



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAĞLIK ÇALIŞANLARINDA NAZAL
METİSİLİN-REZİSTAN STAPHYLOCOCCUS
AUREUS (MRSA) TAŞIYICILIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Ceyda UZUN ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK

TRABZON - 2013



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAĞLIK ÇALIŞANLARINDA NAZAL
METİSİLİN-REZİSTAN STAPHYLOCOCCUS
AUREUS (MRSA) TAŞIYICILIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Ceyda UZUN ŞAHİN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 18. 01. 2013

Tezin Sözlü Savunma Tarihi: 28. 01. 2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç.Dr. Celal Kurtuluş BURUK

Jüri Üyesi :Doç.Dr. İlknur TOSUN

Jüri Üyesi :Doç.Dr. Ahmet ALVER

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Ahmet KALKAN

TRABZON- 2013

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ceyda UZUN ŞAHİN'in hazırladığı “Sağlık Çalışanlarında Nazal Metisilin-Rezistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) Taşıyıcılığının Araştırılması” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK

Doç. Dr. İlknur TOSUN

Doç. Dr. Ahmet ALVER

Tarih:28/01/2013

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../.... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

26.01.2013

Ceyda UZUN ŞAHİN

(İmza)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında bana yardımlarını, desteğini, dostluğunu ve hoş görüsünü hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli sayın danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK' a, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli sayın hocalarım; Prof. Dr. Murat ERTÜRK, Prof. Dr. Faruk AYDIN, Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA, Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU ve Doç. Dr. İlknur TOSUN' a teşekkür ederim.

Başarılarımın esas kaynağı olan ve bu günlere gelmem için her türlü fedakarlığı yapan sevgili anneme, babama ve eşime teşekkür ederim.

Ceyda UZUN ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL ve ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER v

TABLolar DİZİNİ x

ŞEKİLLER DİZİNİ xi

SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER xii

1. ÖZET xiii

2. SUMMARY xv

3. GİRİŞ VE AMAÇ 1

4. GENEL BİLGİLER 5

4.1. Stafilocoklar 5

4.2. *Staphylococcus aureus* 6

4.2.1. Fizyolojisi 6

4.2.2. Biyokimyasal özellikleri 7

4.2.3. Yapısı 8

4.2.3.1. Hücre Duvarı 8

4.2.3.2. Kapsül 9

4.2.3.3. Antijenik Yapısı 9

4.2.3.4. Genom 9

4.2.4. Epidemiyoloji 10

4.2.4.1. Sağlık Çalışanlarında S.aureus Taşıyıcılığı 11

4.2.5. Patogenezi 13

4.2.6.	Enzimler.....	14
4.2.6.1.	Katalaz	14
4.2.6.2.	Koagülaz	14
4.2.6.3.	Hiyaluronidaz	15
4.2.6.4.	Fibrinolizin	15
4.2.6.5.	Lipaz	15
4.2.6.6.	DNaz.....	15
4.2.6.7.	Beta Laktamaz	16
4.2.7.	Toksinler.....	16
4.2.7.1.	Alfa Toksin.....	16
4.2.7.2.	Beta Toksin.....	17
4.2.7.3.	Gamma Toksin	17
4.2.7.4.	Delta Toksin	17
4.2.7.5.	Lökositin.....	17
4.2.7.6.	Eksfoliyatif (Epidermolitik) Toksin	18
4.2.7.7.	Toksik Şok Sendromu Toksini (TŞST-1).....	18
4.2.7.8.	Enterotoksinler.....	18
4.2.8.	Yaptığı Hastalıklar.....	19
4.2.8.1.	Deri Enfeksiyonları.....	19
4.2.8.2.	Kemik ve Eklem Enfeksiyonları.....	19
4.2.8.3.	Solunum Sistemi Enfeksiyonları	20
4.2.8.4.	Üriner Sistem Enfeksiyonları	20
4.2.8.5.	Endokardit	20
4.2.8.6.	Bakteriyemi	20
4.2.8.7.	Stafilokoksik Besin Zehirlenmeleri.....	20

