

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK HASTALARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL AJANLAR VE  
BUNLARIN DEĞİŞİK ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİLİKLERİ

Sinan KILIÇOĞULLARI

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin *Mikrobiyoloji*  
*Yüksek Lisans* Programı İçin Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI (MASTER) TEZİ  
olarak hazırlanmıştır

79805

Danışman : Prof.Dr. Recep BİNGÖL

KOCAELİ  
1998

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

İşbu çalışma, jürimiz tarafından *Mikrobiyoloji* Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Recep BINGÖL

imza



Üye : Yrd. Doç. Dr. İbrahim KATIRCIOĞLU

imza



Üye : Y. Doç. Dr. Birsen Mutlu

imza

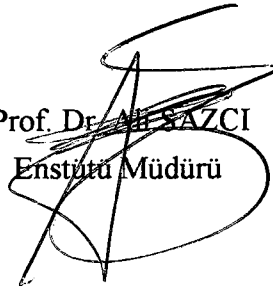


ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerinin ait olduğunu onaylarım.

1.2.10 199.8

Prof. Dr. Ali SAZCI  
Enstitü Müdürü



## ÖZET

Bakterilerin toplumda tek tek veya salgınlar şeklinde oluşturdukları infeksiyon hastalıklarının ve özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisinde karşılaşılan en önemli sorun, etken olan bakterilerin antibiyotiklere gösterdikleri dirençtir. Bu amaçla Kocaeli Üniversitesi Hastanesinin değişik kliniklerinde yatan hastalardan izole edilen suşların disk difüzyon yöntemi ve agar tarama yöntemi ile MİK çalışılarak direnç durumları araştırıldı.

Çalışmada en sık metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), ikinci sıklıkla metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), üçüncü sıklıkla da *Escherichiae coli* suşları hastane infeksiyon etkeni olarak belirlendi. MSSA suşları, en sık pediatri ve ortopedi kliniklerinde, idrar ve yara örneklerinde rastlandı. MRSA suşları, en sık üroloji ve pediatri kliniklerinden alınan idrar ve yara örneklerinden izole edildi. Disk difüzyon yöntemi ile in vitro olarak MRSA suşlarında vankomisin ve teikoplanin'e direnç belirlenemezken, ampisilin'e %100, amoksasilin/klavulanik asit kombinasyonuna %96.07, siprofloksasin'e %60.78, netilmisin'e %19.6, direnç saptandı. Aynı bulgular agar tarama yöntemiyle teyid edildi.

*E. coli* suşları üroloji ve genel cerrahi kliniklerinden alınan idrar ve apse örneklerinden yüksek oranda soyutuldu. Disk difüzyon yöntemi ile bu suşların imipenem ve seftriakson'a direnç belirlenemezken, ampisilin'e %56.7, ampisilin/sulbactam'a %48.6, sefazolin'e %5.4, aztreonam'a %8.1, amikasin'e %5.4, siprofloksasin'e %2.7 oranında dirençli oldukları saptandı.

## SUMMARY

The most common issue affecting the treatment of bacterial infectious disease is the development of the resistance of efficient bacteria against antibiotics. For this reason, disc diffusion and agar scanning method were applied to the strains that were isolated from the patients of the Kocaeli University Hospital. With this method MIK was investigated.

In the study the most common reason for hospital infection was found to be methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains, followed by methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Escherichiae coli*. MSSA strains were most commonly encountered in the infection samples from the pediatri and orthopedi clinics. MRSA strains were most commonly isolated from the urine and infection samples taken from the urology and pediatri clinics. With disc diffusion method resistance to vancomycin and teicoplanin was not found in MRSA strains in vitro, but 100% resistance to ampicillin, 96.07% resistance to amoxicillin/clavulanic acid combination, 60.78% resistance to ciprofloxacin, 19.6% resistance to netilmicin were found.

*E. coli* strains were highly isolated from the urine and infection samples taken from the urology and surgery clinics. With disc diffusion method resistance to imipenem and ceftriaxone was not found in *E. coli* strains in vitro, but 56.7% resistance to ampicillin, 48.6% resistance to ampicillin/sulbactam, 5.4% resistance to cephalosporin, 8.1% resistance to aztreonam, 5.4% resistance to amikacin, 2.7% resistance to ciprofloxacin were found.

## **TEŐEKKÖR**

“Klinik Hastalardan İzole Edilen Bakteriyel Ajanlar ve Bunların Değişik Antibiyotiklere Dirençlilikleri” başlıklı yüksek lisans tezimin konusunun tesbit ve hazırlanmasında bana yönlendirici olan değerli hocam Prof Dr. Recep BİNGÖL’e, konunun anlaşılmasında yardımını aldığım bölüm arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim. Ayrıca fikirleri ile yönlendirici olan Uzman Dr. Aynur KARADENİZLİ, Yrd Doç Dr. İbrahim KATIRCIOĞLU, Yrd Doç Dr. Erdener BALIKÇI’ya teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>Özet</b>	<b>IV</b>
<b>Summary</b>	<b>V</b>
<b>Teşekkür</b>	<b>VI</b>
<b>İçindekiler</b>	<b>VII</b>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar</b>	<b>X</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR</b>	<b>2</b>
<b>Tablo a: Klinik olarak önem taşıyan stafilokok türlerinin ayırıcı özellikleri</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Stafilokokların Yol Açtığı İnfeksiyonlar</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1. Deri ve Mukoza İnfeksiyonları</b>	<b>6</b>
<b>2.1.2. Yaygın Deri Döküntülü Stafilokok İnfeksiyonları</b>	<b>7</b>
<b>2.1.2.A. Haşlanmış Deri Sendromu</b>	<b>7</b>
<b>2.1.2.B. Toksik Şok Sendromu</b>	<b>7</b>
<b>2.1.3. Sepsis ve Endokarditler</b>	<b>7</b>
<b>2.1.4. Sistem ve Organ İnfeksiyonları</b>	<b>8</b>
<b>2.1.5. Besin Zehirlenmeleri ve Enteritler .</b>	<b>8</b>
<b>2.2. Non Beta- Laktam Antibiotiklere Direnç</b>	<b>9</b>
<b>2.3. Beta- Laktim Antibiotiklere Direnç</b>	<b>10</b>
<b>2.3.1. Enzim Aracılığı ile Oluşan Direnç</b>	<b>12</b>
<b>2.3.2. Tolerans</b>	<b>12</b>
<b>2.3.3. Metisiline direnç</b>	<b>13</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>16</b>
<b>3.1. Suşların İzolasyonu ve Tanısı</b>	<b>16</b>
<b>3.2. Besi Yerleri</b>	<b>16</b>
<b>3.2.1. Müeller Hinton Buyyonu(Difco)</b>	<b>16</b>
<b>3.2.2. Müeller Hinton Agar (Difco)</b>	<b>17</b>

<b>3.2.3.</b>	<b>Blood Agar Base (Difco)</b>	<b>17</b>
<b>3.2.4.</b>	<b>Metisilin Besi Yeri</b>	<b>17</b>
<b>3.2.5.</b>	<b>Eozin Metilen Mavisı (EMB) Agar (Difco)</b>	<b>18</b>
<b>3.3.</b>	<b>Agar Tarama Yöntemi ile Antibiyotik Duyarlılık Deneyi</b>	<b>18</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Çözeltiler</b>	<b>18</b>
<b>3.3.1.1.</b>	<b>Antibiyotik Çözeltileri</b>	<b>18</b>
<b>3.3.2.</b>	<b>İnokulumun Hazırlanması</b>	<b>19</b>
<b>3.3.2.1.</b>	<b>Mc Farland Standardının Hazırlanması</b>	<b>19</b>
<b>3.3.2.2</b>	<b>Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması</b>	<b>19</b>
<b>3.4.</b>	<b>Diğer Malzemeler</b>	<b>20</b>
<b>3.5.</b>	<b>Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Saptanması</b>	<b>20</b>
<b>3.5.1.</b>	<b>Deney Koşullarının Standardizasyonu</b>	<b>20</b>
<b>3.5.2.</b>	<b>Yöntem</b>	<b>21</b>
<b>3.5.3.</b>	<b>Kontrol Plakalarının Hazırlanması</b>	<b>22</b>
<b>3.5.4.</b>	<b>Plakalarının İnkubasyonu</b>	<b>22</b>
<b>3.5.5.</b>	<b>Üremelerin İncelenmesi</b>	<b>22</b>
<b>3.6.</b>	<b>Disk Difüzyon Yöntemi ile Metisilin Direncinin Belirlenmesi</b>	<b>23</b>
<b>3.7.</b>	<b>S.aureus ve E.coli Suşlarının, Tedavide Alternatif Olabilecek Bazı Antibiyotiklere Karşı, Disk Difüzyon Yöntemi ile Direnç Durumunun belirlenmesi</b>	<b>24</b>
<b>Tablo 1.</b>	<b>Staphylococcus aureus Suşlarının Duyarlılığını Denendiği Antibiyotik Eş Değer MİK Değerleri</b>	<b>24</b>
<b>Tablo 2.</b>	<b>Staphylococcus aureus ATCC 29213 Minimum İnhibitör Concentration (MICs) (µg/ml) Değerleri</b>	<b>25</b>
<b>Tablo 3.</b>	<b>Staphylococcus aureus Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri</b>	<b>25</b>
<b>Tablo 4.</b>	<b>S. aureus ATCC 25923 Standart Suşunun Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değerleri.</b>	<b>26</b>
<b>Tablo 5-</b>	<b>E. Coli Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri.</b>	<b>26</b>

<b>Tablo 6. E.coli ATCC 252922 Standart Suşunun Duyarlılığın Denendiği Antibiyotik Disklerin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri</b>	<b>27</b>
<b>Tablo 7. E.coli Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Eş Değer MİK Aralığı</b>	<b>27</b>
<b>Tablo 8. Standart E. coli ATCC 25922 Suşunun Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)µg/ml Değerleri.</b>	<b>28</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>29</b>
<b>Tablo 9. Yatan Hastalardan İzole Edilen Toplam Suşların Servislere Göre Dağılımı</b>	<b>29</b>
<b>Tablo 10. Yatan Hastalardan Elde Edilen Suşların Dağılımı</b>	<b>30</b>
<b>Tablo 11. S.aureus Suşlarının Geldiği Servislere Göre Dağılımı</b>	<b>31</b>
<b>Tablo 12. S.aureus İzolatlarının Geldiği Materyallere Göre Dağılımı</b>	<b>32</b>
<b>Tablo 13. Disk Difüzyon Yöntemiyle MRSA Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu</b>	<b>33</b>
<b>Tablo 14. Agar Tarama Yöntemiyle MRSA Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu</b>	<b>33</b>
<b>Tablo 15. E.coli Suşlarının Geldiği Servislere Göre Dağılımı</b>	<b>34</b>
<b>Tablo 16. Materyallerin Geldiği Bölgeye Göre Dağılımı</b>	<b>34</b>
<b>Tablo 17. Disk Difüzyon Yöntemi ile E.coli Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu</b>	<b>35</b>
<b>Tablo 18. Agar Tarama Yöntemi ile MİK Çalışmasında E.coli Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu</b>	<b>35</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
<b>6. SONUÇ</b>	<b>44</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>45</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	= Derece santigrat
µg	= Mikrogram
µl	= Mikro litre
CRP	= Coagulase Reacting Factor
DNA	= Deoksi Ribo Nükleik Asit
G	= Gram
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Hidrojen peroksit
Ig	= Immun globulin
M	= Mol
MBK	= Minimal bakterisit konsantrasyonu
Mg	= Miligram
MIK	= Minimal inhibitör konsantrasyonu
ml	= Mililitre
MRSA	= Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
MSSA	= Metisiline duyarlı Staphylococcus aureus
NaCl	= Sodyum klorür
NAG	= N - Asetil glikozamin
NAM	= N - Asetil muromik asit
NCCLS	= National Committe for Clinical Laboratory Standards
Nm	= Nanometre
PBP	= Penisilin bağlayan protein
PRP	= Penicillinase Resistant Penicillin
RNA	= Ribo nükleik asit
TSİ	= Triple Sugar Iron

## 1.GİRİŞ

Stafilokoklarda metisilin direncinin ortaya çıkması ile metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'ların (MRSA) diğer antibiyotiklere direnci beraberinde getirmesi epidermilere sebep olan önemli bir nozokomiyal infeksiyon etkeni haline gelmiştir. MRSA infeksiyonlarının prevalansı gerek coğrafi bölgeler arasında, gerekse aynı bölgede yer alan hastaneler arasında değişkenlik gösterir durumdadır. Hastanelerde yoğun antibiyotik kullanım sebebi ile dirençli kökenler seleksiyona uğramakta ve mikrobiyal direnç artışına neden olurlar. Aynı zamanda hastanede kalış süresini uzatmakta tedavide başarısızlıklar ve maliyette artışa neden olmaktadır.

