Frimodt-Møller, N., Styrihave, B., 2014, Antibiotic exposure in a low-income country: Screening urine samples for presence of antibiotics and antibiotic resistance in coagulase negative staphylococcal contaminants, *PLoS ONE*, 9, e113055.
240. Gatermann, S.G., Koschinski, T., Friedrich, S., 2007, Distribution and expression of macrolide resistance genes in coagulase-negative staphylococci, *Clin. Microbiol. Infect.*, 13, 777–781.
241. Faria, C., Vaz-Moreira, I., Serapicos, E., Nunes, O.C., Manaia, C.M., 2009, Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water, *Sci. Total Environ.*, 407, 3876–3882.
242. Wilcox, M.H., Kite, P., Mills, K., Sugden, S., 2001, In situ measurement of linezolid and vancomycin concentrations in intravascular catheter-associated biofilm, *J. Antimicrob. Chemother.*, 47, 171–175.

243. Chien, J.W., Kucia, M.L., Salata, R.A., 2000, Use of linezolid, an oxazolidinone, in the treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections, *Clin. Infect. Dis.*, 30, 146–151.
244. Foster, T., 1996, *Staphylococcus*, Medical Microbiology 4th edition, In: Baron, S. (ed.), Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, Chapter 12.
245. Conlan, S., Mijares, L.A., Becker, J., Blakesley, R.W., Bouffard, G.G., Brooks, S., Coleman, H., Gupta, J., Gurson, N., Park, M., et al., 2012, Staphylococcus epidermidis pan-genome sequence analysis reveals diversity of skin commensal and hospital infection-associated isolates, *Genome Biol.*, 13, R64.
246. Cherifi, S., Byl, B., Deplano, A., Nonhoff, C., Denis, O., Hallin, M., 2013, Comparative epidemiology of Staphylococcus epidermidis isolates from patients with catheter-related bacteremia and from healthy volunteers, *J. Clin. Microbiol.*, 51, 1541–1547.
247. Salgueiro, V.C., Iorio, N.L.P., Ferreira, M.C., Chamon, R.C., Dos Santos, K.R.N., 2017, Methicillin resistance and virulence genes in invasive and nasal Staphylococcus epidermidis isolates from neonates, *BMC Microbiol.*, 17, 15.
248. Du, X., Zhu, Y., Song, Y., Li, T., Luo, T., Sun, G., Yang, C., Cao, C., Lu, Y., Li, M., 2013, Molecular analysis of Staphylococcus epidermidis strains isolated from community and hospital environments in China, *PLoS ONE*, 8, e62742.
249. Tolo, I., Thomas, J.C., Fischer, R.S.B., Brown, E.L., Gray, B.M., Robinson, D.A., 2016, Do Staphylococcus epidermidis genetic clusters predict isolation sources? *J. Clin. Microbiol.*, 54, 1711–1719.
250. Thomas, J.C., Zhang, L., Robinson, D.A., 2014, Differing lifestyles of Staphylococcus epidermidis as revealed through Bayesian clustering of multilocus sequence types, *Infect. Genet. Evol.*, 22, 257–264.
251. Gu, J., Li, H., Li, M., Vuong, C., Otto, M., Wen, Y., Gao, Q., 2005, Bacterial insertion sequence IS256 as a potential molecular marker to discriminate invasive strains from commensal strains of Staphylococcus epidermidis, *J. Hosp. Infect.*, 61, 342–348.
252. Heikens, E., Fleer, A., Paauw, A., Florijn, A., Fluit, A.C., 2005, Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci, *J Clin Microbiol.*, 43(5), 2286-90.
253. Yılmaz, S., Duyan, S., Artuk, C., Diktaş, H., 2014, Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları, *TAF Prev Med Bull*, 13(5), 421-426.
254. Patel, R., 2015, MALDI-TOF MS for the Diagnosis of Infectious Diseases, *Clin Chem.*, 61(1), 100-11.
255. Eigner, U., Holfelder, M., Oberdorfer, K., Betz-Wild, U., Bertsch, D., Fahr, A.M., 2009, Performance of a matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory, *Clin Lab.*, 55, 289-96.
256. Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., et al., 2009, Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, *Clin Infect Dis*, 49: 543–51.
257. Unat, E.K., 1986, *Tip Bakteriyolojisi ve Virolojisi 2. basım*, Dergah Yayınları, İstanbul,
258. Freeman, D.J., Falkiner, F.R., Keane, CT., 1989, New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci, *J. Clin. Pathol.*, 42, 872-874.
259. Jeffries, C.D., Holtman, D.F., Guse, D.G., 1957, Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids, *J Bacteriol.*, 73(4), 590-1.

