



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- YL- 2006- 0002

**DEĞİŞİK KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN *STAFİLOKOK*
SUŞLARININ BİYOTİPLENDİRİLMESİ VE METİSİLİN
DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN: Tıbbi Biyolog Selda UYSAL

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Şükrü KIRKAN

AYDIN - 2006

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- YL- 2006- 0002

**DEĞİŞİK KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN *STAFİLOKOK*
SUŞLARININ BİYOTİPLENDİRİLMESİ VE METİSİLİN
DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN: Tıbbi Biyolog Selda UYSAL

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Şükrü KIRKAN

AYDIN - 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
ÇİZELGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	v
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	3
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Örnekler	14
3.2. Metot	14
3.2.1. Mikrokok-Stafilokok Ayırımı	14
3.2.2. Koagulaz Pozitif Stafilokokların Tiplendirilmesi	14
3.2.3. Koagulaz Negatif Stafilokokların Tiplendirilmesi	15
3.2.4. Stafilokok Suşlarının Tiplendirilmesinde Kullanılan Biyokimyasal Testler	16
3.2.4.1. Novobiosine Duyarlılık Testi	16
3.2.4.2. Çabuk Üreaz Testi	16
3.2.4.3. Nitrat Redüksiyonu	16
3.2.4.4. Karbonhidrat Fermentasyonunun İncelenmesi	17
3.2.4.5. Arjinin Hidrolizi	17
3.2.4.6. Slime Faktör Varlığının İncelenmesi	17
3.2.4.7. Oksidaz Testi	18
3.2.5. Metisilin Dirençliliği	18
3.2.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	20
4.1. Bulgular	20

4.2. Tartışma	25
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
6. ÖZET	35
7. SUMMARY	36
8. TEŞEKKÜR	37
9. KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	47

ÖZ

Bu araştırmada klinik ve subklinik mastitisli ineklere ait 120 adet süt örneğinden 74 adet, 60 adet yara yeri svabı örneğinden 42 adet ve 20 adet idrar örneğinden ise 7 adet Stafilokok suşu izole edildi. İzole edilen suşların identifikasyonları gerçekleştirilerek Stafilokok suşlarının tiplendirilmeleri yapıldı.

Bu araştırmada tiplendirilmeleri gerçekleştirilen Stafilokok suşlarının 41 (% 33.3)'i Metisiline dirençli bulundu.

Bu çalışmada da tüm izolatların % 48'inin penisilin'e dirençli ve % 85 oranında eritromisine, % 83 oranında sulbactam + ampisilin'e ve % 79 oranında sulfamethaksazole + trimethoprim'e duyarlı olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: *Staphylococcus sp.*, İdentifikasyon, Methisilin Direnci, Antibiyotik Duyarlılık Testi

ABSTRACT

In this study, 74 *Staphylococcus* strains were isolated from 120 milk of dairy cows with clinical and subclinical mastitis, 42 *Staphylococcus* strains were isolated from 60 wound and 7 *Staphylococcus* strains were isolated from 20 urine. Then isolated strains were identified and biotyping.

Typed 41 (33.3%) *Staphylococcus* strains were found resistant to methicillin in this study.

In this study, of 48% to all of strains were resistant to penicilin and 85% of all strains were found to be sensitive to eritromisin, 83% of all strains were found to be sensitive to sulbactam+ampicillin and 79% of all strains were found to be sensitive to sulphamethaxazole + trimethoprim.

KEY WORDS: *Staphylococcus sp.*, Identification, Methicillin Resistance, Antibiotic Susceptibility Test

ÇİZELGELER LİSTESİ

Tablo 1	<i>Klinik açıdan önemli bakteri türlerinde güncel direnç problemleri</i>	7
Tablo 2	<i>Avrupa’da yoğun bakım hastalarında MRSA dağılımı</i>	10
Tablo 3	<i>Avrupa’da MRSA suşlarında diğer antibiyotiklere direnç.</i>	10
Tablo 4	Koagulaz Pozitif Suşların Biyotipleri	21
Tablo 5	Koagulaz Pozitif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	21
Tablo 6	Koagulaz Negatif Suşların Biyotipleri	21
Tablo 7	Koagulaz Negatif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	22
Tablo 8	<i>Stafilokok Suşlarının Slime Değerleri</i>	22
Tablo 9	<i>Stafilokok Suşlarının Metisilin Dirençlilikleri</i>	23
Tablo 10	<i>Kullanılan Antibiyotiklerin Etki Derecelerine Göre İnhibisyon Zon Sınırları</i>	23
Tablo 11	<i>Antibiyotik Duyarlılıklarının Stafilocok Türlerine Göre Dağılımı</i>	24

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1	<i>Koagulaz Negatif Staphylococcus'ların İdentifikasyon Şeması</i>	15
---------	--	----

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

MRSA	Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
VISA	Vankomisine Orta Derecede Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	Vankomisin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	Penisilin Bağlayıcı Proteinler
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokok

1. GİRİŞ

Stafilokoklar önemli infeksiyon etkenleri olarak 100 yıldan uzun süredir veteriner ve tıp dünyasında ilgi görmektedir. İlk olarak 1881 yılında İskoçyalı cerrah Alexander Ongston tarafından tanımlanan Stafilokoklar o dönemde çok ağır seyreden, tedavisi güç, ölümcül infeksiyonlara neden olmaktaydı. Alexander Fleming'in penisilini bulması ve 1940 yılında Forey ve Chain tarafından penisilinin büyük miktarlarda üretiminin başarılması ile stafilokokal infeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Ancak penisilinin yaygın klinik kullanıma girmesiyle birlikte penisilini bağlayan stafilokok suşları ortaya çıkmaya başlamıştır. Penisilinaz üretimi ilk olarak 1940'da Abraham Chain tarafından bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren Stafilokoklarda penisilin direnci giderek artmış, 1950'li yıllarda penisilinin yanısıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişmiştir.

1960 yılında metisilinin ve daha sonra da diğer penisilinaza dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle birlikte Stafilokokal infeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama daha kaydedilmiştir. Ancak 1961 yılında Stafilokok suşlarında metisilin direnci de tanımlanmış ve 1970'li yıllardan itibaren de metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci problemi ortaya çıkmıştır. Direnç probleminin ortaya çıkması ile birlikte MRSA tüm dünyada nazokomiyal epidemilere yol açan ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir.

Metisilin dirençli Stafilokokların, metisiline duyarlı saptanması tedavi başarısızlıklarına neden olmaktadır. Benzer şekilde metisiline duyarlı stafilokokların da dirençli tanımlanması gereksiz yere glikopeptid antibiyotiklerin kullanılmasına yol açmaktadır. Son yıllarda vankomisine orta derecede duyarlı *S. aureus* (VISA) suşlarının ve vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) suşlarının da rapor edilmeye başlanması, bu konunun önemini giderek arttırmaktadır.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında stafilokokların metisilin direncini saptamak için disk difüzyon, tüp dilüsyon veya mikrodilüsyon, agar dilüsyon, otomatize duyarlılık testleri, DNA hibridizasyon teknikleri ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanılmaktadır.

Bu araştırmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Stafilokok* suşlarında metisilin direnci varlığının araştırılması ve izole edilen suşlara antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak metisilin dirençli stafilokoklarda çoğul antibiyotik direncinin saptanması hedeflenmiştir.

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Staphylococcus genusu, *Eubacteriales* takımının, *Micrococcaceae* familyasına ait mikroorganizmalardır. Stafilocoklar, yuvarlak şekilli, 0.5 – 1.5 µm çapında, çoğunlukla düzensiz kümeler şeklinde, gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerobik bakterilerdir. Stafilocokların katalaz aktivitesi pozitif olup, optimal üreme ısıları 30-37 °C'dir. Anilin boyaları ile iyi boyanırlar. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalırlar. Katı besiyerlerinde 1-2 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Sporsuz bakteriler içerisinde dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı en fazla dayanabilen bakterilerdir. Kültürlerde, + 4 °C'de 2-3 ay, - 20 °C'de 3-6 ay kadar canlı kalabilirler. Stafilocok türleri 60 °C'de ancak yarım saatte, % 2'lik fenolde 15 dakikada inaktive olup, % 9'luk sodyum klorüre ve sakkaroz tolerans gösterebilmektedirler (Lister, 2000; Marples and Cooke, 1988; Kotilainen, 1990).

İlk defa 1881 yılında Sir Alexandar Ongston bazı piyojenik apselerde etken olarak gruplar halinde koklar görerek bunları “*Stafilocok*” olarak isimlendirmiştir (Archer, 1990). Mikroorganizmanın izole edilmesi ve laboratuvar özellikleri 1884 yılında Rosenbach tarafından gerçekleştirilmiştir. Rosenbach bu mikroorganizmanın iki farklı renkte koloni oluşturduğunu gözlemiş, sarı-portakal renkli kolonileri *S. pyogenes aureus*, beyaz kolonileri *S. pyogenes albus* olarak isimlendirmiştir. 1891 yılında *S. epidermis albus* ismi kullanıma girmiştir (Patrick et al.,1990). 1957'li yıllara kadar stafilocoklar mikrokok cinsi içine dahil edilmişlerdir. Bu iki cinsin anaerobik üreme ve glukozdan asit oluşturma özelliklerine bakılarak ayırt edilebileceği ortaya konmuş ve bu testler ile 1957 yılında *Bergey's Manuel*'in 7. baskısında Stafilocoklar ayrı bir cins olarak yerlerini almışlardır (Patrick et al.,1990). Günümüzde stafilocok mikrokok ayırımında sadece basitrasine duyarlılık deneyinin kesin kriter olarak kullanılmasının yeterli olduğu savunulmaktadır (Ball., 1990).

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

Stafilokokların heterojen bir grup olduğu saptanmıştır. *Koagulaz negatif stafilokoklardaki* turleri ilk defa Baird-Parker bir şema ile tanımlamıştır (Christensen et al., 1985). 1975 yılında tanımlanan bu şema, Schleifer ve Kloos tarafından modifiye edilmiş ve biyokimyasal özelliklerden yararlanarak tiplendirmeler yapılmıştır (Patrick et al.,1990).

İlerleyen yıllarda mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin kullanıma uygun pek çok şema hazırlanmıştır (Gemmell and Dawson, 1982). Günümüzde hızlı tanı amacıyla, Micro Scan (Patrick et al.,1990), API Staph Ident (Golgmann, 1990) gibi biyokimyasal testleri esas alan ticari sistemler mevcuttur. Bu şemaların yanısıra DNA hibridizasyonu, faj tiplendirmesi, plazmid profil analizi, restriksiyon enzim analizleri, izofonksiyonel enzimlerin elektroforetik karşılaştırılması (Mc Taggart and Elliot, 1989), bakteriyolojik aktivite paternleri, antibiyotik duyarlılık paternleri (Gemmell and Dawson, 1982) gibi yöntemlerle de tiplendirme yapılmaktadır.

Günümüzde birçok hızlı tanı yöntemi bulunmasına rağmen, rutin laboratuvarlarda en sık uygulanan yöntemler ise biyotiplendirme ve antibiyotik duyarlılık paternleridir (Kotilainen, 1990).

Stafilokoklara laboratuvarlarda yapılacak en önemli invitro test plazma koagulaz testidir. Bunun yanında kümeleştirici faktör (clumping factor) de araştırılabilir. Antijenik yapı olarak serbest koagulazdan farklı olması testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagulaz aısından tüp testi ile de kontrolü gerekmektedir (Marples and Cooke, 1988; Kotilainen, 1990).

S. aureus, insan sağlığı için önemli bir patojendir. Hayatı tehdit eden nazokomiyal enfeksiyonlardan en sık izole edilen etkenlerin başında gelmektedir. Ciddi ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlar başta olmak üzere (toksik çok sendromu, solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, tromboflebit, besin zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, menejit, sepsis, bakteriyemi) birçok vücut bölgesindeki bakteriyel yangılardan da sıklıkla izole edilmektedirler. Tedavilerinde yanlış antibiyotik seşimi ve kullanılmasından dolayı bu mikroorganizma yüksek ve geniş spektrumlu direnç oluşturmakta ve büyük sorunlar yaşanmaktadır (Waldvogel, 1995; Gündeş ve ark., 2000).

S. aureus, değişik antibiyotiklere karşı farklı yollardan dirençli hale gelebilir. Genetik olarak çok yönlü olmaları, bu direncin altyapısının oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Yüksek antibiyotik direnci, tedavi başarısını azaltırken, hastaların mortalite, morbidite ve hastanede yatış sürelerinin artışına neden olmaktadır. *S. aureus* dışında, son yıllarda, *koagulaz negatif stafilokokların* da özellikle hastanede yatan hastalar için ciddi patojenler haline geldiği bildirilmektedir (Lina et al., 1999; Kernodle et al., 1990; Ball, 1990).