4.2.8.8.	Stafilokoksik Haşlanmış Deri Sendromu	21
4.2.8.9.	Toksik Şok Sendromu	21
4.2.9.	<i>S. aureus</i> 'un Laboratuvar Tanısı	21
4.2.10.	Tedavi	22
4.2.10.1.	Taşıyıcıların Tedavisi.....	22
4.2.11.	Antimikrobiyal Direnç.....	22
4.2.11.1.	Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA)	23
4.2.11.2.	Homojen Direnç	24
4.2.11.3.	Heterojen Direnç.....	25
4.2.11.4	<i>S. aureus</i> Suşlarında Metisilin Direncinin Belirlenmesi	25
4.2.11.5.	Oksasilin Disk Difüzyon Yöntemi	25
4.2.11.6.	Sefoksitin Disk Difüzyon Yöntemi	26
4.2.11.7	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	26
4.2.12.	Stafilokoksik Kaset Kromozomu <i>mec</i> (SCC <i>mec</i>) Yapısı.....	27
4.2.13.	Stafilokoksik Kaset Kromozomu <i>mec</i> (SCC <i>mec</i>) Tipleri.....	27
5.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
5.1.	Gereçler	30
5.1.1.	Laboratuvar araç ve gereçleri	30
5.1.2.	Nazal sürüntü örnekleri	30
5.1.3.	Kimyasallar.....	30
5.1.4.	Besiyerleri.....	31
5.1.4.1.	Mannitol salt phenol red agar (MTA).....	31
5.1.4.2.	Kanlı Agar (Blood Agar Base)	31
5.1.4.3.	%4 NaCl'li Muller-Hinton Besiyeri	32
5.1.5.	“Solüsyonlar	32

5.1.5.1.	DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar.....	32
5.1.5.1.1.	Tris HCl (1 M).....	32
5.1.5.1.2.	EDTA (0.5 M)	32
5.1.5.1.3.	TE Tamponu	32
5.1.5.2.	Master Mix İçin Kullanılan Solüsyonlar	33
5.1.5.2.1.	dNTP Mix	33
5.1.5.2.2.	Primer Mix.....	33
5.1.5.3.	Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan Solüsyonlar.....	33
5.1.5.3.1.	5XTBE Tamponu	33
5.1.5.3.2.	Yükleme Tamponu (Loading Buffer).....	33
5.1.5.3.3.	Etidyum Bromür Solüsyonu	34
5.2.	Yöntem	34
5.2.1.	Örneklerin Alınması	34
5.2.2.	Örneklerin Kültürü	34
5.2.3.	Kültürlerin Değerlendirilmesi Saf Kültür Elde Edilmesi	34
5.2.2.2.	Katalaz testi	35
5.2.2.3.	Koagülaz Testi.....	35
5.2.3.	Fenotipik Yöntemlerle MRSA Belirlenmesi	36
5.2.3.1.	Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	36
5.2.4.	Genotipik Yöntemlerle MRSA Doğrulanması	37
5.2.4.1.	DNA izolasyonu	37
5.2.4.2.	PZR Yöntemi ile <i>mecA</i> Geninin Amplifikasyonu	38
5.2.4.3.	Agaroz Jel (%2) Hazırlanması.....	39
5.2.4.4.	Elektroforez Jelinin Hazırlanması ve Kalıpların Jele Yüklenmesi.....	39
5.2.4.5.	<i>mecA</i> PZR Ürünlerinin Yürütülmesi.....	40

5.2.4.6.	SCC <i>mec</i> Multipleks PZR Amplifikasyonu.....	40
5.2.4.6.1.	SCC <i>mec</i> PZR Ürünlerinin AgaroZ Jel Elektroforezinde Saptanması.....	42
6.	BULGULAR	43
7.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
8.	SONUÇLAR.....	58
9.	KAYNAKLAR.....	59
10.	ETİK KURUL ONAYI	74
11.	ÖZGEÇMİŞ.....	76

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. SCCmec kaset gen tiplerinin yapısı.....	29
Şekil 2. <i>S.aureus</i> kolonilerinin kanlı agar ve MTA’da görünümü	43
Şekil 3. <i>S.aureus</i> suşunun tüpte koagülaz testi.....	44
Şekil 4. Muller Hinton besiyerinde <i>S.aures</i> ’un ox ve fox direnci	44
Şekil 5. Mueller Hinton besiyerinde <i>S.aures</i> ’un ox ve fox direnci	45
Şekil 6. Mueller Hinton besiyerinde <i>S.aures</i> ’un ox ve fox direnci	45
Şekil 7. <i>mecA</i> PZR ürünü	46
Şekil 8. <i>S.aureus</i> ve MRSA taşıyıcılık oranları.....	46
Şekil 9. SCCmec tipleri	48
Şekil 10. SCCmec tiplerinin dağılımı.....	49

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa no
Tablo 1. SCCmec tiplendirmede kullanılan primerler.....	41
Tablo 2. PZR master miks hazırlanması	41
Tablo 3. Meslek gruplarına göre <i>S.aureus</i> ve MRSA taşıyıcılık oranları.....	47
Tablo 4. Kliniklere göre <i>S.aureus</i> taşıyıcılığı ve MRSA oranları.....	47
Tablo 5. Cinsiyete göre <i>S.aureus</i> taşıyıcılığı ve MRSA oranları.....	47
Tablo 6. Yaşa göre <i>S.aureus</i> taşıyıcılığı ve MRSA oranları.....	48
Tablo 7. SCCmec tiplerinin servislere göre dağılımı.....	49
Tablo 8. SCCmec tiplerinin yaşlara göre dağılımı	49
Tablo 9. SCCmec tiplerinin meslek gruplarına göre dağılımı	49
Tablo 10. SCCmec tiplerinin cinsiyete göre dağılımı	50