MRSA ile kolonizasyon ve infeksiyon için en önemli risk faktörleri; Alta yatan hastalıklar, nazal kolonizasyon ve yabancı cisimlerdir. (Katater, trakeostomi, nazogastrik tüp v.b). Yayılmasında en önemli neden ise hastane personelinin elleri ile geçici süreyle MRSA taşımasıdır.

MRSA enfeksiyonlarını kontrol altında tutmak amacı ile alınacak önlemler her sağlık kuruluşunun kaynaklarına hasta popülasyonuna ve o hastanedeki MRSA prevalansına göre belirlenmelidir.

Klinikte yatarak tedavi edilen hastalarda, immun sistemlerinin etkilenmiş olması veya yoğun antibiyotik baskısı nedeniyle nasokomiyal infeksiyonlara sıklıkla rastlanmaktadır. Bu infeksiyonların bir bölümü toplumdan kazanılmış etkenlere bağlı gelişirken önemli bir bölümünde hastane ortamında kazanılan etkenlerle, hastane infeksiyonu şeklinde gelişmektedir. Amerikan CDC kriterlerine göre hastanede yatırıldıktan 3 gün sonra gelişen infeksiyonlar nasokomial olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Sunulan çalışmada hastanemizde ortaya çıkan veya çıkması olası infeksiyonların kontrollerine katkı sağlamak düşüncesiyle, yatarak tedavi edilen hastalardan izole edilen bakteriyel ajanları ve bunların sık kullanılan antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin incelenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Staphylococcus cinsinin tanımlanan 27 üyesinden biri olan *S. aureus* tıbbi açıdan en önemli olan türüdür (Kloos and Lambe ,1987). Besi yerlerinde sarı pigment oluşturabilmesi nedeni ile latince altın anlamına gelen aureus sözcüğü tür adı olarak kullanılmaktadır (Sheargen,1984). Hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, gram pozitif koklardır. Morfolojisi tam küreye yakındır. Üreme esnasında meydana gelen yeni hücreler birbirlerinden ayrılmazlar, üç boyut yönünden çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Genç kültürleri gram (+) oldukları gibi eski kültürleri gram (-) boyanabilir (Jawetz et al,1989).

İnfeksiyon etkeni olarak izole edilen *S.epidermidis* kolonileri kabarık ve hafif ışık geçirici, *S.saprophyticus* kolonileri ise basık ve daha opaktır. *S.aureus* suşları kanlı agar besi yerinde sarıdan portakal rengine kadar değişen pigment, hafif ışık geçiren ve hemoliz oluşturan koloniler meydana getirir (Kloos,1987; Töreci,1987).

Akut infeksiyonlara neden olan *S.aureus* suşları plazma kaogulaz enzimi oluştururlar. Hayvanlara patojen olan *S.intermedius* ve *S.hycus* türleri de bu enzimi oluşturmalarına karşın, insan kaynaklı muayene maddelerinden izole edildikleri göz önüne alınarak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında üretilen plazma koagulaz pozitif suşlar *S.aureus* olarak tanımlanmaktadır (Kloos,1987).

**Tablo a: Klinik olarak önem taşıyan stafilokok türlerinin ayırıcı özellikleri (Kloos,1987; Töreci,1987)**

	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Pigment	Sarı-portakal	-	-**
Plazma koagulaz	+	-	-
Kümelene (Clumping)Faktörü	+	-	-
Manitolden asit	+	-	d
Trehalozdan asit	+	-	+
Novobiosin'e duyarlılık*(5 µg)	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli

\*: 16 mm ve daha küçük çaplı inhibisyon zonu novobiosine direnci gösterir.

\*\* : Bazı suşlar açık sarı pigmentlidir.

d : Suşların %11-89" pozitiftir.

S.aureus başta glikoz olmak üzere karbonhidratları (laktoz ve mannitolü) parçalar ve son ürün olarak laktik asit oluşturur, fakat gaz yapmaz (Bilgehan,1990). Oksidaz, arjinin ,alkalen, fosfataz, ornitin dekarboksilaz, beta galaktozidaz, enzimlerini oluşturabilme, arjinin kullanma asetoin üretme eskülünü hidrolize etme S.aureus'un biyokimyasal özelliklerindedir (Kloos,1987).

S.aureus, oksijenli ortamda ürerse dahi, belli miktarda oksijenli ve hatta oksijensiz ortamda bile üreyebilir. Optimal üreme 37 °C'de, pH 7.4 de elde edilir. Pigment oluşumu üreme ortamının koşullarından etkilenmektedir. Genellikle oksijenli ortamda ve oda sıcaklığında pigment meydana getirir. Besiyerlerine glikoz, kan, serum, gibi maddeler konularak zengileştirildiğinde daha bol üreme sağlanır (Bilgehan,1990). Kanlı jelozda tam hemoliz yapar. S. aureus kuruluk, sıcaklık (50 °C'de 30 dakika ) ve %9 NaCl' e dirençli ve kristal viyole, malaşit yeşili gibi boyalara duyarlıdır (Jawetz,1989).

S.aureus organizmaya girdiği yerde yerel olarak üreme ve süpürasyonlara neden olmak suretiyle hastalık yapabildiği gibi dokular arasına kan yoluyla yayılarak da çeşitli ekstrasellüler maddeler oluşturmak suretiyle çeşitli klinik tablolara neden olabilir (Bilgehan,1990). Bu maddelerin bazıları enzim ve diğerleri ise enzim olarak fonksiyon yapmalarına karşın toksin olarak kabul edilirler. Bu toksinlerin çoğu plazmid kontrolü altındadır, bir kısmı ise hem kromozomal ve hem de ekstrakromozomal kontrol altında olabilir, bazıları ise kontrol mekanizması tam olarak belirlenmemiştir (Jawetz et al 1989).

### **Katalaz:**

Tüm stafilokok türleri tarafından sentez edilir. Bu enzim hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırır (Jawetz et al.1989).

**Koagulaz:**

Enzim benzeri bir proteindir. İnsan ve tavşan plazması ile temasta bırakılan *S. aureus* bir süre sonra plazmayı pıhtılaştırır. *S. aureus* organizmada bu enzim sayesinde fibrin zırhı ile kaplanarak fagositozdan hem de normal serumun bakterisit etkisinden korunur. Bu durum patojenite'yi artırır. Koagulaz testi için en uygun plazma tavşan plazmasıdır. İnsan plazması ise inhibitör içerebileceği ve CRP'si (Coagulase Reacting factör) yeterli olmayabileceği için uygun sayılmaz (Töreci,1987).

**Hiyaluronidaz (Yayılma Faktörü):**

Bağ dokusu yapısında bulunan hiyaluronik asidin depolimerizasyonuna neden olup *S. aureus*'un doku içersine yayılmasını sağlar. Antijen özelliği olan bir maddedir (Bilgehan,1990).

**Stafilokinaz:**

*S. aureus*'lar tarafından salgılanan kinazlar plazmada bulunan plazminojen veya profibrinolizin isimli maddeyi aktive ederek plazmin (fibrinolizin) oluşturur. Bu madde meydana getirdiği fibrinolitik etki ile infeksiyon odağındaki fibrin pıhtısını eriterek yayılmada ve virulansın artmasında rol oynar (Jawetz et al,1989).

**Nükleaz:**

*S. aureus* suşları DNA ve RNA üzerine etkili, ısıya dayanıklı bir nükleaz enzimi oluşturur (Töreci,1987). *S. aureus* suşları ayrıca proteinaz, lipaz ve beta laktamaz enzimlerini üretebilirler.

**Ekzotoksinler (hemolizinler):**

Birbirinden antijen bakımından ayrı ve alfa, beta, gamma, delta diye 4 farklı hemolizin olup alfa ve delta hemolizinler özellikle *S. aureus* tarafından oluşturulurlar.

Alfa hemolizin tavşan eritrositlerini eriten makrofajları ve trombositleri tahrib eden ve demonekrotik etki gösteren bir faktördür (Bilgehan,1990). Alfa toksinin ayrıca damar düz kasları üzerine güçlü etkinliği vardır (Jawetz et al,1989). S.aureus suşlarının hemen hemen tümü alfa hemolizin, ayrıca pek çok suş beta hemolizin oluşturur.

### **Lökosidin:**

Özel antijen yapısındadır. Lökosidin yapan S. aureus suşları lökositler tarafından fagosite edilseler bile lökosidin yapmayan suçların aksine, hücre içinde canlılıklarını sürdürürler (Jawetz et al,1989).

### **Epidermolitik Toksin (Eksfoliyatif Toksin):**

Bazı S. aureus suşları tarafından oluşturulan ve insanlarda veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu olan toksindir. Toksinlere karşı elde edilen anti toksit serumlar bu olayı önler (Jawetz et al,1989; Bilgehan, 1990). Antijen ve biyolojik özellikleri bakımından 2 çeşittir. Eksfoliyatif A, bakteri kromozomundaki bir gen tarafından oluşturulan toksindir. Eksfoliyatif B, ise bir plazmin tarafından oluşturulan bir toksindir ( Bilgehan, 1990).

### **Enterotoksin:**

S.aureusların % 50'si tarafından üretilen enterotoksinlerin üretimi çoğunlukla kromozom aracılığı ile olur. Ama toksin üretiminin regülasyonunu sağlayan protein plazmid kaynaklı olabilir. (Jawetz et al,1989). A,B,C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>,D,E,F olarak adlandırılan farklı antijen yapısında yedi ayrı enterotoksin belirlenmiştir (Bilgehan, 1990). A ve D enterotoksinini oluşturan suşlar besin zehirlenmelerinden en sık izole edilenlerdir. Stafilocok besin zehirlenmesi olgularının %75 kadarından A tipi sorumludur. Hastane infeksiyonlarından enterotoksin B oluşturan suşlara daha çok rastlanır ve B enterotoksini oluşturmakla metisilin direnci arasında bir uyum görülmektedir (Töreci, 1987).

## **Toksik Şok Sendromu ile İlgili Toksin (TSST-1)**

Eskiden enterotoksin F ve pirojenik ekzotoksin C olarak adlandırılan bu toksin bu gün TSST-1 şeklinde adlandırılmıştır. TSST-1'in kromozomal bir gen tarafından kodlandığı belirlenmiştir (Töreci, 1987).

### **2.1.Stafilokokların Yol Açtığı İnfeksiyonlar**

#### **2.1.1.Deri ve Mukoza İnfeksiyonları**

Deri ve mukoza florasında bulunan veya dış kaynaklardan gelen stafilokoklar, ter bezleri ağızlarından kıl folüküllerinden ya da bir travma sonucunda (iğne batması, kesik sıyrık) deri içinde girilecek, deri ve mukoza infeksiyonlarını oluştururlar. Bu yoldan girdiklerinde çoğu kez bir fronkül veya lokalize bir abse meydana gelir. Bu tip infeksiyonlarda S. aureus, toksinleri aracılığı ile hücreleri eriterek irin oluşturur, plazma koagülazları sayesinde hem kendi hücrelerinin etrafında oluşan fibrin örtüsü ile fagositozdan korunurlar ve hem de buldukları boşluğun etrafını bir fibrin duvarı ile çevreleyerek organizmanın savunma maddeleri ve antibiyotiklerin etkilerinden korunurlar. Apseler, fronkül (Sivilce), sikoz (sakal, kıl kökleri yangısı), göz kapağı yangısı (blefarit), panaris (dolama), hidroadesit (terbezi yangısı), kan çıbanı (karbunkül) gibi infeksiyonlar bu mekanizma ile oluşur. Çeşitli deri yaralarını stafilokoklar tarafından infekte edilmesi sık görülen hallerdendir. Mukozalar yoluyla organizmaya giren stafilokoklarda da lokalize apseler veya yaygın iltahaplanmalara yol açarlar. Yerel bir irinleşme yapan stafilokoklar çevrili buldukları fibrin engelinin zedenlenmesinden sonra invazyon yetenekleri ve çeşitli toksin salgıları ile

organizmanın direncine bağlı olarak yakın veya uzak yerlere yayılma eğilimi gösterirler (Bilgehan, 1990; Dilmener, 1989).