Koagulaz negatif stafilokoklarda virulansın oluşumunda her ne kadar konak ve bakterinin etkisi görülse de bunun yanında slime faktör, protein A, bakteriosin, jelatinaz, DNA'az gibi invitro sistemlerde saptanabilecek ürünlerin ve çoklu antibiyotik direncinin de rol oynadığı bildirilmektedir (Kotilainen, 1990). Stafilokokların ürettiği slime maddesi, stafilokokları konak savunma mekanizmalarına karşı çeşitli yollarla korur (Jones et al., 1992), makrofajların oksidatif yanıtlarını inhibe eder (Gemmell and Dawson, 1982), poliklonal aktivatörlere lenfositlerin yanıtını baskılar (Holmberg, 1973), periferik mononükleer hücrelerin blastogenezisini ortadan kaldırır (Gemmell and Dawson, 1982), bariyer görevi yaparak antibiyotiklerin iç kısımlara yayılımını engeller (Perrin ve ark., 1991). Bu özelliklerden dolayı slime maddesinin varlığı patojenite kriteri olarak kabul edilmektedir (Voss et al., 1994). Ayrıca stafilokokların yapısında protein A bulunmaktadır. Bu antijen *S. aureus* suşlarında % 90, *Koagulaz Negatif Stafilokoklarda* ise en fazla % 9 oranında bulunmaktadır (Boussard and Pithsy, 1993).

Stafilokokal protein A'nın antifagositik, antikomplementer etki yaratması, hipersensitivite reaksiyonlarına sebep olması, koagulaz ve nükleaz aktivitesi ile yüksek korelasyon göstermesi, antibiyotik duyarlılığını azaltması bu maddenin önemli bir patojenite kriteri olduğunu düşündürmektedir (Marples and Cooke, 1988; Lister, 2000).

Klinik çalışmalarda önceleri saprofit ve değersiz kontaminantlar olarak kabul edilen koagulaz negatif stafilokoklar, son 30 yıl içerisinde çok önemli infeksiyon

etkeni olarak kabul edilmektedirler (Abigail and Dixie, 1994; Jawetz et al., 1987; Gür ve ark., 1998; Patrick, 1990; Ulusoy ve ark., 1995; Töreci ve ark., 1985).

Son yıllara kadar kültürde üreyen *koagulaz negatif stafilocoklar*, çoğu laboratuvarlar tarafından deri ve mukoza florasında en sık bulunan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmekteydi (Akan ve ark, 1992; Bal ve ark, 1983). Bugün için koagulaz negatif stafilocokların patojenitesinin anlaşılması, çeşitli çalışmalarda *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri* gibi türlerin infeksiyon etkeni olarak bildirilmesi (Akan ve ark, 1992; Voss et al., 1994), türler arasında gözlenen farklı antibiyotik paternleri ve dirençli suşların artması koagulaz negatif stafilocokların tiplendirilmesinin epidemiyolojik ve klinik açılardan gerekliliğini ortaya koymaktadır (Auwera et al., 1983; Devriese et al., 1994; Kurt ve ark., 1992).

Çok önemli patojenler olan *koagulaz negatif stafilocokların* tiplendirilmesi için yeterli bir şema hala saptanamamıştır (Timmerman et al., 1991). Bazı araştırmacılar (Lacey et al., 1986) koagulaz negatif stafilocokların fajla tiplendirilmeleri gerektiğini savunurken, fajla yapılan tiplendirmelerin yanlış sonuçlar verdiğini gösteren başka araştırmalarda bulunmaktadır (Christensen et al., 1984).

Son 10-15 yıl içinde klinik açıdan önemli bakteri türlerinin çoğu, infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirdiği bildirilmektedir.

Stafilocok ve streptokok türlerinin makrolid direncinin dikkat çekici boyutlara ulaştığı Tablo 1’de görülmektedir.

Yine antibiyotiklerin en yaygın olarak kullanıldığı solunum yolu infeksiyonlarının önde gelen etkenlerinden biri olan *Streptococcus pneumoniae*’de penisilin direncinin bazı ülkelerde % 50’ye ulaştığı, *Haemophilus influenza* izolatlarının yaklaşık üçte biri ile *Moraxella catarrhalis* izolatlarının %90’nın ise beta-laktamaz üretimi nedeniyle aminopenisilinlere direnç kazandığı bildirilmektedir (Tablo 1) (Lister, 2000; Gür ve ark., 1998).

Tablo 1. Klinik açıdan önemli bakteri türlerinde güncel direnç problemleri (Gülay, 2002)

Patojen Mikrorganizma	Antibakteriyel Ajan(lar)
Gram pozitif bakteriler	
<i>Stafilokoklar</i>	Penisilin, metisilin, Beta laktam ajanlar, makrolidler, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), fluorokinolonlar, vankomisin
<i>Streptokoklar</i>	Makrolidler, tetrasiklin, penisilin, ve türevleri, kloramfenikol, SXT
<i>Enterokoklar</i>	Vankomisin dahil tedavide kullanılan antibiyotiklerin tümü
<i>Corynebacterium spp</i>	Penisilin, klindamisin
<i>Leuconostoc, Pediococcus, Laktobacillus</i>	Vankomisin
<i>Listeria</i>	Penisilin (görece)
Gram negatif bakteriler	
<i>Enterobacteriaceae üyeleri (E. coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae)</i>	Genişlemiş spektrumlu Beta-laktam ajanlar, kinolonlar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sefalosporinler, karbapenemler, kinolonlar, tüm antibiyotiklere direnç
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Karbapenemler, sefalosporinler, kinolonlar
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Karbapenemler, sefalosporinler
<i>Haemophilus influenza</i>	Ampisilin, amoksisilin, makrolidler, SXT
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Ampisilin, amoksisilin

Stafilokokların beta laktam antibiyotiklere olan direncinin nedeni, hücre duvarı sentezinden sorumlu penisilin bağlayıcı proteinler (PBP)'lerin bu antibiyotikler tarafından kovalent bağla bağlanmalarıdır. Metisilin, nafsilin, oksasilin gibi penisilinazlara dirençli olan *S. aureus* suşları 2 gruba ayrılabilir:

1. Yüksek seviyeli (iç kaynaklı) direnç: Bu suşlar *mecA* genince kodlanan yeni ve değişik afiniteli bir penisilin bağlayan (PBP2a) suşlardır.
2. Azaltılmış (ara hassasiyet) direnç: Aşırı beta-laktamaz üretimi sonucunda metisilin duyarlılığı sınırda olan suşlar.

Bu sınıflandırma, direnç fenotipini tespit eden yöntemlerin kullanılması suretiyle elde edilen sonuçlara dayanmaktadır (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988).

İç kaynaklı direncin nedeni tek bir mekanizmadır: *mecA* geni tarafından kodlanan benzersiz bir PBP2a 'nın üretimi. *mecA* geni günümüzde spesifik primerler aracılığıyla polimeraz zincir reaksiyonu ile tespit edilmektedir (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988) .

Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), özellikle yabancı cisimlerle ilişkili bakteriyemi etkeni olan geniş bir grubun ortak adıdır. KNS türleri arasında *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*'da *mecA* geni varlığı bildirilmiştir (Çetin ve Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples, and Cooke, 1988). Bu türler için önerilen duyarlılık testleri *S. aureus* ile benzer olmakla birlikte, 1999 yılında metisilin direnci ile ilgili duyarlılık sınırları değiştirilmiştir (KNS: <0,25 µg/ml (S); >0,5 µg/ml (R) (Hacbarth et al., 1995).

Metisiline dirençli türlerin yaklaşık dörtte biri eritromisine ve tetrasikline karşı hassasiyet göstermektedir. Bununla birlikte, bu antibiyotiklerin tedavide başarılı bir şekilde kullanılıp kullanılamıyacağı hakkında şüpheler bulunmaktadır. Metisiline dirençli türlerin antibiyogram testlerinde tetrasikline karşı hassasiyet göstermelerine rağmen, enfeksiyonların klinik olarak tedavisinde tetrasiklin ile başarılı sonuçlar elde edilmediği bildirilmektedir (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988).

Ciddi durumlarda vankomisin tercih edilen antibiyotik olmasına rağmen, *mecA* geni taşıyan Stafilokoklarda enfeksiyonların tedavisindeki zorluk dikkat

çekmektedir. Bazı durumlarda fusidik asit ve rifampisin tedavilerde etkili olabilmektedir, ancak bu antibiyotiklere karşı direnç çabuk gelişmekte ve hiçbir zaman tek başlarına kullanılmamaları gerekmektedir. Vankomisine dirençli olan türlerin ortaya çıkmasıyla birlikte bu konu ile ilgili yoğun bir şekilde alternatif araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Günümüzde yeni bir antibiyotik sınıfı olan oxazolidinonlar'ın ilki olan linezolid, üçüncü aşama denemelerde çalışmakta ve MRSA suşları üzerinde denenmektedir (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988).

Azaltılmış (Ara hassasiyetli) dirençli türlerin direnç mekanizması, beta-laktamlar ile ilgili modifiye PBP1 ve 2 üretimi; yeni bir beta-laktamazın (metisilinaz) üretimi; hiper beta-laktamaz üretimi şeklinde oluşmaktadır. Azaltılmış (Ara hassasiyetli) dirençli türlerle meydana gelen infeksiyonlar birinci ve ikinci nesil sefalosporinlerle tedavi edilebilir (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988).

MRSA infeksiyonları ile ilgili giderek artan bir endişe bulunmaktadır. *MRSA* infeksiyonlarının sıklık bakımından artması ve daha geniş bir antibiyotik grubuna karşı dirençlilik göstermesi dikkat çekmektedir. Özellikle, *MRSA* 'nın *VISA* (*vankomisine karşı ara hassasiyete sahip S.aureus*) türü bu özelliği gösteren türlerin başında gelmektedir. *VISA* türü, *MRSA*'ya karşı en etkili antibiyotik olan vankomisine karşı direnç geliştirmeye başlamış bulunmaktadır. Bu direnç, *Enterococcus* sp. türlerinin vankomisin direnci göstermesinden sonra ortaya çıkmıştır. Laboratuvar koşullarında *Enterococcus* türlerinin, vankomisin direnci ile ilgili geni *S. aureus*'a transfer etme kabiliyeti olduğu ortaya çıkarılmıştır (Töreci ve ark., 1985).

MRSA prevalansı hem coğrafi bölgeler arasında hem de aynı bölgede yer alan sağlık kuruluşları arasında değişkenlik göstermektedir.

Avrupa Yoğun Bakım Ünitelerinin İnfeksiyon Prevalansı (European Prevalance of Infection in Intensive Care - EPIC), Avrupa'da yoğun bakım ünitelerinde izlenen hastalardaki infeksiyon prevalansını saptamak amacıyla planlanmış olan bir çalışmadır. Bu çalışma da 30 Nisan 1992' de çok sayıda Avrupa ülkesinde yoğun bakım ünitelerinde (toplam 1472 yoğun bakım ünitesi) yatmakta

olan 10.000'den fazla hasta infeksiyon yönünden araştırılmıştır. Avrupa genelinde tüm *S. aureus* infeksiyonlarının %60'nın *MRSA* suşlarına bağlı olduğu ve ülkeler arasında bu oran yönünden önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Avrupa'da yoğun bakım hastalarında *MRSA* dağılımı.

Ülke	<i>MRSA</i> (%)
İtalya	34,4
Fransa	33,6
İspanya	30,3
Belçika	25,1
Avusturya	21,6
Almanya	5,5
İsviçre	1,8
Hollanda	1,5
İsveç	0,3
Danimarka	0,1

Avrupa genelinde *MRSA* suşları arasında diğer antibiyotiklere (siprofloksasin, klindamisin, eritromisin, trimetoprim-sulfametaksazol, rifampisin) direnç oranının da yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3: Avrupa'da *MRSA* suşlarında diğer antibiyotiklere direnç.