SİMGE VE KISALTMALAR

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CFT: Lam Koagulaz Testi

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CRF: Coagulase Reaction Factor

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DNaz: Deoksiribonükleaz

ET-A: Eksfoliyatif Toksin-A

ET-B: Eksfoliyatif Toksin-B

HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü

IFN- γ : İnterferon Gamma

KNS: Koagulaz Negatif Stafilokok

MDR: Çoklu Antibiyotik Direnci (multiple drug resistance)

MHA: Mueller Hinton Agar

MHB: Mueller Hinton Broth

MRSA: Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*

MSSA: Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus*

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

1. ÖZET

Sağlık Çalışanlarında Nazal Metisilin-Rezistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) Taşıyıcılığının Araştırılması

Stafilokokların önemli enfeksiyon etkenleri oldukları 100 yıldan uzun süredir bilinmektedir. *Staphylococcus* cinsi içerisinde insanlarda enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen tür *S.aureus*' tur. Gerek toplum gerekse hastane kökenli enfeksiyonlarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olurlar.

MRSA, penisilinaz enzimine dirençli tüm penisilinlere, sefalosporinlere, ayrıca klindamisin, eritromisin, tetrasiklin ve aminoglikozidler gibi daha birçok antibiyotiğe dirençli bir *S.aureus* suşudur. MRSA enfeksiyonlarında tedavi seçeneği oldukça sınırlıdır. MRSA enfeksiyonu gelişen hastalarda genellikle taşıyıcılardan bulaş ile enfeksiyon meydana gelmektedir.

MRSA'da, hassas *S.aureus*'tan farklı olarak SCCmec (staphylococcal cassette chromosome mec) olarak isimlendirilen bir direnç adası ve içinde mecA adlı bir gen içermektedir. SCCmec, mec ve ccr gen komplekslerine göre tiplere ve J bölgelerindeki farklılıklara göre alt tiplere ayrılır. Son çalışmalarda 8 tip tanımlanmış olsa da çoğu MRSA suşunun beş SCCmec tipinden (SCCmec tip I, II, III, IV, V) birini taşıdığı ve bunların birbirlerinden genetik içerik ve büyüklük bakımından farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) klonlarının çoğunluğu tip I, II veya III SCCmec taşıırken toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) suşları çoğunlukla tip IV SCCmec taşımaktadır.

S. aureus'un tiplendirilmesi, salgınlara araştırılması, nazokomiyal bulaşın önlenmesi ve aynı zamanda enfeksiyon kontrol önlemlerini desteklemede önemli veriler sunmaktadır.

Bu çalışmada, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Farabi Hastanesi çalışanlarında nazal MRSA taşıyıcılığının araştırılması amaçlandı. Çeşitli klinik ve yaş gruplarındaki toplam 414 sağlık çalışanından alınan nazal sürüntü örneklerinden izole edilen *S.aureus*

suşları içerisinde MRSA olanlar belirlendi ve SCCmec tipleri polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle araştırıldı.

Dört yüz on dört sağlık çalışanından 34'ünde (%8.2) *S. aureus* suşu izole edildi. *S. aureus* taşıyıcılığı; doktorlarda %9.9 (10/101), hemşirelerde % 6.2 (11/176), yardımcı sağlık personelinde ise %9.4 (13/137) olarak bulundu. Otuz dört *S. aureus* suşunun 11'inin MRSA olduğu saptandı. MRSA nazal taşıyıcılığı ise, toplamda % 2.6 olarak saptanırken bu oran doktorlarda %2.9, hemşirelerde %2.2, yardımcı sağlık personelinde ise %2.9 olarak belirlendi. Bu 11 MRSA suşunun 7'si (%63.6) tip IV olarak belirlenirken diğer 4 (%36.3) suş tiplendirilemedi.

Sonuç olarak, sağlık personelinde çoklu ilaç direnci taşımayan ve toplum kökenli SCCmec tipi olan tip IV taşıyan MRSA suşlarının bulunduğu belirlendi.