### **2.1.2. Yaygın Deri Döküntülü Stafilokok İnfeksiyonları**

Oluşturdukları toksinlerin yayılması ile deride yaygın ve tipik döküntülü lezyonlar oluşur. Bu infeksiyonlarda stafilokoklar vücudun belirli bir bölgesinde lokalize olmuşlardır.

#### **2.1.2. A. Haşlanmış Deri Sendromu**

Daha çok bebeklerde ve bazen çocuk ve erişkinlerde görülür. Aniden ağız çevresinde bir eritem başlar 2,3 günde döküntü tüm vücuda yayılır ( Bilgehan, 1990; Sheargen, 1984).

#### **2.1.2. B. Toksik Şok Sendromu**

S.aureus'un in vivo olarak oluşturduğu toksik şok sendromu toksinin etkisiyle meydana gelir. Çocuklarda ve özellikle hiper absorban vaginal tampon kullanan kadınlarda görülür. Toksik şok sendromlu hastalarda ender olarak bakteriyemi görüldüğü bildirilmiştir (Töreci, 1987; Bilgehan, 1990).

### **2.1.3. Sepsis ve Endokardidler**

S. aureus'dan kaynaklanan bakteriyemi sırasında bakterinin endokard dokusuna yerleşmesi sonucu akut endokardit gelişir. Özellikle endokardın mural ve



valvüler bölgelerinde ihtihabi odaklar meydana gelir. Bunun sonucunda kapaklarda fonksiyon bozukluğu görülür ve mitral yetersizlik ortaya çıkar ( Dilmener, 1989).

#### **2.1.4.Sistem ve Organ İnfeksiyonları**

Stafilokok pnömonisi solunum yolundan aspirasyon yada kan yoluyla akciğerlere yerleşmek suretiyle gelişir. Bazen akciğerlerde geniş apselerin oluşması ve mikroorganizmaların diğer organlara yayılması ile seyreder (Shearegen, 1984).

Diğer sistem ve organlara yerleşerek, perikardit, plevia ampiyemi, osteomyelit, periostit, septik artrit ve bursit, tromboflebit, otitis media, menenjit, sinuzit ve daha nadir olmak üzere idrar yolu infeksiyonları prostatit, perinefritik abse gibi infeksiyonlar da görülebilir.

#### **2.1.5.Besin Zehirlenmeleri ve Enteritler .**

Enterotoksit oluşturan S.aureus'un karbonhidrat ve proteinli besin maddeleri içerisinde üreyerek yaptığı enterotoksinlerin ağız yoluyla alınması sonucunda ortaya çıkan bir gastrointestinal infeksiyondur (Bilgehan, 1990).

S.aureus'un hücre duvarında antijenik polisakkaridler ve proteinler bulunur. Subünitlerin bağlandığı bir polisakkarid polimeri olan peptidoglikan infeksiyonların patogenezinde önemli rol oynar. İnterlökin-1 ve opsonik antikorların oluşumuna neden olur. Endotosine benzer aktivitesi vardır. Polimarf nüveli lökositler için kemoatraktan aktivite gösterir. En önemli antijen hücre duvarında bulunan taykoik asidin bir üniti olan polisakkorid A'dır. Türe özel olan bu antijen bütün S.aureus'un burun mukozası epiteline tutunmasını sağlar (Shearegen, 1984). S. aureus suşlarının

çoğunda görülen bir hücre duvarı komponenti de protein A'dır. Ig G<sub>3</sub> dışındaki Ig G moleküllerinin Fc parçasına bağlanır (Jawetz et al,1989; Shearegen, 1984).

Bazı *S. aureus* suşlarında bulunan polisakkarid yapısındaki kapsül antijenlerinin bir çok antijenik tipi vardır ve her bir suşta dahi farklı polisakkarid antijenleri bulunabilir. Kapsül maddesinin peptidoglikanı örtmesi ve buna karşı oluşmuş olan antikorların bağlanmaması ve suşların fagazitosu engellemesi nedeni ile kapsüllü suşlar daha virulandır (Jawetz et al,1989;Töreci, 1987).

Stafilokok infeksiyonlarında belirgin bir bağışıklık ortaya çıkmaz. Gerek doğal ve gerekse sonradan kazanılan bağışıklık hümorol olmaktan çok hücresele olup daha çok mikroorganizmaların fagazitosuna bağılıdır (Bilgehan, 1990).

*S.aureus*, diğere mikroorganizmaların pek çoğuna göre antimikrobiale ajanlara daha fazla sayıda direnç mekanizmasına sahiptir. Özellikle MRSA (Methicillin resistant *S. aureus*) suşlarında çoğul direnç daha sık görülür.

## 2.2.Non Beta- Laktam Antibiyotiklere Direnç

Non beta-laktam antibiyotiklere direnç antibiyotiğın türüne göre plazmid, kromozom veya transpozon kaynaklı olabilmektedir.

Aminoglikozlitlere direnç çoğu kez plazmidler aracılığı ile daha seyrek olarak kromozomal ve transpozonlar aracılığıyla gelişir. *S.aureus* suşlarında aminoglikozid grubu antibiyotiklere değışen oranlarda direnç (%1-39) geliştiğı ve bunların içinde en düşük oranının amikasine ait olduğı bildirilmektedir (Gürler ve Töreci, 1990).

Kinolon grubu ajanlar *S.aureus*'a iyi aktivite göstermesine karşın yaygın ve uzun süreli kullanım sonucunda direnç (%0-11.3) gelişmektedir. (Brumfitt and Hamilton, 1989; Gürler ve Töreci, 1990). Glikopeptid antibiyotiklerden vankomisin yaklaşık 30 yıl önce piyasaya sürülmesine rağmen *S. aureus* suşlarında bu antibiyotiğere karşı direnç bildirmemiştir. Özellikle MRSA suşlarında kaynaklanan infeksiyonlarda en başta gelen güvenilir antibiyotiktir. Ama koagulaz negatif

stafilokoklarda bu antibiyotiğe karşı direnç görülmüştür (Brumfitt and Hamilton, 1989; Corrine et al,1989).

Trimetoprim sulfametoksazol'e karşı çoğu S. aureus suşları duyarlı bulunduğu için kombinasyon vankomisine alternatif olarak kabul edilmektedir. Yine de bu kombinasyona %12-26 arasında değişken oranlarda direnç belirlenmiştir (Gürler ve Töreci, 1990; Corrine et al,1989).

S.aureus suşlarında tetrasiklinlere karşı %55-67 oranlarında direnç saptanırken, bu oran rifampisin için %6-47 olarak bulunmuştur. Plazmid aracılığı ile olan kloramfenikol dinencine S. aureus suşlarında düşük oranda %11-23 olarak rastlanmaktadır. Bunun nedeni kemik iliğine toksik etkisinden dolayı kloramfenikolün yaygın kullanılmamasıdır ( Gürler ve Töreci, 1990).

### **2.3.Beta- Laktam Antibiyotiklere Direnç**

Beta laktam grubunda, farmakolojisi, antibakteriyel spektrumu ve kimyasal yapısı farklı birçok antibiyotik vardır. Hepsinde yapılarından bir beta laktam halkası vardır. Ortak noktaları etki mekanizması ve kendilerine karşı oluşan direnç yollarıdır.

Bakteri hücre duvarı bakteriyi dış etkenlerden koruyan ona şekli veren yarı geçirgen bir kılıftır. Hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakası, bakteriyi osmotik basınç değişikliklerden koruyan, oldukça önemli bir yapıdır. Gram negatif bakterilerde peptidoglikan tabakası daha incedir. Peptidoglikan tabakasının hemen dışında bulunan lipoprotein tabakası bir bağlantı tabakasıdır. Bunun dışında dış mebran denilen iki tabakalı bir yapı bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerdeki bu dış mebran katmanı hücre çeperine bir seçicilik özelliği kazandırır. Fosfolipitlere ilaveten kompleks bir molekül olan bakteriyel lipopolisakkaridden oluşmaktadır. Lipopolisakkaridin ilk bileşiği olan lipid A; kısa zincirli yağ asitleri ve fosfat grubuna bağlanmış dissakkaritlerden meydana gelen bir glikolipittir. İkinci bileşik keto deoksioktanoik asit ve bir heptoz taşıyan kısa bir dizi şekerdir. Üçüncü bileşik kırktan

fazla şekerden oluşan uzun bir karbonhidrat zincir olan O antijenidir. Bundan dolayı gram pozitif bakterilerde olduğu gibi gram negatif bakterilerde de hidrofobik bileşiklerin hücre içine alınmaması hücrenin hidrofilik polisakaritlerle çevrenmesine bağlıdır. Lipid yapısından dolayı dış membran hidrofilik bileşikleri içeri almaması beklenmektedir. Ancak dış membran şekerleri aminoasitleri ve belirli iyonlar gibi hidrofilik bileşiklerin pasif difizyonuna izin veren özel kanallara sahiptir. Porin denilen bu kanallar protein kanallarından meydana gelmiştir. Porin kanalları ancak 600-700 daltonluk bileşiklerin girmesine izin verecek kadar dardır. Hücrenin yaşamı için gerekli olan hidrofilik bileşikler porinlerin içeri alma limitinden daha büyüktür. Daha büyük moleküllerin taşınması için özel protein reseptörlerden yararlanılmaktadır. Gram negatif bakterilerin çift katlı membran sistemi stoplazma zarının dışında periplazmik aralık adı verilen bir bölüm meydana getirmektedir. Bu bölüm fosfataz, nükleaz, proteaz, gibi sindirim enzimlerini ortamdaki şekerleri ve amino asitleri içeri almaya yardımcı olan proteinleri içermektedir. Ayrıca beta laktamazlar gibi antibiyotikleri inaktive eden enzimleride içermektedir. Gram pozitif bakteriler böyle belirli bir periplazmik aralığa sahip olmadıklarından enzimleri dış ortamı salgılamaktadır (Schlessinger and Schaechter, 1989). Bakterilerde mürein denen bu tabaka sentezi üç devrede gerçekleşir. Önce stoplazmada ana maddelerden N-asetil glikozamin (NAG) ve N-asetil muromik asit (NAM ) sentez edilir. Birbirleriyle birleşen NAG ve NAM 'ın oluşturduğu peptid zincirleri, ikinci devrede fosfolipid taşıyıcılarla taşınarak stoplazmik membranda dışarı aktarılır. Son devrede peptid zincirleri birbirlerine bağlanarak peptidoglikan tabakasını oluşturur. Bir bakteri hücresi üremeye başlarken yukarıda belirtilen olaylar sırasıyla gerçekleşir. Sentez sırasında bakteri bir yandan otolizin enzimleri yardımıyla kendi hücre duvarını eritirken diğer yandan, yeni hücre duvarını sentezler. Peptidoglikan sentezinde, transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz türünden enzimler rol oynar. Bunlar stoplazma zarı üzerinde bulunurlar ve beta laktam antibiyotiklerin bağlanıp etkilerini gösterdikleri yapılarıdır. Bu proteinlere Penisilin Bağlayan Proteinler, kısaca PBP adı verilir. Beta laktam antibiyotikler hücre duvarı sentezini son bölümünü bloke ederek peptidoglikan tabakasının oluşumunu önlerler. Böylece dış ortamla stoplazma içi ozmatik basınç dengesinin bozulması sonucunda bakteri lizise uğrar (Yüce, 1988).

S.aureus'da beta laktam antibiyotiklere karşı üç ayrı mekanizma ile direnç gelişebilir.