Antibiyotiklere direnç oranı (%)					
Ülke	Rifampisin (RMP)	Siprofloksasin	Klindamisin	Eritromisin	TMP-SMX *
Avusturya	17,1	82,9	30,1	65,0	67,5
Belçika	18,6	91,7	86,9	87,5	75,9
Fransa	54,4	96,0	81,1	83,3	67,2
Almanya	14,0	93,0	34,9	38,4	52,3
İtalya	57,9	83,8	32,2	44,6	53,7
Hollanda	44,4	55,5	44,4	55,5	66,6
İspanya	39,9	84,7	96,8	96,8	67,7
İsviçre	0,0	52,9	70,6	58,8	47,1

* Trimetoprim-sulfametoksazol

Prülan drenajı olan hastalar, *MRSA* için en önemli epidemik bulaşma kaynağıdır. Ayrıca hastane personelinin ellerinde geçici süreyle *MRSA* taşınması da bilinen en önemli yayılım mekanizmalarındandır. Deneyisel olarak sağlık personelinin ellerine inoküle edilen *MRSA*'nın 3 saatten uzun bir süre yaşayabildiği, ellerin su ve sabunla yıkanmasıyla tamamen temizlenemediği gösterilmiştir (Çetin and Ang, 1962; Bradley, 1992; Marples and Cooke, 1988). Solunum yolu ile ve cansız maddeler yoluyla bulaşma nadirdir. El yıkama ve eldiven giyme gibi genel hijyenik kurallara uymayan sağlık personeli sıklıkla bulaşmalardan sorumludur. Stafilokokların burun dışında en sık kolonize oldukları vücut bölgeleri ise nazofarinks, koltuk altları, kasıklar ve gastrointestinal sistemdir.

MRSA infeksiyonlarının, ölümcül infeksiyonlara neden olmasının dışında diğer endişe verici yanı; penisilinaz enzimine dirençli tüm penisilinlere (metisilin, oksasilin, nafsilin, kloksasilin ve dikoloksasilin), sefalosporinlere, ayrıca klindamisin, eritromisin, tetrasiklin ve aminoglikozidler gibi daha birçok antibiyotiğe dirençli olmasıdır yani *MRSA* infeksiyonlarında tedavi seçeneği olarak çok sınırlı sayıda antibiyotik bulunmaktadır.

İtalya, Fransa, İspanya, Belçika, Avusturya, Almanya, Danimarka, İsveç, Hollanda ve İsviçre gibi 10 Avrupa ülkesindeki 43 laboratuvardan temin edilen *MRSA* suşlarında direnç oranı RMP'e % 0-57.9, klindamisine % 30.1-96.8, % 52.9-96 ve TMP-SMX'e % 47.2-75.9 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (Voss et al., 1994).

Maple ve arkadaşları, 21 ülkeden temin ettikleri *MRSA* suşundan % 91.5'nin gentamisin ve eritromisine, % 66'nın klindamisine ve % 4.7'sinin siprofloksasine dirençli olduğu rapor etmişlerdir (Maple et al., 1989).

Lacey ve arkadaşları eritromisine direnci % 100, gentamisine direnci % 10, rifampisine direnci % 1 oranında bildirmişlerdir (Lacey et al., 1986).

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mik. ve Klin. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın yaptığı bir çalışmada (Hasbek ve ark., 2002), Metisiline duyarlı ve dirençli stafilokokların direnç oranları sırası ile TMP-SMX için % 10.8 ve % 22.4, amoksisilin+klavunik asit için % 4.3 ve % 10.8, ofloksasin için %5.4 ve % 65.5,

eritromisin için % 18.4 ve % 53.4, rifampisin için % 13.0 ve % 67.2, gentamisin için % 14.1 ve % 74.1, klindamisin için % 19.5 ve % 57.8, sefalotin ve tetrasiklin için % 42.3 ve % 77.5, penisilin G için % 73.9 ve % 96.5 olarak saptanmıştır. Vankomisine dirençli suş saptanmamıştır. Metisilin direnci dikkate alınmaksızın yapılan değerlendirmede, en yüksek direnç oranı penisilin G’de (% 96.5) gözlenmiştir.

Çukurova Üniv. Tıp Fak. nin yaptığı bir çalışmada (Menteş, 1997), *MRSA* suşlarının eritromisin ve gentamisine (% 90.5) dirençlilik, klindamisin ve rifampisine % 65’in üzerinde dirençlilik gösterdiği bildirilmektedir. *MRSA* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotiklerin TMP-SMX (% 90.5) ve siprofloksasin (% 85.7) olduğu belirtilmiştir.

Ulusoy ve arkadaşlarının (1995) yaptığı çalışmada, *MRSA* suşlarının % 85.9 gentamisine, % 62.2 klindamisine dirençlilik gösterdiği bildirilmektedir.

Töreci ve arkadaşları *MRSA* suşlarının % 72.6’ında gentamisine karşı, % 58.9’unda rifampisine karşı direnç geliştiğini rapor etmişlerdir (Töreci ve ark., 1985).

Bayındır Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılan çalışmada (Büyükbaba ve ark, 1998; Gedik ve ark, 1997; Gürler ve ark, 1997), *MRSA* suşlarında vankomisin direnci saptanmamıştır. En düşük direnç TMP-SMX’e % 50 olup, diğer antibiyotiklere yüksek oranda direnç görüldüğü belirtilmiştir.

Diler ve Kocabeyoğlu (1998)’nin yaptığı çalışmada, metisiline dirençli ve duyarlı stafilokoklar suşlarının tamamında vankomisine direnç saptandığı belirtilmiştir. Kullanılan diğer antibiyotikler içerisinde glikopeptidlerden sonra stafilokok suşlarına en etkili antibiyotiklerin, *MRSA* lar için kotrimaksazool (%75), amikasin (%74), gentamisin (%73), *MRKNS* ‘lar için rifampin (%88), siproflaksasin (%87) ve kotrimaksazol (%81) olduğu belirtilmiştir.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılan çalışmada (Yakupoğulları ve ark, 2006), 137 *S. aureus* suşunun kinilonlara (siprofloksasin, ofloksasin, lovoksasin, ve moxifloksasin) olan duyarlılıkları araştırılmıştır. Tüm suşlarda metisilin direnç oranı % 49 olarak saptanırken, metisilin duyarlı suşlarda siprofloksasin duyarlılığı % 61, moksifloksasin duyarlılığı

ise % 74 olarak saptanmışken; metisilin dirençli suşlarda siprofloksasin duyarlılığı % 42 ve moksifloksasin duyarlılığı % 45 olarak bulunduğu belirtilmiştir.

Bu araştırmada değişik kaynaklardan izole edilen Stafilokok suşlarının tiplendirilmesi, metisilin dirençliliklerinin araştırılması ve bu suşların antibiyotiklere duyarlılıklarındaki farklılıkların ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Örnekler

Araştırmamızda, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına getirilen toplam 120 adet süt örneği, 60 adet yara yeri svabı ve 20 adet idrar örneği *Staphylococcus sp.* yönünden incelendi.

3.2. Metot

Laboratuvara getirilen örnekler % 5 koyun kanlı agara (Difco) ekilip, 37°C de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, üreme görülen, gram boyası ile boyandığında gram pozitif gruplar halinde gözlenen ve % 3 H₂O₂ ile katalaz aktivitesi pozitif olan mikroorganizmalar *Micrococcaceae* ailesinden kabul edildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.1. Mikrokok-Stafilokok Ayırımı

İncelenecek olan mikroorganizma 1 ml Tryptic soy broth (Oxoid) içerisinde çoğaltıldıktan sonra, Mueller-Hinton (Oxoid) agara ekimleri yapıldı. Ekim bölgesinin üzerine basitrasin (Oxoid) (0.04 U/ml) diskleri yerleştirildi. 37°C'de 18 saat inkübasyonu takiben disklere dirençli olan suşlar stafilokok, duyarlı olan suşlar ise mikrokok olarak isimlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

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

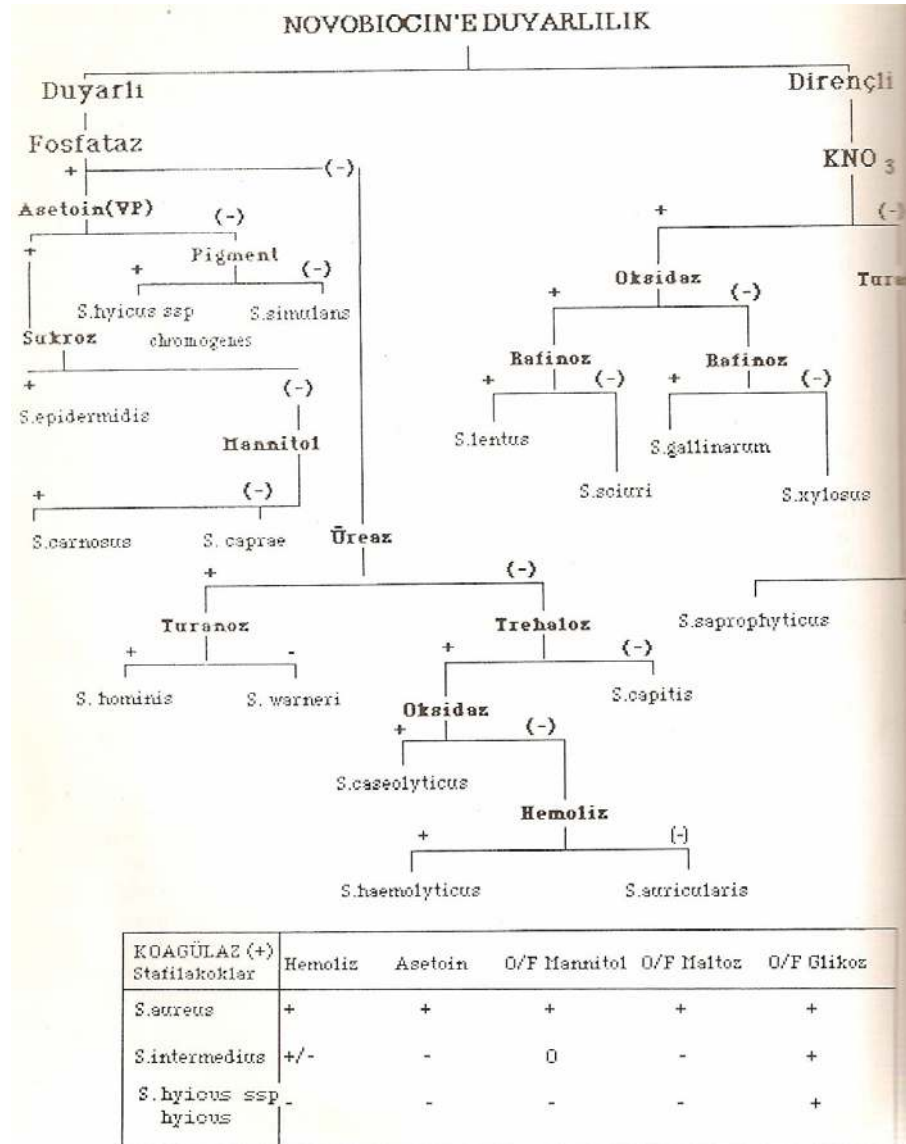
3.2.2. Koagulaz Pozitif Stafilokokların Tiplendirilmesi

Koagulaz pozitif stafilokoklar, klumping faktör, fosfataz, asetonin, üreaz, hemolizin, mannitol, O/F ve glikoz O/F özelliklerine göre *S. aureus*, *S. intermedius* olarak identifiye edildiler (Koneman ve ark, 1997; Holt et al., 1994).

3.2.3. Koagülaz Negatif Stafilokokların Tiplendirilmesi

Koagülaz negatif stafilokoklar novobiocine duyarlılıkları, üreaz aktivitesi, nitrat redüksiyonu, maltoz, mannoz, trehaloz, mannitol, sukroz ve laktoz fermentasyonu ve arjinin hidrolizi açısından değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997; Holt et al., 1994).