260. Arciola, C.R., Baldassarri, L., Montanaro, L., 2001, Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections, *J Clin Microbiol.*, 39, 2151–2156.
261. Bilgehan, H., 2002, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı 3.Baskı*, Barış yayınları, İzmir.
262. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schereckenberger, B.C., Winn, W.C., *Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology 6th edition*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
263. Pereira, E.M., Schuenck, R.P., Malvar, K.L., Iorio, N.L., Matos, P.D., Olendzki, A.N., Oelemann, W.M., dos Santos, K.R., 2010, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus haemolyticus: methicillin-resistant isolates are detected directly in blood cultures by multiplex PCR, *Microbiol Res.*, 165(3), 243-9.
264. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi, Minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) ve zon çaplarının yorumlanması için sınır değer tabloları, sürüm 13.0, 2023. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
265. Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., et al., 2012, Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance, *Clin Microbiol Infect.*, 18(3), 268-81.
266. Kozitskaya, S., Cho, S.H., Dietrich, K., Marre, R., Naber, K., Ziebuhr, W., 2004, The bacterial insertion sequence element IS256 occurs preferentially in nosocomial Staphylococcus epidermidis isolates: association with biofilm formation and resistance to aminoglycosides, *Infect Immun.*, 72(2), 1210–1215.
267. Gu, J., Li, H., Li, M., Vuong, C., Otto, M., Wen, Y., Gao, Q., 2005, Bacterial insertion sequence IS256 as a potential molecular marker to discriminate invasive strains from commensal strains of Staphylococcus epidermidis, *J Hosp Infect.*, 61(4), 342–348.
268. Li, M., Wang, X., Gao, Q., Lu, Y., 2009, Molecular characterization of Staphylococcus epidermidis strains isolated from a teaching hospital in Shanghai, China, *J Med Microbiol.*, 58(Pt 4), 456–461.
269. Galdbart, J.O., Allignet, J., Tung, H.S., Ryden, C., El Solh, N., 2000, Screening for Staphylococcus epidermidis markers discriminating between skin-flora strains and those responsible for infections of joint prostheses, *J Infect Dis.*, 182(1), 351–355.
270. Manandhar, S., Singh, A., Varma, A., Pandey, S., Shrivastava, N., 2021, Phenotypic and genotypic characterization of biofilm producing clinical coagulase negative staphylococci from Nepal and their antibiotic susceptibility pattern, *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*, 20(1), 41.
271. Manoharan, M., Sistla, S., Ray, P., 2021, Accuracy of different methods for identification of Staphylococcus haemolyticus, *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 11 (1), 8-14.
272. Bora, P., Datta, P., Gupta, V., Singhal, L., Chander, J., 2018, Characterization and antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples, *J Lab Physicians.*, 10(4), 414-419.
273. Öcal, D., Tekeli, A., Dolapçı, İ., 2022, Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Biyofilm Oluşumunun Çeşitli Kongo Kırmızısı Besiyerlerinde Değerlendirilmesi, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 75(1), 8-15.
274. Palazzo, I.C., Rehder, A., Darini, A.L., 2007, Quantitative disk diffusion as a convenient method for determining minimum inhibitory concentrations of oxacillin for staphylococci strains, *Journal of Microbiological Methods*, 71(3), 186–190.

275. Rodríguez, M., Fermepin, A., Malimovka, S.D., García, M., Orgambide, C.A., Vay, R., de Torres, A.M.R. Famiglietti, A.M., 2006, Accuracy of cefoxitin disk testing for characterization of oxacillin resistance mediated by penicillin-binding protein 2a in coagulase-negative staphylococci, *J Clin Microbiol.*, 44(10), 3634-9.
276. Duran, N., Ozer, B., Duran, G.G., Onlen, Y., Demir, C., 2012, Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in staphylococci, *The Indian Journal of Medical Research*, 135(3), s. 389-396.
277. Demirci, M., Yorgancıgil, B., Demir, İ., 1997, Koagülaz negatif stafilokoklarda slime faktör pozitifliği ve antibiyotik direnci, *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 4 (1), 27-30.
278. Taşova, Y., 2012, Dirençli gram pozitif bakteri infeksiyonlarında güncel tedavisi, *Yoğun Bakım Dergisi*, 10(3), s. 147-164.
279. Khorshed, A., Özbal, Y., 2012, Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokokların tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21(3), s. 153-163.
280. Ashagrie, D., Genet, C., Abera, B., 2021, Vancomycin-resistant enterococci and coagulase-negative staphylococci prevalence among patients attending at Felege Hiwot Comprehensive Specialized Hospital, Bahir Dar, Ethiopia, *PLoS One*, 16(4), e0249823.
281. Kaya, E., Doğan, S., Kayış, A., Orhan, Z., Kireççi, E., Aral, M., 2017, *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların vankomisin ve teikoplanin duyarlılıklarının araştırılmasında otomatize sistem ile E-Test yönteminin karşılaştırılması, *Sakarya Tıp Dergisi*, 7, s. 92-96.
282. Nayak, N., Nag, T.C., Satpathy, G., Ray, S.B., 2007, Ultrastructural analysis of slime positive&slime negative staphylococcus epidemidis isolates in infectiosus keratitis, *Indian J Med Res*, 125 (6), 767- 71.
283. Foka, A., Chini, V., Petinaki, E., Kolonitsiou, F., Anastassiou, E.D., Dimitracopoulos, G., Spiliopoulou, I., 2006, Clonality of slime-producing methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci disseminated in the neonatal intensive care unit of a university hospital, *Clinical Microbiology and Infection*, 12 (12), 1230-1232.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI ve BAZI VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 12 BENZERLİK ENDEKSİ	% 11 İNTERNET KAYNAKLARI	% 6 YAYINLAR	% 4 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 6
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
4	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	lume.ufrgs.br İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.basicedu.uodiyala.edu.iq İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to University of Anbar Öğrenci Ödevi	<% 1
8	publications.aston.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1

Submitted to Trinity College Dublin