### **2.3.1. Enzim Aracılığı ile Oluşan Direnç**

S. aureus, ürettiği beta laktamaz (penisilinaz, sefalosporinaz) enziminin etkisi ile beta laktam halkasındaki siklik amid bağı hidrolize eder ve sonuçta etkisiz parçalanma ürünleri oluşturur (Bruce and Skurray, 1987; Harold, 1985). S.aureus'un ürettiği beta laktamazlar ekstrasellüler enzimlerdir ve serolojik deneylerle A,B,C ve D harfleri ile gösterilen 4 tipe ayrılırlar. A ve C tipleri çok aktiftir ve özellikle hastane kaynaklı S.aureus suşlarında görülür. S.aureus beta laktamazları çoğunlukla plazmid üzerinde kodlanmıştır. Ancak S.aureus kromozomlarının gen haritalanmasının yapıldığı bir çalışmada bir plazmide bağımsız olmak üzere kromozan üzerinde beta laktamaz determinantına rastlanıldığı, bunun da transpozonlara bağlı olabileceği belirtilmiştir. Beta laktamaz plazmidi çoğunlukla fajlar üzerinde bulunur ve faj transdüksiyonu ile diğer hücrelere hatta koagulaz negatif stafilocoklara aktarılabilir (Bruce and Skurray, 1987). Beta laktamaz plazmidleri değişmez bir özellik olarak bir veya daha çok antimikrobiyal ajana direnç genini de taşırlar. Bu genler antimon, arsenat, bizmut, kadmiyum, kurşun, civa, çinko gibi inorganik iyonlara, fenilmerkürü asetat gibi organik civa bileşiklerine ve 4 değerli amonyum bileşikleri gibi antiseptik, dezenfektan ve boyalara eritromisin, fusidik asit, kanamisin, gentamisin gibi antibiyotiklere direnç özelliği kazandırır. Gram negatif bakterilerde genellikle beta laktamazların devamlı sentez edilmelerine karşı stafilocok beta laktamazları (tip D enzimi dışındakiler) sadece yüksek düzeyde penisilin veya onun analoglarının indüklemesi sonucunda sentez edilirler (Bruce and Skurray, 1987).

### **2.3.2. Tolerans**

Beta laktamlar gibi bakterisid antibiyotiklerin etkisiyle bir suşun üremesinin inhibe olması fakat bakterinin ölümünün daha yüksek konsantrasyonlarda veya daha

uzun zamanda sağlanmasıdır. Bu olguya S.aureus suşlarında da rastlandığı ve bu suşlarda minimal bakterisid konsantrasyonları (MBK)'nın minimal inhibitor konsantrasyonları (MIK)'ndan en az 32 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (Sabath and Minneapolist, 1982), mekanizması tam aydınlığa kavuşmamış olan tolerans olayının bir otolizin inhibitörünün aşırı miktarda bulunması ve otolizin aktivitesinin yetersiz kalması sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (Handwergers and Tomas, 1985).

### 2.3.3. Metisiline Direnç

S.aureus suşlarının yaygın olarak 1950'lerde penisilinaz üretmelerinin ortaya çıkması ile S.aureus infeksiyonlarının penisilin ile tedavisini zorlaştırmıştır. İlk penisilinaza dirençli penisilin (penicillinase resistant penicilin "PRP") olan metisilin ve daha sonra nafsilin ve oksasilinin 1950'lerde piyasa sürülmesi ile bu durum kısa bir süre için çözülmüş, lakin 1961'de metisilin'ne dirençli suşlar belirlenmiştir (Chambers, 1988; Thornsberry, 1984) 1960'larda çoğu Avrupa ülkelerinde ve daha sonra 1970'lerde Amerika Bileşik Devletlerinde metisiline dirençli S.aureus suşları hastane infeksiyonları epidemilere neden olmuştur. MRSA suşları 1980'lerden bu yana giderek artan sıklıkta hastane infeksiyonu epidemileri oluşturması nedeni ile, önemli bir halk sağlığı problemi olarak dikkatleri üzerine çekmeye devam etmektedir (Cooke et al , 1986; Dukworth et al, 1988; Gantz et al ,1986).

S.aureus'da metisilin direnci heterojen ve homojen olmak üzere iki tipi vardır. Heterojen direnç bir metisilin direncidir. Bu tip direnç çok az sayıdaki hücreden ( $10^4$ - $10^8$  hücre) sadece bir tanesinde görülür ve bu hücre 50 µg /ml metesilin varlığında dahi üreyebilir. Böyle bir hücre topluluğundaki diğer hücreler ise, antibiyotiğin tıbbi açıdan kabul edilebilir konsantrasyonlarına, örneğin 1-5 µg/ml metisiline duyarlıdır. Nispeten duyarlı hücreler ile, yüksek derecede dirençli hücrelerin karışımından meydana gelmiş olan yani iki ayrı hücre topluluğu içeren bu suşlara heterojen suşlar adı verilir (Chambers, 1988).

Homojen direnç *S. aureus* suşlarının pek azında görülür tüm hücreler metisilin yüksek konsantrasyonlarına bile direnç gösterirler bu konsantrasyonlarda üreyebilirler. Bu suşlar bir tek hücre topluluğundan oluşmuştur ki bunların tümü metisiline yüksek derecede dirençlidir (Chambers, 1988).

Metisiline duyarlı *S.aureus* suşları 5 farklı PBP (1,2,3,3',4 ) oluştururlar. Metisilin direnci normal PBP'lerin yanında, PBP2' a veya PBP2' olarak adlandırılan, yeni bir penisilin bağlayan proteinin sentez edilmesi ile olur. Transpeptidaz olduğu düşünülen PBP 2a, beta laktam antibiyotiklere zayıf afinite gösteren bir proteindir. Beta laktam antibiyotiklere yüksek konsantrasyonlarda bağlanabilir. Metisiline dirençli koagulaz negatif stafilokok suşlarında PBP 2a üretirler (Chambers, 1988; Cookson and Philips, 1990; Tomasz et al,1989).

PBP 2a'nın sentezini *mecA* geni yapmaktadır. *MecA* genin kromozomal olduğu ve plazmid üzerinde bulunmadığı saptanmıştır ( Chambers, 1988; Cookson and Philips, 1990; Tomasz et al,1989). Metisiline duyarlı *S. aureus* suşlarında *mecA* genine eş değer bir allel gen bulunmamaktadır. Bazı yazarlara göre *MecA* geni kromozomal olsa da bu genin transpozon vasıtası ile, beta laktamaz genini taşıyan plazmide sıçrayarak entegre olduğu iddia edilmektedir (Chambers, 1988). PBP 2a sentezini penisilinaz üretimini kodlayan plazmadaki regülatör genin kontörü altında olduğu düşünülmektedir (Bruce and Skurray, 1987). Penisilinaz negatif suşlarda ise bu, kromozomda lokalize olabilir (Chambers, 1988). Metisiline direnci PBP 2a'nın yanı sıra hücrenin otolitik aktivitesini düzenleyen mekanizmaya bağlı olabileceği ve dirençli suşlarda hücre erimesini geciktiren bir faktörün bulunduğudır. Bu da faktör X olarak adlandırılmıştır ( Chambers, 1988; Cookson and Philips, 1990). Son yıllarda metisilin direncinin farklı bir mekanizma ile meydana geldiği (borderline veya edinsel MIK 8-16 µg/ml düşük düzeyli). Olarak bu tür direncin yalnız *S. aureus*'larda olduğudır. Bu suşların yüksek oranda penisilinaz oluşturmaları semisentetik penisilinler, penisilinaza dayanıklı olacak şekilde geliştirilmişse de böyle aşırı penisilinaz oluşturan suşlar bu antibiyotikleri inaktive edebilirler. Bu mekanizmaya bağlı direnç, plazmidde kodlanır ve beta laktamaz inhibitörleri ile giderilebilir (Cookson and Philips, 1990; Liu et al.1990; Daugal and Thornsberry, 1986; Sierra et al. 1988). Antimikrobik ajanlara ve konağın savunma sistemine karşı kendini

yenileyebilme karakterine sahip olmaları tıbbi mikrobiyolojideki önemini arttırmaktadır (Sheargen, 1984).

1940'larda penisilinin yaygın kullanımı sonucunda penisilinaz üreten penisiline dirençli *S. aureus* suşlarının oluştuğu hastane epidemileri görülmüştür. 1950'lerde iki veya daha fazla stafilokokal antibiyotiğe dirençli suşlar ortaya çıkmıştır. Bunlar yayılcı karakterleri ile önemli bir problem oluşturmaktadırlar (Dukworth et al, 1988). 1960'larda çoğul antibiyotik direnci gösteren stafilokoklarda hastane infeksiyonu kontrol yöntemlerine, antibiyotiklerin daha bilinçli kullanılması, penisilinaza dirençli penisilinlerin kullanılmasına bağlı olduğu düşünülerek, kademeli bir azalma görülmüştür. 1961 yılında Metisilinin kullanılmaya başlamasından iki yıl sonra metisiline dirençli *S. aureus*ları bildirilmiştir (Kloos and Lambe, 1987; Yüce, 1988). 1970'lerde gentamisine dirençli suşlara rastlanmış, bazı suşlarda gentamisin ve metisilin direnci birlikte görülmüştür. 1980'lerden bu yana dünyada çoğul dirençli *S. aureus* ile oluşan nazokomiyal infeksiyonlara giderek artan sıklıkta raslanmaktadır. 1980 yılı içinde İngiltere'de oluşan hastane infeksiyonlarının ¼'ünde etken *S. aureus* 'dur. Metisiline dirençli *S. aureus* suşları epidemiyolojik açıdan iki tipe ayrılırlar. Epidemik metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının yayılcı özellikle olmaları ve çoğu antibiyotiklere direnç gösterirler. Bu suşlar sporadik hastane infeksiyonlarına neden olurlar. İkinci tip olan MRSA suşları ise non epidemiktir (Dukworth et al, 1988). *S. aureus*'dan kaynaklanan infeksiyonlarda portörlüğün önemi büyüktür. İnsanların %40'nın *S. aureus* ile kolonize olduğu, nazokomiyal infeksiyonların %10 kadarından bu bakterinin sorumlu olduğu bilinmektedir (Cohen, 1988). Hastane personelindeki el ve burun taşıyıcılığı hastane infeksiyonlarının yayılmasında büyük fonksiyonu vardır (Vanderbroucke et al, 1991). Deri hastalıkları yeni doğan, yoğun bakım, cerrahi (özellikle plastik cerrahi) ve yanık ünitelerinde çoğul dirençli stafilokoklar başlıca problem olarak kalmaya devam etmiştir ve günümüzde de sürmektedir (Dukworth et al, 1988).



### **3.GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1.Suşların İzolasyonu ve Tanısı**

Kocaeli Tıp Fakültesinin çeşitli kliniklerinde yatan hastalarda bakteriyolojik inceleme için Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderilen idrar, kan, cerahat, balgam örnekleri çalışma kapsamına alındı. Bu örneklerden izole edilen suşlar gram boyama, mikroskopik incelemeler yapılmış ve Staphylococcus cinsine özgü morfolojik özellikler açısından değerlendirilerek tür tanısı yapılmıştır. S.aureus suşlarının tanısında koagulaz, DNase, katalaz, oksasilin (metisilin) dirençlilikleri bakılmıştır. Eozin Metilen Mavis (EMB) agar besi yerinde üreyen suşların tanısında da oksidaz, katalaz, indol, Metil red, voges proskauer, sitrat, üreaz, H<sub>2</sub>S, triple suger iron agar (TSİ), hareket, lizin, arjinin ve ornitin deneyleri çalışıldı.

51 Metisiline dirençli S. aureus suşları ve 37 E coli suşları ile agar tarama yöntemi ile Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve disk difüzyon yöntemi ile bu suşların, tedavide alternatif olabilecek bazı antibiyotiklere direnç durumları araştırıldı.

#### **3.2. Besi Yerleri**

##### **3.2.1. Müeller Hinton Buyyonu(Difco)**

Toz halindeki Müeller Hinton buyyonundan 21 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözüldürüldükten sonra otoklavda 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir.

### **3.2.2. Müeller Hinton Agar (Difco)**

Toz halindeki Müeller Hinton agardan 38 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözüldürüldükten sonra otoklavda 121°C’de steril edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra su banyosunda 45-50 °C’ de soğutulup, besi yeri plastik petrilere derinliği 4 mm olacak şekilde döküldü.

### **2.2.3. Blood Agar Base (Difco)**

Toz halindeki Blood Agardan 40 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş, çözüldürüldükten sonra otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilmiş 45-50 °C’lik su banyosunda soğutulup %5-7 ml oranında koyun kanı ilave edilerek steril petrilere dökülmüştür (Bilgehan, 1995).

### **3.2.4. Metisilin Besi Yeri**

Toz halindeki Müeller Hilton agardan 38 g tartılarak %2-4 oranında NaCl ilave edilip üzerine 1000 ml damıtık su içerisinde çözüldürüldükten sonra otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir ( Bilgehan, 1995).

### 3.2.5. Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar (Difco)

Toz halindeki EMB agardan 36 g tartılarak üzerine 1000 ml damıtık su ilave edilmiş çözündürüldükten sonra otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir.