Şekil1. Koagülaz Negatif *Staphylococcus*'ların İdentifikasyon Şeması (Erganiş, 1994)



3.2.4. Stafilokok Suşlarının Tiplendirilmesinde Kullanılan Biyokimyasal Testler

3.2.4.1. Novobiosine Duyarlılık Testi

Stafilokoklar içerisinde 3 ml Tryptic Soy Broth (Oxoid) bulunan tüplere inoküle edildi. Kontrol tüpü hariç diğer tüplere 5 µg novobiosin (Oxoid) içeren diskler konulduktan sonra antibiyotiğin besiyerine salınması için 4-5 saniye çalkalanarak, 37°C'de 5 saat inkübasyona bırakıldı. Tüpler bulanıklık açısından gözlemlendi, bulanıklığın olmadığı tüpler novobiosine duyarlı olarak değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.4.2. Çabuk Üreaz Testi

Besiyeri olarak içerisinde litrede 0.1 g Bacto-yeast extract, 9.1 g potasyum fosfat-monobazik, 9.5 g sodyum fosfat-diabazik, 20 g üre, 0.01 g Bacto-fenol kırmızısı bulunan hazır üre besiyerinden (Difco) 38.7 g 1 L distile suda çözülerek, 0.2 mikron por çaplı membran filtreden süzöldükten sonra tüplere 0.5'er ml dağıtıldı. Ekim yapıldıktan sonra tüpler 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 15., 30. ve 60. dakikalarda besiyerinin pembe veya kırmızı renk alması pozitif olarak değerlendirildi. 60. dakikada renk değişikliği görülmeyen tüpler 4 saate kadar bekletildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.4.3. Nitrat Redüksiyonu

Nitrat redüksiyonu için besiyeri olarak 5 g tripton (Oxoid), 5 g neopepton (Difco) 1 L distile suda kaynatılarak çözüldükten sonra pH 7.3'e ayarlandı ve 1 g potasyum nitrat (Sigma), 0.1 g glukoz (Merck) eklenerek 5'er ml'lik miktarlarda tüplere dağıtıldı. 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Tüplere ekimler yapıldıktan sonra 48 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üç damla A ayırıcından (4 g sülfonilik asit, 500 ml 5 M asetik asit) ve üç damla B ayırıcından (3 ml N, N-dimetil-1-naftilamin) tüplere damlatılarak 30 dakika beklendi. Tüplerde kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.4.4. Karbonhidrat Fermentasyonunun İncelenmesi

Karbonhidrat fermentasyonunun incelenmesi için tek şekerli besiyeri kullanıldı. 5 g pepton (Oxoid), 2.5 g NaCl (Merck) 500 ml distile suda çözülerek % 1'lik peptonlu su hazırlanarak, pH 7.2'ye ayarlandı. 100 cc. peptonlu su içerisine % 1 oranında ilgili şeker ve % 1 oranında Andrade ayırıcı katılarak tekrar pH kontrolü yapıldıktan sonra küçük tüplere dağıtıldı. Tüpler 100°C'de 3 gün üst üste tindalizasyon ile sterilize edildi. Ekilen tüpler 37°C'de 48 saatlik inkübasyonu takiben besiyerinin rengindeki kızarma, içeriği olan şekerin kullanıldığını göstermektedir (Koneman ve ark, 1997).

3.2.4.5. Arjinin Hidrolizi

5 g pepton (Oxoid), 5 g beef extract (Difco), 0.625 g bromkrezol moru (Merck), 14 ml krezol kırmızısı (Merck), 5 g pridoksal (Merck), 10 g L. Arjinin (Merck) 1 L distile su içerisinde çözülerek, pH 6.5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra tüplere 3'er ml dağıtılarak 121°C'de 10 dakika sterilize edildi. Ekim yapılan tüpler 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve 3 gün süreyle takip edildi. Besiyerinin mor olan renginin sararması, ardından kırmızımsı renk alması pozitif, sarı renkte kalması ise negatif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.4.6. Slime Faktör Varlığının İncelenmesi

Slime faktör, Christensen yöntemi ile incelendi (Christensen, G.D. et al., 1983). Koyun kanlı agarda üretilmiş suşlar 5 ml Tryptic soy broth (Oxoid) içeren cam tüplere ekilerek 48 saat 37°C'de inkübe edildi. Tüplerin içerisindeki besiyeri boşaltıldıktan sonra yerlerine % 0.1'lik safranin çözeltisi konarak çalkalandı ve 5 dakika bekletildi. Daha sonra boya çözeltisi boşaltılarak, tüpler birkaç kez su ile çalkalandı. Tüp çeperinde gözle görülür bir tabaka oluşmuşsa bu tüplere ekilmiş olan suşlar slime (+) olarak değerlendirildi. Besiyerinin tüpte ulaştığı düzeyde bulunan halka şeklindeki boyanma slime olarak kabul edilmedi (Christensen et al., 1984).

3.2.4.7. Oksidaz Testi

Ayıraç olarak Dimetilsulfoksit içerisinde eritilerek hazırlanan % 6'lık tetramethpherülen diamine hydrochloride kullanıldı. Ayıraç, TSA ve/veya nutrient agar da üretilen koloniler üzerine damlatıldığında 1-2 dakika içerisinde mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.5. Metisilin Dirençliliği

İdentifikasyonları yapılan Stafilokok suşlarının metisiline olan dirençliliklerinin tespitinde Müeller-Hinton Agar (Difco) kullanılarak Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi uygulandı (Bauer et al., 1966; Qoronfleh and Wilkinson, 1986).

Hazırlanan Müeller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra donmaya bırakıldı. Stafilokokların 0.5 Mc Farland değerindeki buyyon kültürlerinden plak besiyerinin yüzeyine her tarafa yaydırılacak şekilde ekimleri yapıldı. Ekim yüzeyinin kuruması için birkaç dakika beklenildikten sonra Metisilin (Oxoid, MET 5 µg) diskleri ucu alevden geçirilerek steril edilmiş pensetle beiyerlerinin ortasına yerleştirildi.

Plaklar 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra, 37°C'de 24 saat inkübe edilerek, disk çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek metisilin dirençlilikleri saptandı (Bauer et al., 1966; Qoronfleh and Wilkinson, 1986).

3.2.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Müeller-Hinton Agar (Difco) kullanılarak Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi uygulandı (Bauer et al., 1966; Qoronfleh and Wilkinson, 1986).

Hazırlanan Müeller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra donmaya bırakıldı. Stafilokokların 0.5 Mc Farland değerindeki buyyon kültürlerinden plak besiyerinin yüzeyine her tarafa yaydırılacak şekilde ekimleri yapıldı. Ekim yüzeyinin kuruması için birkaç dakika beklenildikten sonra diskler ucu alevden geçirilerek steril edilmiş pensetle kenardan

1.5 cm, birbirlerinden 1.5 cm olacak şekilde yerleştirildi. Kullanılan antibiyotik diskleri ve disk içerikleri şunlardır :

Penicillin G (Oxoid, P= 10 U), Kanamycine (Oxoid, K= 30µg), Erythromycin (Oxoid, E= 15µg), Ciprofloxacin (Oxoid, CIP= 5µg), Sulbactam+Ampicillin (Oxoid, SAM=Sulbactam 10µg, Ampisilin 10µg), Oksitetrasiklin (Oxoid, OT= 30µg), Gentamycine (Oxoid, CN= 10µg), Amoxicillin- Clavulanic Acid (Oxoid, AMC= 10 µg), Sulphamethaxazole+Trimethoprim (Oxoid, SXT= 25µg), Vancomycin (Oxoid, VA= 30µg), Teikoplanin (Oxoid, TEC= 30µg).

Plaklar 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra, 37°C'de 24 saat inkübe edilerek, disk çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek Tablo 9'da gösterilmiştir (Bauer et al., 1966; Qoronfleh and Wilkinson, 1986).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Bu araştırmada Rutin teşhis laboratuvarına getirilen klinik ve subklinik mastitisli ineklere ait 120 adet süt örneğinden 74 adet, 60 adet yara yeri svabı örneğinden 42 adet ve 20 adet idrar örneğinden ise 7 adet stafilocok suşu izole edildi.

Sütlerden izole edilen Stafilocok suşlarının 33 (% 44.6)'ü koagulaz pozitif ve 41 (% 55.4)'i koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşların tamamı *S. aureus* (33 suş- %100) olarak tiplendirildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 13 suş (% 31.7) *S. hyicus*, 10 suş (% 24.4) *S. epidermidis*, 7 suş (% 17.1) *S. sciuri*, 5 suş (% 12.2) *S. haemolyticus*, 3 suş (% 7.3) *S. lentis* ve 3 suş (% 7.3) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

Yara yeri svabı örneklerinden izole edilen Stafilocok suşlarının 30 (% 71.4)'u koagulaz pozitif ve 12 (% 28.6)'si koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşlarının 22 suş (% 73.3) *S. aureus*, 8 suş (% 26.7) *S. intermedius* olarak identifiye edildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 7 suş (% 58.3) *S. hyicus*, 2 suş (% 16.7) *S. sciuri*, 2 suş (% 16.7) *S. haemolyticus*, 1 suş (% 8.3) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

İdrar örneklerinde izole edilen Stafilocok suşlarının 4 (% 57.1)'ü koagulaz pozitif ve 3 (% 42.9)'ü koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşların tamamı *S. aureus* (4 suş- %100) olarak tiplendirildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 1 suş (% 33.3) *S. hyicus*, 1 suş (% 33.3) *S. epidermidis*, 1 suş (% 33.3) *S. sciuri* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

Koagulaz pozitif ve koagulaz negatif Stafilocokların kültürel ve biyokimyasal özellikleri Tablo 5 ve Tablo 7'de belirtilmektedir.

TABLO 4. Koagulaz Pozitif Suşların Biyotipleri (n=67)

Koagulaz Pozitif Suşların Biyotipleri	İdentifikasyon Yapılan Örnekler			İdentifiye Edilen Biyotiplerin Sayısı (adet)	İdentifiye Edilen Biyotiplerin Yüzdesi (%)
	Süt Örnekleri	Yara Yeri Svabları	İdrar Örnekleri		
<i>S. aureus</i>	33	22	4	59	88.0
<i>S. intermedius</i>	-	8	-	8	12.0

TABLO 5. Koagulaz Pozitif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri (n= 67)

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

TABLO 6. Koagulaz Negatif Suşların Biyotipleri (n=56)

Koagulaz Negatif Suşların Biyotipleri	İdentifikasyon Yapılan Örnekler			İdentifiye Edilen Biyotiplerin Sayısı (adet)	İdentifiye Edilen Biyotiplerin Yüzdesi (%)
	Süt Örnekleri	Yara Yeri Svabları	İdrar Örnekleri		
<i>S. hyicus</i>	13	7	1	21	37.5
<i>S. epidermidis</i>	10	-	1	11	19.6
<i>S. sciuri</i>	7	2	1	10	17.9
<i>S. haemolyticus</i>	5	2	-	7	12.5
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	3	1	-	4	7.1
<i>S. lentis</i>	3	-	-	3	5.3

Tablo 7. Koagulaz Negatif Stafilocokların Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri (n= 56)

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

Stafilokok suşlarının slime değerleri Tablo 8’ de gösterilmiştir.

Tablo 8. Stafilokok Suşlarının Slime Değerleri

Slime Değerleri	Koagulaz Pozitif Stafilokoklar (n=67)		Koagulaz Negatif Stafilokoklar (n=56)	
	Suşlar	%	Suşlar	%
Slime (+)	10	15.0	6	10.7
Slime (++)	8	12.0	17	30.4
Slime (+++)	22	32.8	9	16.0
Slime (-)	27	40.2	24	42.9

İdentifikasyonları yapılan Stafilokok suşlarının Metisiline olan dirençlilikleri Tablo 9’da belirtilmektedir.

Tablo 9. Stafilokok Suşlarının Metisilin Dirençlilikleri

Stafilokok Suşları	Metisilin		
	Dirençli	Az Duyarlı	Duyarlı
S. aureus (n=59)	20	10	29
S. intermedius (n=8)	3	-	5
S. hyicus (n=21)	7	5	9
S. epidermidis (n=11)	5	-	6
S. sciuri (n=10)	-	4	6
S. haemolyticus (n=7)	4	1	2
S. cohnii subsp. cohnii (n=4)	1	1	2
S. lentis (n=3)	1	1	1

Stafilokokların antibakteriyellere duyarlılıkları değerlendirilirken standart inhibisyon zon sınırları gözönünde bulundurulmuştur (Tablo 10).

Tablo 10. Kullanılan Antibakteriyellerin Etki Derecelerine Göre İnhibisyon Zon Sınırları

Antibiyotikler	Dirençli (R)	Az Duyarlı (I)	Duyarlı (S)
MET (5 µg)	≤ 9	10 – 13	≥ 14
P (10 U)	≤ 27	28	≥ 29
K (30 µg)	≤ 19	21 – 23	≥ 26
E (15 µg)	≤ 13	14 – 17	≥ 18
CIP (5 µg)	≤ 15	16 – 20	≥ 21
SAM (20 µg)	≤ 11	12 – 13	≥ 14
OT (30 µg)	≤ 8	17 – 20	≥ 21
AMC (30 µg)	≤ 19	-	≥ 20
CN (10 µg)	≤ 12	13 – 14	≥ 15
SXT (25 µg)	≤ 10	11 – 15	≥ 16
VA (30 µg)	≤ 9	10 – 11	≥ 12
TEC (30 µg)	≤ 10	11 – 13	≥ 14

Antibiyotik duyarlılıklarının stafilokok türlerine göre dağılımı Tablo 11’ da gösterilmiştir.

Tablo 11. Antibiyotik Duyarlılıklarının Stafilocok Türlerine Göre Dağılımı

<i>Stafilokok Türleri</i>	<i>A N T İ B İ Y O T İ K L E R</i>																	
	<i>P</i>			<i>K</i>			<i>E</i>			<i>CIP</i>			<i>SAM</i>			<i>OT</i>		
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S
S. aureus (n=59)	38	5	16	44	1	14	8	6	45	15	7	37	8	4	47	10	37	12
S. intermedius (n=8)	5	-	3	6	1	1	-	-	8	-	2	6	-	-	8	1	3	4
S. hyicus (n=21)	6	3	12	13	5	3	-	2	19	-	-	21	-	3	18	2	8	11
S. epidermidis (n=11)	4	1	6	3	5	3	-	2	9	-	3	8	-	2	9	1	4	6
S. sciuri (n=10)	1	1	8	1	7	2	-	1	9	-	3	7	-	3	7	1	3	6
S. haemolyticus (n=7)	-	2	5	5	1	1	-	-	7	-	1	6	-	1	6	-	2	5
S. cohnii subsp. cohnii (n=4)	3	1	-	4	-	-	-	-	4	-	-	4	-	-	4	-	1	3
S. lentis (n=3)	3	-	-	3	-	-	-	-	3	-	-	3	-	-	3	-	1	2

Tablo 11 devamı

<i>Stafilokok Türleri</i>	<i>AMC</i>			<i>CN</i>			<i>SXT</i>			<i>VA</i>			<i>TEC</i>			
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	
S. aureus (n=59)	12	7	40	24	8	27	7	4	48	27	3	29	27	2	30	
S. intermedius (n=8)	-	2	6	3	-	5	-	1	7	3	1	4	3	-	5	
S. hyicus (n=21)	-	3	18	6	2	13	-	5	16	-	3	18	-	-	21	
S. epidermidis (n=11)	-	-	11	4	1	6	-	2	9	-	-	11	-	2	9	
S. sciuri (n=10)	-	4	6	3	6	1	-	3	7	-	4	6	-	3	7	
S. haemolyticus (n=7)	-	2	5	1	4	2	-	3	4	3	1	3	3	-	4	
S. cohnii subsp. cohnii (n=4)	-	-	4	3	1	-	-	-	4	4	-	-	4	-	-	
S. lentis (n=3)	-	-	3	-	2	1	-	1	2	-	1	2	-	-	3	

4.2. Tartışma

Stafilokoklar, Micrococcaecae ailesi içinde yer alan ve üzerinde uzun yıllardır tıbbi açıdan önemli araştırmalar yürütülen cinsi oluşturlar (Archer, 1990). Klinik çalışmalarda önceleri saprofit ve değersiz kontaminantlar olarak kabul edilen *koagulaz negatif stafilokoklar*, son 30 yıl içerisinde çok önemli infeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedirler (Abigail and Dixie, 1994; Jawetz et al., 1987; Gür ve ark, 1998; Patrick, 1990; Ulusoy ve ark, 1995; Töreci ve ark, 1985).

Son yıllara kadar kültürde üreyen *koagulaz negatif stafilokoklar*, çoğu laboratuvarlar tarafından deri ve mukoza florasında en sık bulunan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmekteydi (Akan ve ark, 1992; Bal ve ark, 1983). Bugün için *koagulaz negatif stafilokokların* patojenitesinin anlaşılması, çeşitli çalışmalarda *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri* gibi türlerin infeksiyon etkeni olarak bildirilmesi (Akan ve ark, 1992; Voss ve ark, 1994), türler arasında gözlenen farklı antibiyotik paternleri ve dirençli suşların artması *koagulaz negatif stafilokokların* tiplendirilmesinin epidemiyolojik ve klinik açılardan gerekliliğini ortaya koymaktadır (Auwera et al, 1990; Devriese et al, 1994; Kurt ve ark, 1992).

Günümüzde mikrokok stafilokok ayırımında sadece basitrasın duyarlılık testinin yeterli bir kriter olduğu savunulmaktadır (Ball, 1990).

Araştırmamızda, gram pozitif ve katalaz aktivitesi pozitif sonuç veren suşlara basitrasın duyarlılık testi uygulanıp mikrokoklardan kesin ayrımları yapıldı.

Ülkemizde mastitis ile ilgili birçok araştırma bulunmaktadır. Kaya ve ark. (1993), subklinik ve klinik mastitis örneklerinden % 39.40 oranında *Staphylococcus aureus* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca Erganiş ve ark. (1995), Konya yöresinde inek ve koyun mastitislerine yönelik yaptıkları bir araştırmada 55 suşun 26'sını *Staphylococcus aureus* ve 28'ini ise *koagulaz negatif Stafilokok* olarak tiplendirmişlerdir. Aynı araştırmada *koagulaz negatif Stafilokok*'ların biyotiplendirilmeleri de yapılmıştır. Kırkan ve ark. (2005)'nin Aydın yöresinde yaptıkları bir araştırmada, 300 adet mastitisli süt örneğinden 85 (% 28.33)'i *Staphylococcus aureus* ve 60 (% 20.00)'ı *koagulaz negatif stafilokok* olarak izole etmişlerdir. *Koagulaz negatif Stafilokok*'ların bakteriyolojik kültürleri, 20 suş (% 20.00)

33.33) *S. hyicus*, 16 suş (% 26.66) *S. chromogenes*, 9 suş (% 15.00) *S. epidermidis*, 5 suş (% 8.33) *S. haemolyticus*, 4 suş (% 6.66) *S. sciuri*, 3 suş (% 5.00) *S. lentis* ve 3 suş (% 5.00) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak tiplendirilmiştir.

Araştırmamızda, sütlerden izole edilen Stafilocok suşlarının 33 (% 44.6)'ü koagulaz pozitif ve 41 (% 55.4)'i koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşların tamamı *S. aureus* (33 suş- %100) olarak tiplendirildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 13 suş (% 31.7) *S. hyicus*, 10 suş (% 24.4) *S. epidermidis*, 7 suş (% 17.1) *S. sciuri*, 5 suş (% 12.2) *S. haemolyticus*, 3 suş (% 7.3) *S. lentis* ve 3 suş (% 7.3) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

Yara yeri savbı örneklerinden ise, izole edilen Stafilocok suşlarının 30 (% 71.4)'ü koagulaz pozitif ve 12 (% 28.6)'si koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşlarının 22 suş (% 73.3) *S. aureus*, 8 suş (% 26.7) *S. intermedius* olarak identifiye edildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 7 suş (% 58.3) *S. hyicus*, 2 suş (% 16.7) *S. sciuri*, 2 suş (% 16.7) *S. haemolyticus*, 1 suş (% 8.3) *S. cohnii subsp. cohnii* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

Ayrıca idrar örneklerinden izole edilen Stafilocok suşlarının 4 (% 57.1)'ü koagulaz pozitif ve 3 (% 42.9)'ü koagulaz negatif olarak belirlendi. Koagulaz pozitif suşların tamamı *S. aureus* (4 suş- %100) olarak tiplendirildi (Tablo 4). Koagulaz negatif suşların ise 1 suş (% 33.3) *S. hyicus*, 1 suş (% 33.3) *S. epidermidis*, 1 suş (% 33.3) *S. sciuri* olarak identifiye edildi (Tablo 6).

İlk kez Christensen ve ark.'ları (1985) patojen *S. epidermidis* suşlarının kültür tüpünün iç yüzeyini kaplayarak bir ağ (slime) oluşturdıklarını göstermişlerdir. Jones ve ark. (1992), slime maddesi oluşturan suşlar arasında en fazla *S. epidermidis*'e rastlandığını bildirmiştir. Christensen ve ark. (1984), *S. warneri* suşları hariç, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* ve *S. hominis* suşlarında da slime pozitifliği tespit etmiştir. Voss ve ark. (1994) slime pozitifliğini *S. epidermidis* suşlarında % 73, *S. hominis* suşlarında % 57 ve *S. haemolyticus* suşlarında % 67, *S. warneri* suşlarında ise % 0 olarak bildirmektedir.

Bu çalışmada koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilocok suşlarının tümünde değişik derecelerde (+, ++, +++, +++) slime pozitifliği saptanmıştır.

Yukarıdaki bilgilerin ışığı doğrultusunda slime oluşturma özelliğinin tek başına tiplendirmede kullanılmaktan çok, bir patojenite testi olarak kullanılması daha uygun gözükmektedir (Christensen et al., 1985; Voss et al., 1994).

Birçok çalışmada (Akova ve ark, 1989; Bilgehan, 1993; Christensen et al., 1983; Ishak et al., 1985; Kiraz, 1993) patojen olduğu kesinleşmiş koagulaz negatif stafilokok suşlarında slime testi pozitifliği, saprofit stafilokoklara oranla daha yüksek olarak saptanmıştır. Christensen ve ark. (1984), klinik önemi olan kan izolatlarında % 60 oranında slime pozitifliği saptarken, kontaminantlarda bu oranı % 37 olarak saptamıştır. Akova ve ark. (1989), izole ettikleri koagulaz negatif stafilokok suşlarında belirledikleri slime faktör sıklığı ile infeksiyon oluşturma sıklığı arasında bir korelasyon tespit etmişlerdir.

Yurdumuzda bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada (Akova ve ark, 1989), slime yapımının infeksiyonun patogenezi göstermesi yönünden yararlı olduğu bildirilmiştir. Stafilokoklardaki bu özellik scanning ve transmission elektron mikroskopi, mannoz spesifik lektin aglutinasyon test (Kotilainen et al., 1991) ve spektrofotometrik yöntemlerle (Çiftçioğlu, 1991) de gösterilebilmekle beraber, slime oluşumunda kullanılan tüp yönteminin daha kolay, pratik, ekonomik ve rutinde rahatça kullanılabilir bir test olduğunu savunulmaktadır (Degener et al., 1994).

Hassasiyeti açısından üzerinde hala tartışmalar yapılan Micro-Scan, API-Staph Ident gibi yöntemler pratik olduklarından dolayı bazı araştırmacılar tarafından önerilmelerine rağmen (Akova et al., 1989), özel kit ve masraf gerektirdiğinden ülkemiz için pahalı yöntemlerdir.

Tiplendirmede stafilokokların antibiyotik duyarlılığının da kullanılacağı bildirilmektedir (Devriese et al., 1994).

Tiplendirme için kullanılan SDS-PAGE, Immunoblot, nükleik asit hibridizasyonu, mikrotiter assay gibi ileri teknikler epidemiyolojik olarak daha kesin sonuçlar verebilmelerine rağmen, bu yöntemlerle bile % 11 oranında tiplendirilemeyen stafilokoklar bulunmaktadır (Degener et al., 1994; Entenza et al., 1994; Mc Taggart and Elliot, 1989). Bugün için hiçbir yöntem tek başına ideal sayılmayıp, epidemiyolojik çalışmalarda bunların kombinasyonları kullanılmaktadır (Akan et al., 1992).

Koagulaz varlığı araştırılırken, çabuk lam testi daha çabuk sonuç verdiğinden ve daha güvenilir olduğundan tercih edilmektedir. Ancak testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagulaz açısından tüp testi de uygulanarak test doğrulanmalıdır (Akan, 1993; Koneman et al., 1997). Koagulaz testi *S. aureus*'ları tanımlamada en önemli kriter olduğundan, bu cins içinde olduğuna karar verilen bir mikroorganizmada beta hemoliz ve sarı pigment varlığına veya yokluğuna bakılmaksızın koagulaz testi uygulanması ve pozitif bulunan suşların *S. aureus* olarak kabul edilmesi önerilmektedir (Şener ve ark., 1991). Koagulaz aktivitesi pozitif olan *S. intermedius*, *S. hyicus* gibi koagulaz negatif stafilokoklar grubunda yer alan türler bulunmasına rağmen, bunların hayvan patojenleri olduğu bildirilmektedir. Tp testinde 37  C'de, 4 saatlik inkubasyonu takiben negatif bulunan suşların, oda ısısında 1 saatlik inkubasyonu sonucu plazmayı pıhtılaştıracakları bildirilmektedir (Koneman et al., 1997).

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

Mannitol fermentasyonu da stafilokoklar için önem verilen patojenite kriterlerinden birisidir (Thomson-Carte and Pennington, 1989).

Bu çalışmada koagulaz pozitif stafilokok suşlarının % 82'si, koagulaz negatif stafilokok suşlarının ise % 30'u mannitol pozitif reaksiyon vermiştir. Mannitol fermentasyonu, beta hemoliz ve sarı pigment varlığı bugün için *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede değerli kriterler olarak kabul edilmemektedir (Timmerman et al., 1991).