## 3.3. Agar Tarama Yöntemi ile Antibiyotik Duyarlılık Deneyi

### 3.3.1. Çözeltiler

#### 3.3.1.1. Antibiyotik Çözeltileri

Deneyde kullanılan antibiyotiklerden stafilokoklar için Beta laktam grubu ampisilin, Beta laktam/Beta laktamaz inhibitör kombinasyonu amoksisilin / klavulonat, kinolon grubu siprofloksasin, aminoglikozid grubu netilmisin, glikopeptidlerden vankomisin ve teikoplanin antibiyotikleri seçilmiştir. E coli için: Beta laktam grubu ampisilin, Beta laktam / Beta laktamaz inhibitor kombinasyonu ampisilin/sullbactam, sefalosporin grubundan sefazolin, seftriakson, karbapenem grubundan imipenem, monobaktam grubundan aztreonam, aminoglikozid grubundan amikasin, kinolon grubundan siprofloksasin antibiyotikleri seçilmiştir.

Bu antibiyotiklerin stok çözeltilerini hazırlamak için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır (NCCLS, 1997).

$$\text{Tartılacak antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{çözücünün hacmi (ml) x konsantrasyon } (\mu\text{g/ml})}{\text{antibiyotiğin aktivitesi}(\mu\text{g/mg})}$$

Ampisilini çözücü olarak pH:8; 0.1 M fosfat tamponu hazırlandı, sulandırıcısı pH:8; 0.1 M fosfat tamponu hazırlandı. Amoksisilin /klavulanik asit çözücüsü olarak pH:6; 0,1 M fosfat tamponu, sulandırıcısı pH:6; 0,1 M fosfat tamponu hazırlandı. Sefazolin çözücüsü olarak pH:6; 0,1 M fosfat tamponu, sulandırıcısı su. Sefriakson çözücüsü olarak pH:6; 0,1 M fosfat tamponu, sulandırıcısı su. İmipenem için, çözücüsü pH:7.2; 0,01 M fosfat tamponu, sulandırıcısı olarak pH:7; 0,01 M fosfat tamponu hazırlandı. Aztreonam için, çözücü olarak doymuş bikarbonat çözeltisi sulandırıcı olarak su kullanılmıştır (Bilgehan, 1995).

### **3.3.2. İnokulumun Hazırlanması**

#### **3.3.2.1. Mc Farland Standardının Hazırlanması**

Deneylede Mc Farland'ın 0.5 nolu standart bulanıklığı esas alınmıştır. Bunu hazırlamak için 0.5 ml 0.048 M BaCl<sub>2</sub> çözeltisi (BaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O'nun %1.175'lik çözeltisi a/h.).99.5 ml 0.18 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisine (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'ün %1'lik çözeltisi h/h) ilave edilmiştir (NCCLS, 1988).

#### **3.3.2.2. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması**

Çalışmada kullanılan Staphylococcus suşlarının steril petri kutularındaki Blood agar base, E. coli suşlarının steril petri kutularındaki EMB agar besi yerine azaltma yöntemi ile ekilmiş olan bakteriler, 35 °C'de bir gecelik inkübasyondan sonra oluşan

kolonilerden steril edilmiş olan ve içersinde 5 ml müeller hinton buyyonu bulunan tüplere her bir bakteri için ayrı ayrı ekimler yapılmıştır. Kültürler 35°C'de gözle görülür bir bulanıklık oluşana dek inkübasyona bırakılır. Steril damıtık su ile 0.5 nolu Mc Farland standardına göre beyaz bir kağıda siyah düz bir çizgi çizilerek tüpleri aydınlık bir kaynaktan yararlanılarak kıyaslama yoluyla bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu suşların 10<sup>8</sup> CFU/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir. Her bir süspansiyon 625 nm de 0.08-0.10 absorbans değeri verdi. Bu değerler sağlandıktan sonra istenen 10<sup>7</sup> CFU/ml inokulum konsantrasyonunu elde etmek için süspansiyonlar, steril buyyon'la 1/10'luk oranında dilue edildi. 1 veya 2 µl replikator aracılığı ile agar yüzeyine uygulandı. Agar yüzeyindeki son inokulum sayısı 10<sup>4</sup> CFU/ml olup, agar alanın çapı 5-8 mm olarak ayarlanmıştır.

### **3.4. Diğer Malzemeler**

3.4.1. Etilen oksitli sterilizatörde steril edilen U tabanlı 96 kuyu içeren mikropalak kullanılmıştır.

3.4.2. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiş olan replikator kullanılmıştır.

3.4.3. Otomatik pipetler, otoklavda 121 °C'de 15 dakikada steril edilmiş olan plastik pipet uçları, 2 ml'lik pipetler, 25 ml'lik pipetler, tüpler, erlen mayer şişeleri, damıtık su kullanılmıştır.

### **3.5. Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Saptanması**

#### **3.5.1 Deney Koşullarının Standardizasyonu**

Uygulanan yöntemin uluslararası standartlara uygunluğunu sağlamak amacıyla Staphylococcus aureus ATCC 29213 suşu için; Ampisilin 0.25-256 µg/ml, amoksisilin

/klavulonik asit 0.06-128 µg/ml, siprofloksasin 0.125-128 µg/ml, netilmisin 0.125-128 µg/ml, vankomisin 0.25-256 µg/ml, teikoplanin 0.25-256 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda denenmiştir. E. Coli ATCC 25922 için; Ampisilin 0,5-512 µg/ml, ampisilin/sulbaktam 0,5-512 µg/ml, sefazolin 0,5-512 µg/ml, sefriakson 0,031-32 µg/ml, imipenem 0,06-64 µg/ml, aztreonam 0,25-256 µg/ml, amikasin 0,5-512 µg/ml, siprofloksasin 0,015-16 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda denenmiştir.

### 3.5.2. Yöntem

Çalışmada Staphylococcus suşlarına karşı; Ampisilin, amoxicillin/klavulanik, siprofloksasin, netilmisin, vancomisin, teikoplanin. E.coli suşlarına karşı; Ampisilin, ampisilin/sulbaktam, sefazolin, sefriakson, imipenem, aztreonam, amikasin, siprofloksasin'in MİK değerleri araştırıldı.

Agar tarama yöntemi ile antibiyotikler'in MİK değerlerini saptamak amacı ile, her bir antibiyotik için ilk tüp hariç içerisinde 1 ml damıtık su ilaveli, otoklavda steril edilmiş olan 11 tüp hazırlandı. İlk tüp 1 ml 256 µg/ml konsantrasyondaki ampisilin kondu. İkinci tüpe hazırladığımız 256 µg/ml'lik konsantrasyonlu antibiyotik süspansiyonundan 1 ml kondu. 2-11 numaralı tüpler arasında seri dilüsyon yapıldı. Böylece ilk tüp 256 µg/ml'lik konsantrasyonda, ikinci tüp 128 µg/ml'lik konsantrasyonda, üçüncü tüp 64 µg/ml'lik konsantrasyonda, dördüncü tüp 32 µg/ml'lik konsantrasyonda olur. Onbirinci tüp 0.25 µg/ml'lik konsantrasyonda olur. Onbirinci tüpte oluşan 2 ml'lik sıvının 1 ml'si dışarı atılır. İçerisinde 0,25-256 µg/ml konsantrasyonlarında ampisilin süspansiyonları bulunan, onbir tüp olur. Onbir tüp'e karşılık gelen konsantrasyon miktarları arkalarına yazılı olan steril petri kutularına dökülür. Bu işlemler diğer antibiyotikler için de yapılır. Otoklavda steril edilen Müeller Hinton agar besiyeri 45-50 °C'lik su banyosunda soğutulup ve pH'sı 7,2-7,4 olan Müeller Hinton agar çeşitleri konsantrasyonlarında farklı antibiyotiklerin dökülmüş olduğu steril petrilere, her bir petri içerisine 19 ml Müeller Hinton agar, antibiyotik

konsantrasyonlu sıvılar ile homojen bir dağılım oluşturacak şekilde karıştırıldı, plaklara inokulasyon yapılmadan önce 35 °C'deki etüvde agar yüzeyleri kurutuldu. Replikator vasıtası ile mikropleytlere hazırlanmış olduğumuz  $10^7$  CFU/ml konsantrasyondaki bakteri süspansiyonları çeşitli antibiyotiklerin, değişik konsantrasyonlarındaki agar yüzeylerine steril şartlarda her bir plaka inoküle edilmiştir. Agar yüzeyine 1 veya 2 µ replikator vasıtasıyla dağıtılmış olan agar yüzeyindeki son inokulum sayısı  $10^4$  CFU/ml olup, agar alanının çapı 5-8 mm olarak ayarlanmıştır.

### **3.5.3 Kontrol Plakalarının Hazırlanması**

İçinde antimikrobiyal ajan olmayan agar plakaları katılaştıktan sonra replikator ile bakteri süspansiyonları agar yüzeyine inoküle edilmiştir.

### **3.5.4 Plakalarının İnkübasyonu**

İnokulum olanları agar yüzeyine absorbe olana dek oda ısısında bırakıldı daha sonra 35°C'de 16-20 saat inkübe edildi.

### **3.5.5 Üremelerin İncelenmesi**

Üremeyi tam olarak inhibe eden antimikrobiyal ajanın en düşük konsantrasyonlarında MİK değeri olarak kayıt edildi. Staphylococcus aureus suşlarının duyarlılığının denendiği antibiyotik eş değer MİK değeri tablo1 de, Standart

S. aureus ATCC 29213 suşunun duyarlılığının denendiği MİK değeri Tablo 2’de, E. coli suşlarının duyarlılığının denendiği antibiyotik eş değer MİK aralığı Tablo 7’de, Standart E. coli ATCC 25922 suşunun duyarlılığının denendiği MİK aralığı Tablo 8’de, gösterilmiştir.

### 3.6. Disk Difüzyon Yöntemi ile Metisilin Direncinin Belirlenmesi

Bu amaçla aşağıda özellikle belirtilen besi yeri ve antibiyotikli diskler kullanılmıştır. Müeller Hinton agar (Oxoid) NaCl içeriği %2-4 oranında olacak şekilde hazırlanmış pH’sı 7,2-7,4’e ayarlanmış, steril edilerek petri kutularına 4 mm kalınlık oluşturacak şekilde dağıtılmıştır. Deneyde 5 mm çapındaki 1 µg’lık oksasilin diskleri kullanılmıştır. Agar tarama yönteminde tarif edildiği şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonları kullanılmıştır. İnokulum için steril eküvyon bakteri süspansiyonuna daldırarak bir kaç kez karıştırılmış, tüp kenarına bastırılmış, bir kaç kez döndürülerek sıvının fazlası akıtılmış ve %4 NaCl’li Müeller Hinton agar besiyerinin yüzeyine yayılmıştır (NCCLS, 1997). Bakteri süspansiyonun difüze olması amacıyla oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Sonra 1 µg oksasilin içeren diskler yerleştirilmiş 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve 35°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnhibasyon zonlarının çapı ışık karşısında ölçülerek kaydedilmiştir. İnhibasyon zon çaplarının değerlendirilmesi NCCLS’e göre yapıldı (NCCLS, 1997).

Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
≤ 10 mm	11-12 mm	≥13 mm

S.aureus ATCC 25923 standart suşu kullanılmış ve NCCLS’in önerdiği inhibasyon zon çapları elde edilecek deneyin standardizasyonu sağlanmıştır.



### 3.7. Staphylococcus aureus ve E.coli Suşlarının, Tedavide Alternatif Olabilecek Bazı Antibiyotiklere Karşı, Disk Difüzyon Yöntemiyle Direnç Durumunun Belirlenmesi .