Pekçok rutin teşhis laboratuvarlarında koagulaz aktivitesine bakılarak koagulaz negatif stafilokoklar normal ve deri florasında en sık rastlanan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmektedir (Bal ve ark, 1983; Christensen et al., 1984).

Serotiplendirme gerek yöntemin pahalılığından, gerekse spesifik serum hazırlamanın güçlüğünden dolayı hiç tercih edilmeyen bir yöntemdir (Patrick et al., 1990).

Faj tiplendirme yöntemlerinde koagulaz negatif stafilokoklar için henüz bir standart oluşturulamamıştır. Bazı araştırmalarda (Mc Taggart and Elliot, 1989), faj

tiplendirmesinin epidemiyolojik olarak suşları ayırt etmede yeterli hassasiyetinin bulunmadığı vurgulanmaktadır.

Sürekli yeni antibiyotikler geliştirilmesine rağmen, genel olarak, bir antibiyotik ailesinden birine karşı duyarlılık ya da direnç bulunması, diğerleriyle ilgili yorum yapılmasını sağlamaktadır. Streptokoklar başta olmak üzere gram pozitif koklarda eritromisin direnci, klaritromisin, azitromisin gibi yeni makrolitlere karşı da direnç bulunduğunu göstermektedir (Courvalin, 1996). Benzer şekilde antibiyotiğin hedefini değiştiren bir direnç mekanizması yapı olarak farklı, ancak aynı hedefe etkili tüm antibiyotiklere direnç gelişimine neden olmaktadır. Yine gram pozitif koklarda eritromisin ve klindamisin direncinin birlikte saptanması rRNA'daki hedef bölgesinin metilasyonunu ve bunun sonucunda, yapı olarak makrolidlerle ilişkisiz, ancak aynı hedefe etkili linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı da direnç varlığını göstermektedir (Seppala et al., 1998). Bunlardan başka gram pozitif koklarda gentamisin direnci bulunması bu suşun tüm aminoglikozidlere dirençli olarak yorumlanmalıdır. Gram pozitif koklarda amikasin ve netilmisin ile alınan invitro sonuçlar klinik sonuçlarla uyumsuz olduğu için duyarlılık testlerinde kullanılması anlamsızdır. Bu tip mikroorganizmalarda kanamisin direnci, amikasin içinde değerlendirilebilir (Courvalin, 1996).

S.aureus ve diğer stafilokoklara oldukça etkili olan penisilinaza dirençli metisilin 1960'lı yılların hemen başında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak birkaç yıl içerisinde önce İngiltere ve sonra Türkiye'den *MRSA* suşları bildirilmiştir (Çetin ve Anđ, 1962). Başlangıçta *MRSA* suşları ile seyrek olarak karşılaşılmasına rağmen, 1968 yılından itibaren *MRSA* suşları ile hastane infeksiyonlarının meydana geldiği kaydedilmiştir (Shanson et al., 1976; Gürler ve Töreci, 1990).

Bu araştırmada, *S. aureus* suşlarının % 33.8'i, *S. intermedius*'un % 37.5'i, *S. hyicus*'un % 33.3'ü, *S. epidermidis*'in % 45.5'i, *S. haemolyticus*'un % 57.1'i, *S. cohnii subsp. cohnii*'nin % 25'i, *S. lentis*'in % 33.3'ü Metisiline direnç gösterirken, *S. sciuri* de Metisilin direncine rastlanılmamıştır.

MRSA'nın kolonizasyonu ve enfeksiyonu için en önemli risk faktörleri yaş, yaşa bağlı infeksiyonlar, nazal kolonizasyon ve yabancı cisimlerdir (katater,

trakeostomi, nazogastrik tüp) (Bradley, 1992). *MRSA* ile enfekte olan hastaların çoğunda hastanede yatış sürelerinin uzun, antibiyotik kullanımı fazla ve metisiline duyarlı *S.aureus* ile enfekte olma riskinin fazla olduğu gözlemlenmektedir (Hershow et al., 1992). *MRSA* suşlarının kolonizasyon ve infeksiyonlarının sporadik, endemik ve epidemik olarak ortaya çıktığı kaydedilmiştir (Marples and Cooke, 1988).

MRSA, düşük düzeyde protein A ve güçlü bir koagülaz reaksiyonu ile karakterizedir. *MRSA* 'ların diğer *S.aureus* 'lardan daha az veya daha fazla virulan olduğu hala tartışılmaktadır. Bununla beraber bazı sağlık merkezleri, *MRSA* 'lar ile önemli kabul edilebilecek mortalite oranları bildirmişlerdir (Marples and Cooke, 1988; Qoronfleh and Wilkinson, 1986). İngiltere'de *MRSA* suşlarının hastalar arasında kolonize olduğu ve infeksiyonların ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Eğer bir kez kolonize olurlarsa, eldeki imkanların bu kolonizasyonu önlemeye yeterli olmayacağı ve bu sebeple *MRSA* infeksiyonlarının ortaya çıkacağı belirtilmiştir (Marples and Cooke, 1988; Francioli et al., 1991). İsviçre'de hastanede izole edilen *S.aureus* suşlarının % 40-60'nın metisiline, ayrıca büyük çoğunluğunun da bir çok antibiyotiğe dirençli olduğu rapor edilmiştir (Entenza et al., 1994).

MRSA 'ların sebep olduğu hastane infeksiyonlarına dünyanın birçok ülkesinde sıklıkla rastlanmaktadır. *MRSA* suşları epidemiyolojik farklılıklar göstermesine rağmen tüm ülkelerde dirençlilik özellikleri açısından benzerlik özellikleri görülmektedir (Marples and Cooke, 1988). Metisiline direnç, stafilokok infeksiyonlarında beta-laktam antibiyotiklerin kullanılabilirliğinin kriteri olarak kabul edilmekte, metisiline dirençli suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde beta-laktam antibiyotiklerin önerilmediği belirtilmektedir (Boyce et al., 1998).

Makrolit ve Linkozamide direnç, gerek rRNA'nın modifikasyonuna gerekse antibiyotiğin enzimatik modifikasyonuna bağlı olabilir. *MRSA* 'larda bu grup antibiyotiklere karşı yüksek oranlarda direnç geliştiği rapor edilmiştir. *MRSA* 'larda kromozomal veya plazmit kaynaklı olabilen, yaygın olarak görülebilen (%90'ın üzerinde) gentamisin direnci kaydedilmiştir (Maple et al., 1989). Gentamisine dirençli *MRSA* 'ların bir çok ülkede büyük bir sorun oluşturdukları ve bunların

sıklıkla kinolon direnci ile birlikte görüldüğü bildirilmiştir (Auwera et al., 1990; Entenza et al., 1994).

Siprofloksasin, son yıllarda *MRSA* infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir antibakteriyeldir. Ancak bu yaygın kullanım sonucu bir çok ülkede dramatik bir şekilde direnç artışı (% 49-76) olduğu rapor edilmiştir (Auwera et al., 1990; Harnett et al., 1991; Raviglione et al., 1990). Bir kinolona karşı direnç gelişen *MRSA*'larda diğer kinolonlara da çapraz direnç görüldüğü kaydedilmiştir (Harnett et al., 1991). RMP direnci de, kinolon direnci gibi sıktır ve seleksiyonları izleyen kromozomal mutasyonlara bağlı olarak gelişir. Uygun kombinasyonlarda kullanıldığında bu seleksiyonların az görüldüğü rapor edilmiştir (Maple et al., 1989). Bu sebeple RMP ve siprofloksasin kombinasyonunun gerek daha etkin olması, gerekse direnç gelişiminin az görülmesi sebebiyle *MRSA* infeksiyonlarının tedavisinde çok uygun olduğu bildirilmektedir (Peterson et al., 1990).

Araştırmamızda izole edilen *S. aureus* suşlarının % 25.4'ünde siprofloksasine direnç saptanırken, diğer izolatların hiçbirinde direnç görülmemesi dikkat çekicidir. Bu konu özellikle koagulaz negatif suşlarının siprofloksasin ile daha çok temasının olmadığı veya tedavilerde siprofloksasine daha az yer verildiği şeklinde yorumlanabilir.

Glikopeptid antibiyotikler günümüzde giderek artan gram pozitif enfeksiyonlar nedeniyle daha çok kullanım alanı bulan antibiyotiklerdir. Bu antibiyotiklere olan direnç önemli bir sorun olmaya başlamıştır. Bu grup içinde ilk olarak vankomisin 1956 yılında *Streptomyces orientalis*'ten ve sonra 1978 yılında teikoplanin *Actinoplanes teichomycetis*'ten izole edilmiştir. Daptomisin yeni geliştirilen glikopeptidlere örnek olarak verilebilir (Anonim, 2002).

Vankomisin, *MRSA* ve *MRKNS*' larla oluşan ciddi enfeksiyonların primer ilacıdır. Metisiline duyarlı stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamalıdır. Bu enfeksiyonlarda beta laktamlar bakterileri öldürme yetenekleri açısından glikopeptidlerden daha hızlı ve üstündürler. Teikoplanin ve vankomisini karşılaştıran çalışmalar bir meta-analizle incelendiğinde, klinik etkinliklerinin aynı olduğu, fakat yan etki gelişiminin teikoplanin de anlamlı olarak daha düşük

bulunduğu belirlenmiştir. Teikoplanin, vankomisin ile aynı kullanım alanına sahiptir, ancak pek çok kilinik tabloda deneyim yeterli değildir. Özellikle stafilokoklarda (*S. haemolyticus gibi*) teikoplanin'in direnç sorunu olabileceği hatırlanmalı, buna karşılık vankomisine dirençli enterokok (van B) enfeksiyonlarında tedavide dikkatli kullanılmalıdır. Enterokok dışı dirençli gram pozitif bakterilere klinik etkisi yeterince bilinmemektedir (Anonim, 2002).

Glikopeptidlere dirençli stafilokok ve enterokok enfeksiyonlarında kullanılabilecek yeni iki grup ilaç geliştirilmiştir. Bunlardan biri streptogramin olan quinopristin / dalfopristin ve bir oksazolidon olan linezolid en iyi bilinen ve olasılıkla yakında ÷lkemizde kullanılabilecek ajanlardır (Anonim, 2002).

Bu çalışmada, *S. aureus* suşları % 46, *S. intermedius* suşları % 37.5, *S. haemolyticus* suşları % 43 ve *S. cohnii subsp. cohnii* suşlarının tamamı vankomisin ve teikoplanin'e aynı oranlarda dirençlilik göstermişlerdir.

Koagulaz negatif stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi, özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisi ve eradikasyonu açasından problem oluşturmaktadır (Franciulli et al., 1991; Maple et al., 1989; Auwera et al., 1990; Gray et al., 1984; Kotilainen et al., 1990; Younger et al., 1987). Stafilokoklar sporsuz bakteriler içerisinde en dirençli bakterilerdendir (Boussard and Pithsy, 1993). Penisilinlerin kullanılmaya başlanıldığı yıllarda *S. epidermidis* suşlarının % 80'i penisiline duyarlıyken, 1940'lardan sonra bu direnç giderek artmış, bug÷n için % 85-90 oranlarına ulaşmıştır (Kloos and Smith, 1994; Ludlam et al., 1989). ÷lkemizde Ulusoy ve ark. 1995 yılında çeşitli klinik ÷rneklerden izole ettiği koagulaz negatif stafilokok suşlarında penisilin direncini % 79.9, Kurt ve ark. 1992 yılında % 64 olarak bildirmişlerdir. Çiftçioğlu 1991 yılında sağlıklı bireylerin burunlarından izole ettiği stafilokoklarda penisilin direncini % 38.2 olarak saptamıştır.

B÷ylesine yüksek oranda direnç oluşum mekanizmasıyla ilgili daha ÷nce yapılan çalışmalarda en b÷y÷k rol÷ plazmidler aracılığı ile aktarılabilen beta laktamaz enziminin aynadığı saptanmıştır (Boussard and Pithsy, 1993; Degener et al., 1994; Johnson et al., 1986). Araştırma sonuçları ÷lkemizde yüksek oranda bulunan penisilin direncinin ÷nemli bir sorun olduğunu göstermekte ve beta laktamaz

içeren stafilocokların sebep olduğu enfeksiyonlarda bilinçsizce penisilin grubu antibiyotik kullanımının antibiyotik duyarlılık testleri yapılarak önlenmesi gerekliliğini vurgulamaktadır.

Koagulaz negatif stafilocoklarda 1980' li yıllarda penisilin direnci % 41-74 olarak bildirilmiştir .

Bir çalışmada (Pezzlo, 1992), mastitisli inek sütlerinden izole ettiği 218 *S. epidermidis* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılığını incelediğinde, 202'sinin ampisilin, 167'sinin kloramfenikol, 213'ünün klortetrasiklin, 189'unun neomisin, 195'inin oksitetrasiklin ve 202'sinin streptomisin'e, ayrıca incelenen 46 *S. aureus* suşundan ise 42'sinin ampisilin, 41'inin kloramfenikol, 46'sının klortetrasiklin, 45'inin neomisin ve oksitetrasikline, 40'ının penisilin ve 44'ünün de streptomisin'e duyarlı olduğunu açıklamıştır. İsveç'te % 26'sını *S. haemolyticus* 'un oluşturduğu 100 koagulaz negatif stafilocok suşuna yapılan antibiyogramlar sonucunda, suşların 14 çeşit antibiyotiğe dirençli olduğunu saptandığı bildirilmektedir. Suşların % 45'i penisilin ve ampisiline ve % 11'i oksitetrasiklin'e dirençli bulunmaktadır.

Yurdumuzda yapılan bir çalışmada (Bal ve ark, 1983), 568 mastitisli süt örneğinden 564 etken ayırmışlar ve bunlardan koagulaz pozitif stafilocok suşlarının % 43.2 tetrasiklin, % 60.6 ampisilin, % 55.5 eritromisin, % 64.7 penisilin, % 71.6 neomisin'e duyarlı bulunduğunu belirlemişler ve *S. aureus* suşlarının % 87.5 oranında penisiline dirençli olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada da tüm izolatların % 48'inin penisilin'e dirençli ve % 85 oranında eritromisine, % 83 oranında sulbactam + ampisilin'e ve % 79 oranında sulphamethaxazole + trimethoprim'e duyarlı olduğu saptanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

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

Tıpta, çoklu antibiyotik direncini yayılabileceği, hastane infeksiyonlarına yol açabileceği ve özellikle risk grubuna giren hastaları etkileyeceği düşünüldüğünde, koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilocokların tiplendirilmelerinin doğru yapılması ve patojenite özelliği taşıyan suşların ayırtedilmesi önem taşımaktadır. Değişik kaynaklardan izole edilen Stafilocok suşlarında metisilin, vankomisin ve teikoplanin dirençlerine rastlanması da oluşturdukları hastalıkların patogenezisinde oynayabilecekleri rolü göstermektedir..

Yapılan bu çalışma değişik kaynaklardan izole edilen *stafilocok*ların oluşturdukları hastalıklarda çok önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmaktadır. Bu veriler doğrultusunda, stafilocokların, izolasyon ve identifikasyon metotlarının rutin teşhise yerleştirilmesi, metisilin dirençliliklerinin araştırılması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yaygınlaştırılmasının gerekliliği savunulmaktadır.

6. ÖZET

Bu araştırmada Rutin teşhis laboratuvarına getirilen klinik ve subklinik mastitisli ineklere ait 120 adet süt örneğinden 74 adet, 60 adet yara yeri svabı örneğinden 42 adet ve 20 adet idrar örneğinden ise 7 adet stafilokok suşu izole edildi. İzole edilen suşların identifikasyonları gerçekleştirilerek Stafilokok suşlarının tiplendirilmeleri yapıldı.

Araştırmada koagulaz pozitif Stafilokok suşlarının slime değerleri (+, ++, +++, -) sırasıyla % 15, % 12, % 32.8, % 40.2; koagulaz negatif Stafilokok suşlarının ise slime değerleri (+, ++, +++, -) sırasıyla % 10.7, % 30.4, % 16.0, % 42.9 olarak belirlendi.

Bu araştırmada tiplendirilmeleri gerçekleştirilen Stafilokok suşlarının 41 (% 33.3)'i Metisiline dirençli bulundu.

Bu alışmada, *S. aureus* suşları (% 46), *S. intermedius* suşları (% 37.5), *S. haemolyticus* suşları (% 43) ve *S. cohnii subsp. cohnii* suşlarının tamamı (%100) vankomisin ve teikoplanin'e aynı oranlarda dirençlilik göstermişlerdir.

Bu çalışmada da tüm izolatların % 48'inin penisilin'e dirençli ve % 85 oranında eritromisine, % 83 oranında sulbactam + ampisilin'e ve % 79 oranında sulphamethaxazole + trimethoprim'e duyarlı olduğu saptanmıştır.

7. SUMMARY

In this study, 74 *Staphylococcus* strains were isolated from 120 milk of dairy cows with clinical and subclinical mastitis, 42 *Staphylococcus* strains were isolated from 60 wound and 7 *Staphylococcus* strains were isolated from 20 urine. All *Staphylococcus* strains were biotyping.

This study, slime value (+, ++, +++, -) of coagulase positive *Staphylococcus* strains were determined respectively 15%, 12%, 32.8%, 40.2% and coagulase negative strains were determined respectively 10.7%, 30.4%, 16.0%, 42.9%.

Typed 41 (33.3%) *Staphylococcus* strains were found to resistant to methicillin in this study.

In this study, *S. aureus* strains (46%), *S. intermedius* strains (37.5%), *S. haemolyticus* strains (43%) and all *S. cohnii subsp cohnii* strains (100%) were indicated similar resistance to vankomisin and teikoplanin.

In this study, of 48% to all of strains were resistant to penicilin and 85% of all strains were found to be sensitive to eritromisin, 83% of all strains were found to be sensitive to sulbactam+ampicillin and 79% of all strains were found to be sensitive to sulphamethaxazole + trimethoprim.

8. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda her konuda bana yardımcı olan Prof. Dr. Osman KAYA'ya , ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanım Yrd. Doç. Dr. Şükrü KIRKAN'a, tezimin tüm aşamalarında sonsuz destek, ilgi ve yardımını esirgemeyen ve her zaman yanımda olan ADÜ. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmalarım sırasında araştırmalarımın yapılmasında katkıda bulunan Araş. Gör. Serten TEKBIYIK'a, ayrıca desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan eşime sonsuz teşekkürlerimi iletirim.

9. KAYNAKLAR

1. **ABIGAIL, A.S., D.W., DIXIE**, 1994. Bacterial Pathogenesis. 1 st. ed. Washington D.C., ASM Press, 30-41.
2. **AKAN, E.**, 1993. Tıbbi Mikrobiyoloji. 2. Baskı, Saray Medical Yayıncılık, İzmir, 1-18.
3. **AKAN, Ö. A., M., ÖZALP, B., ŞENER, M., HAYRAN, M., BAYKAL**, 1992, Stafilocokların biyokimyasal tiplendirilmesi ve bilgisayar kullanımı. Mikrobiyoloji Bülteni, 26, 103-107.
4. **AKOVA, M., D., GÜR, H.E., AKALIN, M., BAYKAL**, 1989. Klinik önemi olan *Staphylococcus epidermidis* suşlarının saptanmasında slime testinin yeri. Enfeksiyon Dergisi, 3: 321-326.
5. **ANONİM**, 2002. www.ctf.istanbul.edu.tr/stek. (İnternet Erişim Tarihi: 02.05.2006)
6. **ARCHER, G.L.**, 1990, *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase negative staphylococci. In : Mandel, G.L., Douglas, R.G., Benett, J.E. (eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 3rd ed., Melbourne, Churchill Livingstone, 1511-1517.
7. **AUWERA PV, C., GODARD, C., DENIS**, 1990. In vitro activities of new antimicrobial againts multiresistant *Staphylococcus aureus* isolated from septicemic patietns during a Belgian national survey from 1983 to 1985. Antimicrob. Agents Chemother, 34: 226.
8. **BAL, Ç., B., ALTUN, Ö., ANÇ**, 1983. Üriner sistem enfeksiyonu ve kolonizasyonunda *Staphylococcus haemolyticus*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 23: 159-164.
9. **BALL P.**, 1990. Emergent resistance to ciprofloxacin amongst *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylocooccus aureus*: clinical significance and therapeutic approaches. J Antimicrob Chemother, 26: 165-179.
10. **BAUER, A.U., W.M., KIRBY, J.C., SHERRIS, M. TARCK**, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. J. Clin. Pathol., 45: 493-494.

11. **BİLGEHAN, H.**, 1993. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 5. Baskı, Ankara, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 212-240.
12. **BOUSSARD, P., A., PITHSY**, 1993. Relation between slime produntion, antibiotic sensitivity and the phaetype of coagulase negative staphylococci. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 18: 271-274.
13. **BOYCE, J.M., A.A., MEDEIROS, D., RIMLAND**, 1998. Detection and traetment of infections caused by *Staphylococcus aureus* resistant of penicillinase resistant penicillins. J. Infect. Dis., 157: 602-605.
14. **BRADLEY, S.D.F.**, 1992. Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin. Geriatr. Med., 8: 853-868.
15. **BÜYÜKBABA, Ö., Y., NAKİPOĞLU, H., KATRANCI, Ş, DERBENTLİ, N., GÜLER**, 1998. *S. aureus* suşlarında çeşitli antibiyotiklere klorheksidine direnç. ANKEM Derg., 12: 70.
16. **CHRISTENSEN, G.D., J.T., PARISI, A.L., BISNO, W.A., SIMPSON, E.H. BEACHEY**, 1983. Characterization of clinically significant strains of coagulase negative Staphylococci. Journal of Clinical Microbiology, 18: 258-269.
17. **CHRISTENSEN, G.D., W.A., SIMPSON, A.L., BISNO, E.H., BEACHEY**, 1984. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response. Lancet, I, 365-367.
18. **CHRISTENSEN, G.D., W.A., SIMPSON, J.J., YOUNGER, L.M., BADDOUR, F.F., BARRET, D.M., MELTON, E.H. BEACHES**, 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissve culture plates: a quantitave model for the adherence of staphylococci to medical devices. Journal of Clinical Microbiology, 22: 996-1006.
19. **COURVALIN, P.**, 1996. Interpretive reading of invitro antibiotic susceptibilty tests (the antibiogramme). Clin. Microbiol. Infect., 2 (1): 26-34.
20. **ÇETİN, E.T., Ö ANĞ**, 1962. Staphylococci resistant to methicillin. Br. Med. J., 2: 51.
21. **ÇİFTÇİOĞLU, N.**, 1991. Bronşial astım ve rinitli hastaların burun sekresyonlarından izole edilen koagulaz negatif stafilokokların

tiplendirilmeleri, bunlara karşı uygulanan bazı patojenite testleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. A.Ü. Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.

22. **DEGENER, J.E., M.E.O.C., HECK, W.J., LEEUWEN, C., HEEMSKERK, A., CRIELAARD, P., JOOSTEN, P. CAESAR,** 1994. Nosocomial infection by *Staphylococcus haemolyticus* and typing methods for epidemiological study. Journal of Clinical Microbiology, 32: 2260-2265.
23. **DEVRIESE, L. A., H., LAEVENS, F., HAESBROVEK, J., HOMMEZ,** 1994. A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. Research in Veterinary Science, 57 (2): 240-244.
24. **DİLER, M., Ö., KOCABEYOĞLU,** 1998. Değişik kaynaklardan izole edilen stafilocok suşlarının türlere ve metisilin direncine göre dağılımı ile beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık oranları. Klimik Dergisi, 11 (3): 112-115
25. **ENTENZA, J.M., U., FLUCKIGER, M.F., GLAUSER,** 1994. Antibiotic treatment of experimental endocarditis due to methicilin resistant staphylococcus epidermidis. J. Infect. Dis., 174: 100.
26. **ERGANİŞ, O.,** 1994. Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. 2. baskı. Konya Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yayınlar No: 11, Konya, 268.
27. **ERGANİŞ, O., KUYUCUOĞLU, Y., OK, Ü.,** 1995. İnek Ve Koyun Mastitislerine Sebep Olan Koaguloz Negatif ve Koagulaz Pozitif Stafikokların Biyotiplendirilmesi. Veterinarium , 6 (1-2), 23 - 27.
28. **FRANCIOLLI, M., J., BILLE, M.P., GLAUSER,** 1991. Betalactam resistance mechanisms of methicilin resistance *Staphylococcus aureus*. J. Infect. Dis., 163: 514-523.
29. **GEDİK, H., N., BENZONANA., B., TASER, G., ETSÖZ, S., ÖZER,** 1997. Homojen MRSA suşlarında antibiyotik direnci. Ankem Derg., 11: 457.
30. **GEMMEL, C.G., J.E., DAWSON,** 1982. Identification of coagulase negative staphylococci with the API Staph. system. Journal of Clinical Microbiology, 16 : 874-877.