Müeller Hilton agar besiyeri pH'ı 7,2-7,4 ye ayarlanmış, otoklavda steril edildikten sonra 4 mm kalınlıkta petri kutularına dökülmüştür. S.aureus ve E.coli suşlarının 18 saatlik kültürlerinde steril fizyolojik tuzlu suda Mc Farland'ın 0,5 numaralı standart tüpü bulanıklığına uygun süspansiyonlar hazırlanmıştır. İnokulum daha önce anlatıldığı şekilde eküvyon yardımıyla yapılmıştır. Bakteri süspansiyonunun difüze olması için 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Antibiyotik diskleri yerleştirildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında tutulmuş ve 37°C'lik etüvde 24 saatlik inkübasyondan sonra sonuçlar okunmuştur ( NCCLS, 1997). Staphylococcus aureus suşlarının denendiği antibiyotik disklerinin içeriği ve inhibisyon zonlarının değeri Tablo 3'de, Standart S. aureus ATCC 25923 suşunun antibiyotik disklerinin içeriği ve inhibisyon zonlarının değeri Tablo 4'de gösterilmiştir. E.coli suşlarının denendiği antibiyotik disklerinin içeriği ve inhibisyon zonlarının değeri Tablo 5'de , Standart E.coli ATCC 25922 suşunun duyarlılığının denendiği antibiyotik disklerinin içeriği ve inhibisyon zonlarının değeri Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 1. Staphylococcus aureus Suşlarının Duyarlılığını Denendiği Antibiyotik Eş Değer MİK Değerleri**

Antimikrobiyal Ajan	Dirençli	Duyarlı
Ampisilin	B-laktamaz	≤ 0.25
Amoksisilin/Klavulanik asid	≥8/4	≤ 4/2
Teikoplanin	≥ 32	≤ 8
Vankomisin	≥ 32	≤ 4
Netilmisin	≥ 32	≤ 12
Siprofloksasin	≥ 4	≤ 1

**Tablo 2. Staphylococcus aureus ATCC 29213 Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MICs) ( $\mu\text{g/ml}$ ) Değerleri**

Antimikrobiyal Ajan	S. aureus ATCC 29213
Ampisilin	0.25-1
Amoksisilin/Klavulanik asid	0.12/0.06-0.5/0.25
Teikoplanin	0.25-1
Vankomisin	0.5-2
Netilmisin	$\leq 0.25$
Siprofloksasin	0.12-0.5

**Tablo 3. Staphylococcus aureus Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri**

Zon çapı mm olarak

Antimikrobiyal Ajan	Disk içeriği	Dirençli	Orta derece	Duyarlı
Ampisilin	10 $\mu\text{g}$	$\leq 28$	-	$\geq 29$
Amoksisilin/ Klavulanik asit	20/10 $\mu\text{g}$	$\leq 19$	-	$\geq 20$
Teikoplanin	30 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	11-13	$\geq 14$
Vankomisin	30 $\mu\text{g}$	$\leq 9$	10-11	$\geq 12$
Netilmisin	30 $\mu\text{g}$	$\leq 12$	13-14	$\geq 15$
Siprofloksasin	5 $\mu\text{g}$	$\leq 15$	16-20	$\geq 21$

**Tablo 4. S. aureus ATCC 25923 Standart Suşunun Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değerleri.**

Anti mikrobiyal Ajan	Disk içeriği	S.aureus ATCC25923
Ampisilin	10 µg	27-35
Amoksisilin/ Klavulonik asid	20/10 µg	28-36
Teikoplanin	30 µg	15-21
Vankomisin	30 µg	17-21
Netilmisin	30 µg	22-31
Siprofloksasin	5 µg	22-30

**Tablo 5. E. coli Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Disklerinin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri.**

Antimikrobiyal Ajan	Disk içeriği	Zon çapı mm olarak		
		Dirençli	Orta derece	Duyarlı
Ampisilin	10µg	≤13	14-16	≥17
Ampisilin/sulbaktam	10/10 µg	≤11	12-14	≥15
Sefazolin	30 µg	≤14	15-17	≥18
Seftriakson	30 µg	≤13	14-20	≥21
İmipenem	30 µg	≤14	14-15	≥16
Aztreonam	30 µg	≤15	16-21	≥22
Amikasin	30 µg	≤14	15-16	≥17
Siprofloksasin	5 µg	≤15	16-20	≥21

**Tablo 6. E.coli ATCC 252922 Standart Suşunun Duyarlılığın Denendiği Antibiyotik Disklerin İçeriği ve İnhibisyon Zonlarının Değeri**

Anti mikrobiyal Ajan	Disk içeriği	E.coli ATCC 25922
Ampisilin	10 µg	16-22
Ampisilin/Sulbaktam	10/10 µg	20-24
Sefazolin	30 µg	23-29
Sefriakson	30 µg	29-35
İmipenem	10 µg	26-32
Aztreonam	30 µg	28-36
Amikasin	30 µg	19-26
Siprofloksosin	5 µg	30-40

**Tablo 7. E.coli Suşlarının Duyarlılığının Denendiği Antibiyotik Eş Değer MİK Aralığı**

Anti mikrobiyal Ajan	Dirençli	Duyarlı
Ampisilin	≥32	≤ 8
Ampisilin/Sulbaktam	≥32/16	≤8/4
Sefazolin	≥32	≤8
Sefriakson	≥64	≤4
İmipenem	≥16	≤4
Aztreonam	≥32	≤8
Amikasin	≥32	≤16
Siprofloksasin	≥4	≤1

**Tablo 8. Standart E. coli ATCC 25922 Suşunun Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK)µg/ml Değerleri.**

Anti mikrobiyal ajan	E.coli ATCC 25922
Ampisilin	2-8
Ampisilin/sulbactam	1/0.5-4/2
Sefazolin	1-4
Seftriakson	0.03-0.12
İmipenem	0.06-0.25
Astreonam	0.06-0.25
Amikasin	0.5-4
Siprofloksasin	0.004-0.015

#### 4.BULGULAR

Bu çalışma Kocaeli Tıp Fakültesi hastanesinin çeşitli kliniklerde yatarak tedavi gören hastalardan Haziran 96 ile Mart 98 tarihleri arasında alınan çeşitli materyallerinden izole edilen toplam 221 bakteri suşu ile yapıldı.

**Tablo 9. Yatan Hastalardan İzole Edilen Toplam Suşların Servislere Göre Dağılımı.**

Servisler	Sayı	%
Üroloji	47	21.3
Pediyatri	41	18.55
Ortopedi	22	9.94
Göğüs kalp damar cerrahisi	9	4.1
Genel cerrahi	21	9.51
Dahiliye	32	14.5
Kadın doğum	14	6.3
Reanimasyon	13	5.9
Fizik Tedavi	8	3.6
Dermatoloji	4	1.8
KBB	3	1.35
Kardiyoloji	3	1.35
Anestezi	1	0.45
Beyin Cerrahi	2	0.9
Göğüs hastalıkları	1	0.45
Toplam	221	100

İzole edilen suşların kliniklere göre dağılımları Tablo 9, bu suşların cins ve tür dağılımları ise Tablo 10 de verildi. Tablolara göre en sık izolasyon üroloji ve pediatri ile dahiliye kliniklerinden alınan materyallerden yapıldı.

**Tablo 10. Yatan Hastalardan Elde Edilen Suşların Dağılımı.**

Patojenler	Sayı	%
E.coli	37	16.9
Metisiline dirençli S.aureus	51	23.1
Metsiline duyarlı S.aureus	63	28.5
E.aglomerans	6	2.7
E.aerogenes	8	3.6
E.cloaca	4	1.8
P.aeruginosa	16	7.2
K.pneumonia	5	2.3
K.oxytoca	4	1.8
K.ozoena	3	1.35
P.mirabilis	3	1.35
P.vulgaris	2	0.9
Metisiline dirençli S.epidermitis	9	4.0
Metisiline duyarlı S.epidermitis	10	4.5
Toplam	221	100

Bakteri suşu olarak en sık *S.aureus* (114 izolat), ikinci sıklıkla *E. coli* (37 izolat) izole edildi.

*S.aureus* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle metisilin (oksasilin) direnci araştırıldı. Bu suşların 51'i (%44.74) MRSA, 63'ü (%55.26) MSSA oldukları belirlendi. İzole edilen *S.aureus* suşlarının kliniklere ve materyallere göre dağılımları Tablo 11 ve 12 da verildi. Bu tablolara göre; En yüksek izolasyona pediatri kliniği ile idrar örneklerinde rastlandı.

**Tablo 11. S.aureus Suşlarının Geldiği Servislere Göre Dağılımı .**

Servisler	Sayı	Metisiline	
		Duyarlı	Dirençli
Üroloji	18	5	13
Pediatri	25	18	7
Ortopedi	16	10	6
Göğüs kalp damar cerrahisi	8	5	3
Dahiliye	11	6	5
Kadın doğum	10	7	3
Reanimasyon	5	2	3
Genel cerrahi	7	2	5
Fizik tedavi	4	3	1
Dermatoloji	3	2	1
KBB	2	1	1
Kardiyoloji	2	1	1
Anestezi	1	0	1
Beyin cerrahisi	1	0	1
Göğüs hastalıkları	1	1	0
<b>Toplam</b>	<b>114</b>	<b>63</b>	<b>51</b>



**Tablo 12. S.aureus İzolatlarının Geldiği Materyallere Göre Dağılımı.**

Materyalin adı	Metisiline		Toplam
	Duyarlı	Dirençli	
İdrar	19	16	35
Apse	11	4	15
Yara	16	15	31
Endotrakeal tüp aspirasyonu	0	2	2
Periton Dializ Mayii	0	1	1
İnsizyon sıvısı	2	1	3
Balgam	3	0	3
Kan kültürü	5	4	9
Batından Dren Mayii	4	5	9
Göbek sürüntüsü	3	2	5
Vajen	0	1	1
Toplam	63	51	114

S. aureus suşlarının ampisilin ve amoksisilin/klavulonik asit kombinasyonuna yüksek oranda dirençli oldukları belirlendi. Teikoplanin ve vankomisine dirençli suşa rastlanmadı (Tablo 13). Disk diffüzyon testi ile elde edilen bu sonuçlar agar tarama yöntemi ile büyük oranda uyumlu bulundu. Ancak bir MRSA suşunda farklı sonuç elde edildi (Tablo 14).

**Tablo 13. Disk Difüzyon Yöntemiyle MRSA Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu.**

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin	0	0	51	100
Amoksisilin / klavulanik asit	2	3.93	49	96.07
Siprofloksasin	20	39.22	31	60.78
Netilmisin	41	80.4	10	19.6
Teikoplanin	51	100	0	0
Vankomisin	51	100	0	0

**Tablo 14. Agar Tarama Yöntemiyle MRSA Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu.**

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin	0	0	51	100
Amoksisilin / klavulanik asit	2	3.93	49	96.07
Siprofloksasin	19	37.26	32	62.74
Netilmisin	41	80.4	10	19.6
Teikoplanin	51	100	0	0
Vankomisin	51	100	0	0

E. coli suşları en sık Üroloji ve Dahiliye kliniklerinden laboratuvara gönderilen idrar örneklerden izole edildi (Tablo 15 ve 16). Bu suşların disk difüzyon ve agar tarama yöntemiyle yapılan antibiogramlarında en yüksek dirençlilik Ampisilin ile Ampisilin/sulbaktam kombinasyonuna karşı belirlendi (Tablo 17 ve 18).

**Tablo 15. E.coli Suşlarının Geldiği Servislere Göre Dağılımı**

Servisler	Sayı	%Dağılımı
Üroloji	13	35.2
Dahiliye	10	27
Genel cerrahi	6	16.2
Pediyatri	4	10.8
Kadın doğum	2	5.4
Beyin cerrahi	1	2.7
Ortopedi	1	2.7
Toplam	37	100

**Tablo 16. Materyallerin Geldiği Bölgeye Göre Dağılımı.**

Materyalin adı	Sayı	%Dağılımı
İdrar	30	81
Apse	5	13.5
Yara	2	5.5
Toplam	37	100

**Tablo 17. Disk Difüzyon Yöntemi ile E.coli Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu.**

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin	16	43.3	21	56.7
Ampisilin/sulbactam	19	51.4	18	48.6
Sefazolin	35	94.6	2	5.4
Seftriakson	37	100	0	0
İmipenem	37	100	0	0
Aztreonam	34	91.9	3	8.1
Amikasin	35	94.6	2	5.4
Siprofloksasin	36	97.3	1	2.7

**Tablo 18. Agar Tarama Yöntemi ile MİK Çalışmasında E.coli Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu.**

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin	16	43.3	21	56.7
Ampisilin/sulbactam	18	48.6	19	51.4
Sefazolin	35	94.6	2	5.4
Seftriakson	37	100	0	0
İmipenem	37	100	0	0
Aztreonam	34	91.9	3	8.1
Amikasin	35	94.6	2	5.4
Siprofloksasin	36	97.3	1	2.7

Çalışma kapsamına alınan klinik örneklerden dördüncü sıklıkla izole edilen toplam 16 *P. aeruginosa* suşunun; 7'si Yoğun bakım ve Reanimasyon, 4' ü G. Cerrahi , 2'si Dahiliye ve birer suşta Kadın-Doğum, Pediatri ve Üroloji kliniğinde yatan hastalardaki infeksiyonlarda belirlendi.



## 5.TARTIŞMA

İlk penisilinaz üreten stafilokoklar 1944'de Kirby tarafından bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren stafilokoklarda penisilin direnci giderek artmıştır. 1950'li yıllarda penisilinın yanı sıra diğer antibiyotiklere de direnç gelişmiştir.

1960 yılında metisilin ve daha sonrada diğer penisilinaza dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle birlikte stafilokoklar infeksiyonların tedavisinde ikinci önemli aşama kaydedilmiştir. Çok kısa bir süre içerisinde 1961 yılında stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmıştır (Barber, 1961).

1970'li yıllardan itibaren metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları yaygın olarak kullanılan bir çok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmeye başlamıştır. Multiple antibiyotik direncinin (metisilin yanı sıra diğer antibiyotiklere direnç) beraberinde getirdiği tedavi güçlüğü ve nozokomiyal epidemilere yol açabilen bir patojen olması nedeniyle MRSA tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir.

*S.aureus* suşlarının epidemik karakter taşıdığı ve nozokomiyal epidemilere neden olduğu bilinmektedir.

Antibakteriyel sağaltım alanındaki hızlı gelişmelere karşın, stafilokokların neden olduğu ciddi infeksiyonlar önemli bir klinik sorun oluşturmaya devam etmektedir.

Tüm infeksiyonların 1/3'ünde etkenin *S.aureus* infeksiyonlarının %60'ının MRSA suşlarına bağlı olması, ancak ülkeler arasında bu oran yönünden önemli farklılıklar gözlenmesidir. İtalya, Fransa ve Yunanistan'da tüm *S.aureus* suşlarının %80'i, Almanya'da %37'si, İsviçre ve İngiltere'de %10'udur.

Avrupada tüm hastane infeksiyonlarına yönelik bir çalışmada 10 ülkede toplam 43 laboratuvardan gönderilen birbirini izleyen ilk 200 S.aureus üremesi incelenmiş, bunların %12.8'inin metisiline dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada İtalya, Fransa, İspanya, Belçika ve Avusturya'da MRSA oranının yüksek, Almanya'da orta düzeyde, Danimarka, İsveç, Hollanda ve İsviçre'de çok düşük olduğu saptanmıştır. İtalya'da %34.4, Fransa'da %33.6, İspanya'da %30.3, Belçika'da %25.1, Avusturya'da %21.6, Almanya'da %5.5, İsviçre'de %1.8, Danimarka'da %0.1 Nazokomiyal metisilin direnci bildirilmiştir (Voss et al,1994).

Günümüzde metisilin direnci özellikle hastane suşları söz konusu olduğunda tüm dünyada yaygın olarak görülen bir olaydır. İsviçre'de hastane izolatlarının %40.-60'ı metisiline dirençlidir. Ayrıca bu organizmaların büyük çoğunluğu diğer bir çok antibiyotiklere de direnç göstermektedir (Entenza et al,1994).

Değişik Devlet Hastanelerinde bulunan MRSA sıklığı : SSK Buca Hastanesi, İzmir (%36) İnfeksiyon dergisi 1992, Refik Saydam, Ankara (%19.5) 26. Türk Mik. Kong. 1994, Yüksek ihtisas Hastanesi, Ankara (%11.6) Mik. Bül 1995.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde bulunan MRSA sıklığı : (%32) 3. Ulusal Ankem Kong. Ankara 1988, (%45) Antimik Kem Günleri, Antalya 1995.

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde bulunan MRSA sıklığı: (%32) 3.Ulusal Ankem Kongresi, Ankara 1990,(%40) 10. Ulusal Ankem Kongresi, Antalya 1995.

19 Mayıs Üniversitesi Samsun'da bulunan MRSA sıklığı (%37) 25.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Bursa 1992.

Gaziantep Üniversitesinde bulunan MRSA sıklığı (%34) Antimik. Kem. Gün., Antalya 1995.

GATA İstanbul'da bulunan MRSA sıklığı (%38.6) 9. Ulusal Ankem Kongresi, Ürgüp 1994.

Metisilin direncinin ortaya çıkmasından sorumlu olan PBP 2a, metisilin ve diğer penisilin grubu antibiyotiklere ve sefalosporinlere (beta laktam antibiyotiklere) zayıf afinite gösterir. Fenotipik olarak meydana gelen ve tüm beta laktam antibiyotikler de çapraz direnç oluşur. Bu sebeple sefalosporinler metisiline dirençli stafilokoklara etkisizdir.

Penisilinaza dirençli (semisentetik) penisilinler grubunda MRSA direncinin belirlenmesinde metisilin, oksasilin ve nafsilin kullanılır. Etki spektrumları ayrı olan bu antibiyotiklerin oksasilinin invitro deney koşullarında daha stabil olması açısından metisilin direncinin belirlenmesinde oksasilin kullanılmıştır (NCCLS, 1997).

Metisilin direncinin bulunmasında kullanılan yöntemlerde deney koşullarında ufak değişikliklerin bile çok büyük hatalı sonuçlara yol açması, bilim adamlarına farklı fizyolojik koşullarda spesifik ve duyarlı yöntemleri keşfetmeye yöneltmiştir. Bu çalışmada disk difüzyon ve agar tarama yöntemi ile MİK çalışması uygulanmış ve deneylerde NCCLS'in belirttiği fizyolojik koşullar sağlanmıştır (NCCLS, 1997).

Antibiyotiklere karşı duyarlılık testlerinde güvenilir netice alınabilmesinde en etkili etmenlerden biri, deneyde kullanılan bakteri süspansiyonlarındaki hücre yoğunluğudur. Bu durum dikkate alınarak her bir bakteri suşundan hazırlanan Staphylococcus aureus ve E.coli suşlarının bakteri yoğunluğu Mc Farland'ın 0.5 nolu standart tüpüne göre ayarlanan bakteri süspansiyonları aynı gün içerisinde disk difüzyon yöntemi, agar tarama yöntemiyle MİK çalışması ve S. aureus suşlarının metisiline dirençliliklerinin belirlenmesi yapılmıştır. Bu amaçla farklı bakteri süspansiyonlarının kullanılmasında doğabilecek hatalı sonuçların önlenmesine çalışılmıştır.

Disk difüzyon ve agar tarama yöntemlerinin yapılmasında besiyerinin pH, NaCl konsantrasyonu katyon içeriği ve inkübasyon süresi gibi fizyolojik şartların etkisinde göz önünde bulundurulmuştur (Chambers, 1988; Thornsberry,1984; NCCLS, 1997).

Disk difüzyon yöntemi ile metisilin direncinin belirlenmesinde en ideal olan fizyolojik koşullar şunlardır: %4' NaCl içeren pH 7.2-7.4 ayarlanmış olan Müeller Hinton agar besiyerine  $10^8$  CFU/ml içeren bakteri süspansiyonlarından ekim yapılmış 35 °C'de,24 saat inkübasyondan sonra sonuçlar okundu. Bu yöntemle 63 (%55.26) suş metisiline duyarlı, 51 (%44.74) suş metisiline dirençli olduğu bulunmuştur. Bazı araştırmacılar 48 saatlik inkübasyon süresinde bazı suşların inhibisyon zonu içinde sonradan üremelerin görüldüğü ve hatalı sonuçlara yol açabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle deney sonuçları 24 saat sonra okunmuştur.



Disk difüzyon yöntemi ile *S.aureus* suşları ampisilin, amoksisilin/ klavulanik asit, siprofloksasin, netilmisin, teikoplanin, vankomisin'e duyarlılıklarına pH 7.2-7.4'e ayarlanmış, Müeller Hinton agar besisi yerine  $10^8$  CFU/ml içeren bakteri süspansiyonlarından ekimler yapılmış 35 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra sonuçlar okundu. Ampisiline 51 suş (%100) dirençli, amoksisilin/klavulanik asit 49 suş (%96.07) dirençli, siprofloksasine 31 suş (%60.78) dirençli, netilmisin 10 suş (%19.6) dirençli, vankomisin ve teikoplanine direnç rastlanmamıştır.

Agar tarama yöntemi ile MİK çalışmasında *S. aureus* suşları ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, siprofloksasin, netilmisin, vankomisin, teikoplanine duyarlılıklarına bakılırken, aranan fizyolojik şartlar göz önünde tutulmuştur. İstenilen çeşitli antibiyotik konsantrasyonlarında hazırlanmış petrilere pH 7.2-7.4'e ayarlanıp dökülmüş olan Müeller Hinton agar besisi yerine  $10^4$  CFU/ml'lik bakteri süspansiyonu kullanıldı. Deney serisi 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Çalışmamızda NCCLS'in değerlendirme kriterlerine uyarak MİK değerlerinin dirençli ve duyarlı olarak değerlendirildiği sınır noktalara Ampisilin için Beta Laktamaz-0.25 µg/ml'dir. Ampisiline MRSA suşlarının tümü 51 suş (%100)'ü dirençli olduğu bulundu. Amoksisilin/Klavulanik asit için duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildiği sınır noktaları 8/4 -4/2 µg/ml'dir. MRSA suşlarının 49 suşu (%96.07) dirençli olduğu bulundu. Siprofloksasin için duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildiği sınır noktaları 4-1 µg/ml'dir. MRSA suşlarının, 32 suşu (%62.74) dirençli olduğu bulundu. Netilmisin için duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildiği sınır noktaları 32-12 µg/ml'dir. MRSA suşlarının 10 suş (%19.6) dirençli olduğu bulundu. Teikoplanin için duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildiği sınır noktalar 32-8 µg/ml'dir. MRSA suşlarında dirence rastlanılmadı. Vankomisin için duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildiği sınır noktalara 32-4 µg/ml'dir. MRSA suşlarında dirence rastlanılmadı.

Disk difüzyon yöntemi ile agar tarama yöntemini karşılaştırdığımızda, ampisilin için yapılan disk difüzyon yöntemi ile zon çaplarına göre 51 suş (%100) dirençli olduğu, agar tarama yöntemi ile MİK çalışmasında 51 suş (%100) dirençli bulunması çalışmadaki %100 oranında bir uyumun olduğu gösterdi. Amoksisilin/Klavulanik asit için disk difüzyon yöntemi ile zon çaplarına gösterilen 49 suş (%96.07)'un dirençli

olduğu, 2 suş (%3.93)'ü duyarlı olduğu bulundu. Agar tarama yöntemi ile MİK çalışmasında 49 suşun (%96.07)'ü dirençli, 2 suşun (%3.93)'ün duyarlı bulunması çalışmadaki %100 oranında bir uygunluğu gösterdi. Siprofloksasin disk difüzyon yöntemi ile zon çaplarına gösterilen direnç 31 suş (%60.78) oranında olup, agar tarama yöntemi ile yapılan MİK çalışmasında 32 suş (%62.74) dirençli olduğu bulundu. Zon çaplarına göre duyarlı olan suşların MİK değerlerine göre dirençli olduğu %1.96 oranında uyumsuzluğu ortaya koymuştur. Buna karşın %98.04 oranındaki uyumunda göz ardı edilmemesi gerekir.

Netilmisin disk difüzyon yöntemi ile zon çaplarına göre 10 suş (%19.6) dirençli, agar tarama yöntemiyle yapılan MİK çalışmasında 10 suş (%19.6) dirençli olduğu bulundu. Çalışmada %100 oranında bir uygunluk göstermiştir.

Teikoplanin ve vankomisin disk difüzyon yöntemiyle zon çaplarına 51 suş (%100)'ü duyarlı buldukları agar tarama yöntemiyle yapılan MİK çalışmasında 51 suş (%100)'ü duyarlı oldukları bulunarak, çalışmada %100 oranında bir uygunluk göstermiştir.

MRSA 51 suşun 6 antibiyotiğe karşı 306 teste zon çapları ve MİK değerlerini göz önüne aldığımızda tüm antibiyotikler için ; zon çaplarına göre duyarlı olan suşların MİK değerlerinde yüksek olan 1 suş için bu oran %0.32 oranında uyumsuzluğu ortaya koymaktadır. Çalışmada toplam olarak %99.68 oranında bir uyum olduğu gözlenmiştir.

Agar tarama yönteminde elde edilen direnç oranı disk difüzyon yöntemine göre %0.13 oranında daha yüksek olduğu saptandı.