31. **GOLGMANN, D.A.**, 1990. Coagulase negative staphylococci : interplay of epidemiology and bench research. American Journal of Infection Control, 18: 211-221.
32. **GRAY, E.D., G., PETERS, M., VERSTEGEN, W.E., REGELMANN,** 1984. Effect of extracellular slime substance from *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response. The Lancet, 18: 365-367.
33. **GÜLAY, Z.**, 2002. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. Toraks Dergisi, 3 (1): 75-88
34. **GÜNDEŞ, G., A., KARADENİZLİ, A., WILLKE,** 2000. Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında çoğul antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dergisi, 15: 303-306.
35. **GÜR, D., M., ÖZALP, B., SÜMERKAN,** 1998. Prevalance of antimicroorobial resistance in respiratory tract pathogens from five centers in Turkey. 8th International Congress of Infectious Diseases, Boston, Abst. no. 82011.
36. **GÜRLER, N., A., KAYGUSUZ, S., KARAYAY, K., TÖRECİ,** 1997. Methicilin pus since 1992 and aminoglycoside and quinolone resistance in theses strains. ANKEM Derg., 119.
37. **GÜRLER, N., K., TÖRECİ,** 1990. Stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi ve yarattığı sorunlar. İnfeksiyon Dergisi, 4: 699-716.
38. **HACKBARTH, C.J., T., KOCAGÖZ, S., KOCAGÖZ, H.F., CHAMBERS,** 1995. Point mutations in staphylococcus aureus PBP2 gene affect penicillin binding kinetics and are associated with resistance. Antimicrob Agents Chemother, 39: 103-106.
39. **HARNETT, N., C., BROWN, C., KRISHNAN,** 1991. Emergence of quinolone resistance among clinical isolates of methicilin resistance staphylococcus aureus in Ontario, Canada. Antimicrob Agents Chemother, 35: 632.

40. **HASBEK, M., Y., HAKGÜDENER, S., KAYA, M. Z., BAKICI,** 2002. Stafilocoklarda metisilin direncinin farklı yöntemlerle belirlenmesi ve çoğul antibiyotik direnci. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, 24 (4): 179-184.
41. **HERSHOW R.C., W.F., KAYR, N.L., SMITH,** 1992. A comparison of clinical virulence of nosocomially acquired methicilin resistant and methicilin sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a university hospital. Infect. Control Hosp. Epidemiol., 13:587-593.
42. **HOLMBERG, O.,** 1973. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. Acta Vet. Scand. Suppl., 45: 1-144.
43. **HOLT, J.G., N.R., KRIEG, P.H.A., SNEATH, J.T., STALEY, S.T., WILLIAMS,** 1994. Bergery's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 532, 544-551.
44. **ISHAK, M.A., D.H.M., GROSCHEL, G.L., MANDELL, R.P. WENZEL,** 1985. Association of slime with pathogenicity of coagulase negative staphylococci causing nosocomial septicemia. Journal of Clinical Microbiology, 22: 1025-1029.
45. **JAWETZ, E., J.L., MELNICK, E.A., ADELBURG,** 1987. Review of Medical Microbiology. 7th ed., California, Appleton & Lange, 217-223.
46. **JOHNSON, G.M., P.A., LEE, W.E., REGELMANN, E.D., GRAY, G., PETERS, P.G., QUÉ,** 1986. Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* slime. Infection and Immunity, 54: 13-20.
47. **JONES, J. W., R.J.D., SCOTT, J., MORGAN, J.V.S., PETHER,** 1992. A study of coagulase negative staphylococci with reference to slime production, adherence, resistance patterns and clinical significance. Journal of Hospital Infection, 22: 217-227.
48. **KAYA, O., ERGANIŞ, O., KUYUCUOĞLU, Y.,** 1993. Cow mastitis, caused by microorganisms and their susceptibilities to antibiotics. Türk Vet. Hek. Derg., 5: 49-50.

49. **KERNODLE, D.S., D.C., CLASSEN, J.P., BURKE, A.B., KISER,** 1990. Failure of cephalosporins to prevent *Staphylococcus aureus* surgical wound infections. JAMA, 263: 961-966
50. **KIRKAN, Ş., GÖKSOY, E. O., KAYA, O.,** 2005. Identification of and antimicrobial susceptibility to *Staphylococcus aureus* and Coagulase Negative Staphylococci from bovine mastitis in the Aydın region of Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 29: 791-796.
51. **KİRAZ, N.,** 1993. Koagülaz negatif stafilokokların slime oluşturmaları ve bazı antibiyotiklerin slime oluşumuna etkileri. 4. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 27-30 Nisan, İzmir.
52. **KLOOS, W.E., P.B., SMITH,** 1994. Staphylococci. In: Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J., Shadomy, H.J. (eds): Manual of Clinical Microbiology. 4th ed., Washington D.C., ASM Press., 143-153.
53. **KONEMAN, E.W., S.D., ALLEN, W.M., JANDA, P.C., SCHRECKENBERGER, W.C.JR., WINN,** 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Lippincott, Philadelphia, New York, 539-565.
54. **KOTILAINEN, P.,** 1990. Association of coagulase negative staphylococcal slime production and adherence with the development and outcome of adult septicemias. Journal of Clinical Microbiology, 28: 2779-2785.
55. **KOTILAINEN, P., J., MAKI, P., OKSMAN, M.K., VILJANEN, J., NIKOSKELAINEN, P., HUOVINEN,** 1990. Immunochemical analysis of the extracellular slime substance of *Staphylococcus epidermidis*. European Journal of Clinical Microbiology, Infectious Diseases, 9: 262-270.
56. **KOTILAINEN, P., J., NIKOSKELAINEN, P. HUOVINEN,** 1991. Antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococcal blood isolates with special reference to adherent, slime-producing *Staphylococcus epidermidis* strains. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 23: 325-332.
57. **KURT, H., D., TURAL, E., TEKELİ, M., ONUL,** 1992. Stafilokokların antibiyotiklere invitro duyarlılığı. A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası, 45: 541-548.

58. **LACEY, R.W., K.W., BARR, V.E., BARR,** 1986. Properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonising patients in a burns unit. J. Hosp. Infect., 7: 137-148.
59. **LINA, G., A., QUAGLIA, M.E., REVERDY, R., LECLERCQ, J., ETIENNE,** 1999. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins among staphylococci. Antimicrob Agents Chemother, 43: 1062-1066
60. **LISTER, P.D.,** 2000. Emerging resistance problems among respiratory pathogens. Am. J. Manag. Care, 6 (8): 409-18.
61. **LUDLAM, H.A., W.C., NOBLE, R.R., MARPLES, I., PHILLIPS,** 1989. The evaluation of atyping scheme for coagulase negative staphylococci suitable for epidemiological studies. Journal of Clinical Microbiology, 30: 161-165.
62. **MAPLE, P.A., J.M., HAMILTON-MILLER, W., BRUMFITT,** 1989. World wide antibiotic resistance in methicilin resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet, 1: 537-540.
63. **MARPLES, R.R., E.M., COOKE,** 1988. Current problems with methicilin resistance *Staphylococcus aureus*. J. Hosp. Infec., 11: 381-392.
64. **MC TAGGART, L.A., T.S.J., ELLIOT,** 1989. Is resistance to novobiocin a reliable test for confirmation of the identification of *Staphylococcus saprophyticus*. Journal of Medical Microbiology, 30: 253-266.
65. **MENTEŞ, M., S., YİĞİT, M., İLKİT, E., AKAN,** 1997. Hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, 22 (2) : 94-101
66. **PATRICK, C.C., M.R., PLAUNT, S.M., SWEET, G.S., PATRICK,** 1990. Defining *Staphylococcus epidermidis* cell wall proteins. Journal of Clinical Microbiology, 28: 2757-2760.
67. **PATRICK, C.C.P.,** 1990. Coagulase negative staphylococci: pathogens with increasing clinical significance. The Journal of Pediatrics, 116: 497-507.
68. **PERRIN, C.I., J.L., MARTEL, P., BROVILLET, M. FEDIDA,** 1991. Identification and antibiotic sensitivity of different Staphylococcal species

associated with in apparent and subclinical bovine mastitis; results of a regional survey. *Revue de Medecine Veterinaire*, 142 (1): 39-47.

69. **PETERSON, L.R., J.N., QUICK, B., JENSEN,** 1990. Emergence of ciprofloxacin resistance in nosocomial methicilin resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Arch. Intern. Med.*, 50: 21-51.
70. **PEZZLO, M.,** 1992. Identification of commonly isolated aerobic gram positive bacteria. In: Igenberg, H.D. (eds.): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 1st ed., Washington D.C., ASM Press, 1-12.
71. **QORONFLEH, M.W., B.J., WILKINSON,** 1986. Effects of growth of methicilin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* in the presence of beta lactams on peptidoglycan sturcture and susceptibilty to lytic enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29: 250-257.
72. **RAVIGLIONE, M.C., J. F., BOYLE, P., MARIUZ,** 1990. Ciprofloxacin resistant *Staphylococcus aureus* in an acute care hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34: 20-50.
73. **SEPPALA, H., SKUNIK, M., SOINI, H., ROBERTS, M.C., HUOVINEN, P.,** 1998. A novel erythromycin resistance methylase gene (erm TR) in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42; 257-62
74. **SHANSON, D.C., J.G., KENSIT, R., DUKE,** 1976. Outbreak of Hospital Infection with a strain of *Staphylococcus aureus* resistant to gentamicin and methiciline. *Lancet*, 2: 1347-1348.
75. **ŞENER, B., Ö., AKAN, M.,ÖZALP, M., HAYRAN, M., BAYKAR,** 1991. Koagulaz negatif stafilokokların biyokimyasal reaksiyonlarına göre özel bir bilgisayar programı ile tiplendirilmesi. 3. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. 22-26 Nisan, Antalya.
76. **THOMSON-CARTER, F.M., T.H., PENNINGTON,** 1989. Characterization of coagulase negative staphylococci by sodium dodesil sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and immunblot analyses. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: 2199-2203.

77. **TIMMERMAN, C.P., A., FLEER, J.M., BESNIER, L., DE GRAFF, F., CREMERS, J., VERHOEF,** 1991. Charecterization of a proteinaceous adhesin of *Staphylococcus epidermis* which mediates attachment to polystyrene. *Infection and Immunity*, 59: 4187-4192.
78. **TÖRECİ, K., N., GÜRLER, S., ÇALANGU,** 1985. Methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated in İstanbul. *Ankem Derg.*, 2: 265.
79. **ULUSOY, S., B., ÇETİN, B., ARDA,** 1995. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kökenlerinin antibiyotik direnci. *İnfeksiyon Dergisi*, 9: 7-10.
80. **VOSS, A., D., MILATOVIC, C., WALLRAUCH-SCHWARZ,** 1994. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 13: 50-55.
81. **WALDVOGEL, F.A.,** 1995. *Staphylococcus aureus*, In: Mandell Gl, Bennett Je, Dolin R (Editors). *Principles and Practice of infectious Diseases*. 4.Baskı, New York: Churchill Livingstone, 1754-1776.
82. **YAKUPOĞULLARI, Y., A., GÜNDÜZ, M., ÖZCAN, M., DOĞUKAN, A., SEYRAK, M., YILMAZ,** 2006. *Staphylococcus aureus* suşlarının siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, ve moksifloksasin duyarlılıkları, *Fırat Tıp Dergisi* 11 (1) : 45-47
83. **YOUNGER, J.J., G.D., CHRISTENSEN, D.L., BARTLEY, J.C.H., SIMMONS, F.F., BARRETT,** 1987. Coagulase negative staphylococci isolated from cerebrospinal shunts: importance of slime production, species identification and shunt removal to clinical outcome. *The Journal of Infectious Diseases*, 156: 548-554.

ÖZGEÇMİŞ

1972 İzmir doğumluyum. İlk öğrenimimin son üç yılını Almanya’da, orta ve lise öğrenimlerimi İzmir ilinde tamamladım. 1990 yılında 9 Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümünü kazandım ve 1994 yılı Temmuz ayında mezun oldum. 1995-1996 yılları arasında Almanya’da bulundum ve 10 aylık Almanca kursu deneyimim oldu. 1997-1998 yılları arasında İzmir’de özel laboratuvarında çalıştım. 1999-2001 yılları arasında Başkent Üniversitesi İzmir Zübeyde Hanım Araştırma Merkezi, patoloji bölümünde çalıştım. 2000 yılında Başkent Üniversitesi’nde doku tiplendirilmesi konusunda 15 gün eğitim aldım. 2002-2003 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı Essi Güzellik ve Estetisyenlik kursunda anatomi öğretmenliği yaptım. 2004 yılında Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini kazandım.