Disk difüzyon yöntemi ile E.coli suşları için ampisilin, ampisilin/sulbaktam, sefazolin, seftriakson, imipenem, aztreonam, amikasin, siprofloksasin'e duyarlılıklarına pH'ı 7.2-7.4'e ayarlanmış Müeller Hinton agar besi yerine  $10^8$  CFU/ml içeren bakteri süspansiyonlarından ekimler yapılmış  $35^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyondan sonra sonuçlar okundu. Ampisilin'e 21suş (%56.7) dirençli, ampisilin/sulbaktam 18 suş (%48.6) dirençli, sefazolin 2 suş (%5.4) dirençli, seftriakson ve imipenem'e direnç rastlanılmadı. aztreonam'a 3 suş (%8.1) dirençli, amikasin'e 2 suş (%5.4) dirençli, siprofloksasin'e 1 suş (%2.7) dirençli bulundu.

Agar tarama yöntemi ile MİK çalışmasında, disk difüzyon yönteminde kullandığımız antibiyotikler seçilerek duyarlılıklarına bakılırken aranan fizyolojik şartlar göz önünde tutulmuştur. İstenilen çeşitli antibiyotik konsantrasyonlarından hazırlanmış petrilere pH 7.2-7.4'e ayarlanıp dökülmüş olan Müeller Hinton agar besi yerine  $10^4$  CFU/ml'lik bakteri süspansiyonu kullanıldı. Deney serisi 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Çalışmamızda NCCLS'in değerlendirme kriterlerine uyarak MİK değerlerin in dirençli ve duyarlı olarak değerlendirildiği sınır noktaları içerisinde; Ampisilin 21suş (%56.7) dirençli, ampisilin/sulbaktam 19 suş (%51.4) dirençli, sefazolin 2 suş (%5.4) dirençli, sefriakson ve imipenem'e dirençli suş bulunmadı. Aztreonam 3suş (%8.1) dirençli, amikasin'e 2 suş (%5.4) dirençli, siprofloksasin'e 1suş (%2.7) dirençli bulundu.

Disk difüzyon yöntemi ile agar tarama yöntemi MİK çalışmasını karşılaştırdığımızda ampisilin, sefazolin, sefriakson, aztreonam, amikasin ve siprofloksasin için bulduğumuz değerler aynı olup, tam bir uygunluk göstermiştir. Ampisilin/sulbaktam'ın disk difüzyon yöntemi ile zon çaplarına gösterilen direnç 18 suş (%48.6) olup, agar tarama yöntemi ile yapılan MİK çalışmasında 19 suş (%51.4) dirençli olarak bulundu. Zon çaplarına göre duyarlı olan suşların MİK değerlerine göre dirençli olduğu %2.7 oranında uyumsuzluğu ortaya koymuştur. Buna karşın %97.3 oranında bir uyum söz konusudur.

E.coli 37 suşun 8 antibiyotik'e karşı 296 teste zon çapları ve MİK değerleri göz önüne alındığında tüm antibiyotikler için; Zon çaplarına duyarlı olan suşların MİK değerlerinde yüksek olan 1 suş için bu oran %0.33 oranında uyumsuzluğu ortaya koymaktadır. Buna karşın çalışmada toplam olarak %99.67 oranında bir uyum gözlenmiştir. Agar tarama yönteminde elde edilen direnç oranı disk difüzyon yöntemine göre %0.33 oranın da daha yüksek olduğu saptandı.

Agar tarama yönteminin disk difüzyon yöntemine oranla daha duyarlı yöntem olduğu değerlendirilmiştir. Rutin ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında yöntemlerde duyarlılığın yanı sıra pratik olma özelliği de aranır. Bu özellik yönünden agar tarama yöntemiyle disk difüzyon yöntemi karşılaştırılırsa disk difüzyon yönteminin çok daha pratik olduğu kolayca ifade edilir. Ancak agar tarama yönteminin ağır seyirli infeksiyonların tedavisinde dozun ayarlanabilmesi için suşların MİK değerlerinin

belirlenmesinde kullanılmalı ve bu amaçla gerekli laboratuvar koşulları hazır bulundurulmalıdır.



## 6.SONUÇ

Antibiyotiklerin yaygın ve gelişigüzel kullanılmaları sonucu ortaya çıkan dirençli suşlara özellikle hastane ortamında ve hastanede yatan hastalardan izole edilen bakteriler de sıklıkla rastlanmaktadır. Ayrıca infeksiyonların tedavisinde sayıları giderek artan antibiyotiklerin uzun süre kullanılması, antibiyotiklere çoğul direnç gösteren bakterilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastanelerde antibiyotiklere direnç gelişmesini önlemek için, etkenin bilindiği durumlarda en etkili, en dar spektrumlu ve en ucuz antibiyotik seçilmeli, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarından selektif antibiyotik duyarlılık sonuçları verilmelidir.

Antibiyotik kullanımında sürekli önerilen kurallara titizlikle uyulması gerekir. Kurallara uygun antibiyotik tedavisi yapılmadığı durumlarda, dirençli mikroorganizmaların sayısında hızlı bir artış olacak, süper infeksiyonlara sıklıkla rastlanacak ve ekonomik açıdan büyük kayıplara neden olacaktır.

Hastane infeksiyonlarına sebep olan dirençli suşların antibiyotik alan hastalarda kolonize olmalarının kolaylaşması sonucunda, hastaneler de hızla yayılabilmeleri önemini daha da arttırmaktadır.

Laboratuvar yöntemlerinin özellikle MİK değerlerinin saptanmasında standardizasyonu ülke çapında önem verilmesi gerekir. Konu ile ilgili araştırmalar daha anlamlı ve verimli olacaktır.

Dirençli suşların meydana getirdiği infeksiyonlarını kontrol altında tutmak amacı ile hastanedeki bu suşların prevalansının öğrenilmesi gerekir. Bu nedenle standart yöntemlere göre elde edilmiş olan dirençli suşlarının 6 ayda veya yılda bir kez MİK çalışılarak dirençli suşlarının MİK değerlerinin belirlenmesi gerekir.

## 7.KAYNAKLAR

- BARBER M: Methicillin resistant staphylococci, J. Clin pathol 1961; 14: 385.
- BILGEHAN H: Antimikrobikler ve mikroorganizmalar Klinik mikrobiyolojik tanı s: 147-188 Barış yayınları 2. baskı İzmir Ocak (1995).
- BILGEHAN H: Antimikrobikler ve mikroorganizmalar , Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış yayınları-Fakülteler Kitapevi, 2.Baskı, 147-664, (1995).
- BILGEHAN H: Klinik mikrobiyoloji, s.185, Doğruluk Matbaası, İzmir 1990.
- BRUCE R L, SKURRAY R : Antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus: Genetic basis, Microbial Rev 51 (1): 88 (1987).
- BRUMFITT W, HAMILTON M J: Methicillin resistant Staphylococcus aureus, N Eng J Med 320 (18): 1188 (1989).
- CHAMBERS H F : Methicillin resistant staphylococci , Clin Microbial Rew 1(2): 173 (1988).
- COHEN M L: S.aureus : Biology, mechanisms of virulans, epidemiology, J Pediatı 38: 796 (1988).
- COOKE E M, CASEWELL M W, EMMERSON A M, GASTON M, M. DE SAXE, MAYON-WHITE R T, GALBRAITH H S : Methicillin resistant Staphylococcus aureus in the U.K. and Ireland. A questionnaire survey, J Hosp Infect 8:143 (1986).
- COOKSON B, PHILLIPS I: Methicillin resistant Staphylococci, J Appl Bacterial (Symposium supplement) s. 55-70 (1990).
- CORRINE J, HACK B, CHAMBERS H F : Methicillin resistant Staphylococci detection methods and treatment of infections, Antimicrob Agents Chemother 33 (7): 997 (1989).
- DILMENER M: Stafilokok infeksiyonlarına genel bakış, KLİMİK dergisi 2 (2); 90 (1989).
- DUKWORTH G J, LOTHIAN E L, WILLIAMS J D: Methicillin resistant S.aureus. Report of an outbreak in a London teaching hospital, J Hosp Infect 11(1): 1(1988).
- ENTENZA J M, FLUCKIGER U, GLAUSER M P, MOREILLAN P : Antibiotic treatment of experimental endocarditis due to methicillin - resistant Staphylococcus epidermidis. J Infect Dis 170:100, (1994).

- GANT N M, GLECKMAN R A, BROWN R B, ESPOSITO A L : Manual of Clinical Problems in Infectious Disease, 2. baskı, s 179, Little Brown Co, Boston (1986).
- GÜRLER N, TÖRECI K: Stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi ve yarattığı sonuçlar, İnfeksiyon dergisi 4 (4) : 699 (1990).
- HANDWERGERS S, TOMAS A: Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria, Rev Infect dis 7 (3): 368 (1985).
- HAROLD C : Contribution of beta lactamases to bacterial resistance and mechanisms to inhibit beta - lactamases Am J Med 79 ( suppl 58 ) : 2 (1985).
- JAWETZ E, MELNICK J L, ADELBERG E A, BROOKS G F, BUTEL J S, ORNSTON L N, Medical Microbiology, 18. baskı, s.187 Prentice - Hall.. International , London 1989.
- KLOOS W E, LAMBE D W : Staphylococcus "A BALOWS, W J HAUSLER, K L HERRMANN, H D İSENBERG, H J SHADOMY (eds) : Manual of clinical Microbiology , 5. baskı" kitabında , s.222, Am Soc Microbial , Washington D C 1987.
- LIU H, BUESCHNER G, LEWIS N, SNYDER S, JUNKIND D: Detection of borderline Oxacillin-resistant Staphylococcus aureus and differentiation from methicillin resistant strains, Eur J Clin Microbial Infect Dis 9 (10): 717 (1990).
- MC DOUGAL L K, THORNSBERRY C: The role of Beta Lactamase in Staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins, J Clin Microbiol 23 (5): 832 (1986).
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: Tentative Standards NCCLS Documents M7-T2: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - second edition; Villonova, (1988).
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: Approved Standards M7-A4, Vol.17, No.2, NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - fourth edition; Villonova, (1997).
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: Approved Standards M2-A6, Vol.17, No.1, NCCLS: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests - sixth edition; Villonova, (1997).
- SABATH L D, MINNEAPOLIST M: Mechanisms of resistance to beta -lactam antibiotics in strains of Staphylococcus aureus, Ann Intern Med 97 (3): 339 (1982).
- SCHLESSINGER D, SCHAECHTER M: Biology of infectious agents "M. SCHAECHTER, G.

- MEDOFF, D. SCHLESSINGER (eds) : Mechanisms of Microbial Disease” Kitabından s.17, Williams&Wilkins, Baltimore (1989).
- SHEARGEN J : Staphylococcus aureus: The persistant pathogen (second of two parts), N Eng J Med 310 (22): 1437 (1984).
- SHEARGEN J : Staphylococcus aureus : The persistant pathogen ( first of two parts), N Eng J Med 310 (21) : 1368 (1984).
- SIERRA - MODARO J G, CYATHIA K, CAMLE K, WASHINGTON J A : Role of Beta - Lactamase and different testing conditions in oxacillin borderline - susceptible Staphylococci, Antimicrob Agents Chemother 32 (12): 1754 (1988).
- THORNSBERRY C: Methicillin resistant (Heteroresistant) staphylococci, Antimicrob newsletter 1(6): 43 (1984).
- TOMASZ A, DRAUGEN H B, HERMAN MILONCASTERE, DANIELA J, MCDUGALL L, JACOBS B: New Mechanism for methicillin resistance in Staphylococcus aureus: Clinical isolates that back the PBP 2a gene and contain normal penicillin - binding proteins with modified penicillin-binding capacity, Antimicrob Agents Chemother 33 (11): 1986 (1989).
- TÖRECI K: Stafilokokların sınıflandırılması ve laboratuvar tanısı, KLİMİK dergisi 2 (2) : 80 (1987).
- VANDEBROUCKE G, FRENAY H M E, VANKLINGEREN SEVELKOUL T F : Control of epidemic methicilline - resistant Staphylococcus aureus in a Dutch University Hospital, Eur Clin Microbial Infect Dis 10 (1): 6 (1991).
- VOSS A, MILATOVIC D, WALLRAUCH - SCHWARZ C, ROSDAHL V T, BRANEY I. Methicillin - resistant Staphylococcus aureus in Europe, Eur J Clin Microbial Infect Dis 13: 50-5 (1994).
- YÜCE K: Antibiyotikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri: s.3, Bilgehan basımevi, İzmir (1988).

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**