Anahtar sözcükler: Sağlık çalışanları, MRSA, SCCmec tipleri

2. SUMMARY

Investigation of Nasal Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Carriage in Healthcare Workers

Staphylococci are important infectious agents that have been known for more than 100 years. *S. aureus* is the most frequently isolated species as a human pathogen among *Staphylococcus* genus. It causes both community and hospital acquired infections with significant morbidity and mortality

MRSA is a different strain of *S.aureus* that is resistant to all penicillins including penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins, as well as a lot of antibiotics such as clindamycin, erythromycin, tetracycline, and aminoglycosides. Treatment options for MRSA infections are very limited. MRSA infections generally occur via transmission of bacteria from carriers.

MRSA, unlike sensitive *S.aureus*, harbors a resistance island named SCCmec (staphylococcal cassette chromosome *mec*) and a resistance gene *mecA* inside. SCCmec is divided into types according to *mec* and *ccr* gene complexes and into subtypes according to the differences in the J regions. Although 8 types were defined recently, most of the MRSA strains have one of the five SCCmec types (SCCmec types I, II, III, IV, V). They show differences from each other in terms of genetic content and size. Majority of hospital-acquired MRSA clones (HA-MRSA) carry the SCCmec type I, II or III while most of the community-acquired (CA-MRSA) strains have SCCmec IV.

Important data are provided with typing of MRSA strains for investigation of outbreaks, prevention nosocomial diseases and taking of preventive measures for control of infections.

In this study, investigation the nasal carriage of MRSA among Karadeniz Technical

University (KTU) Farabi Hospital workers is aimed. MRSA strains were identified among *S.aureus* isolates from nasal swab samples from a total of 414 health care workers in different age groups and working in different units. SCCmec types of these strains were determined by polymerase chain reaction method.

S. aureus strains were isolated from 34 (8.2%) of 414 health care workers. *S.aureus*, carriage rates were 9.9% (10/101) among physicians, 6.2% (11/176) for nurses, and 9.4% (13/137) for auxiliary health workers. Eleven strains were identified as MRSA. Rates of nasal MRSA carriage were found as 2.9% for physicians, 2.2% nurses, 2.9% auxiliary health workers, and 2.6% totally. Seven of the 11 MRSA strains (63.6%) were type IV as the other four (36.3%) strains remained untypable.

As a result, it was found that health care workers carried MRSA clones mostly SCCmec type IV that was mainly associated community-acquired MRSA clones and didn't contain multidrug-resistance elements.

Key words: Health care workers, MRSA, SCCmec types

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Stafilokoklar *Micrococcaceae* ailesi içerisinde yer alan, doğada yaygın olarak bulunan Gram pozitif koklardır. Memelilerin deri ve müköz membranlarında normal flora elemanıdır. Genelde bulundukları yerde konakla iyi huylu simbiyotik bir ilişkiye sahiptirler. Ancak deri ve mukozal travma, enjeksiyon ve cerrahi müdahaleler ile dokuya girmesi sonucu patojen olabilirler (1).

Stafilokokların önemli infeksiyon etkenleri oldukları 100 yıldan uzun süredir bilinmektedir. Gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenlerden biri olup önemli morbidite ve mortaliteye neden olurlar (2). 1940’larda penisilinlerin kullanıma girmesiyle stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiş, ancak kısa bir süre sonra penisilinaz üreten kökenlerin ortaya çıkmasıyla direnç problemi başlamış, 1950’li yıllarda penisilin yanı sıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişmiştir. 1960 yılında penisilinaza dirençli olan metisilin kullanıma girmesinin üzerinden on yıl geçmeden Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kökenlerinde “çoklu antibiyotik direnci” (MDR) problemi ortaya çıkmıştır. Direnç probleminin artmasıyla birlikte MRSA tüm dünyada nozokomiyal epidemilere yol açan ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (3). İlk çok dirençli MRSA izolatlarının ortaya çıktığı 1970’li yılların sonlarında bu yana, özellikle son on yılda *Staphylococcus aureus* infeksiyonları arasında metisiline dirençli olanlara bağlı infeksiyonların oranında dramatik bir artış gözlenmiştir. Günümüzde ise, *S. aureus* dünyanın birçok bölgesinde en yaygın nozokomiyal patojen olup CDC (Center for Disease Control and Prevention) raporuna göre 1990-1996 yılları arasında nozokomiyal pnömoni ve cerrahi yara infeksiyonlarının en sık, bakteriyeminin ise ikinci sıklıkta sebebidir (4, 5). Genel olarak tüm stafilokok infeksiyonlarının %46’sı nozokomiyal olup bu infeksiyonların ortalama %29’u MRSA’ya bağlı olarak gelişmektedir (5).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanılan, virulansı yüksek bir mikroorganizmadır. Penisilinin tedaviye girdiği 1945'ten itibaren *S. aureus* suşlarında beta-laktamaza bağlı penisilin direnci 5 yıl içinde %50'ye çıkmıştır. Günümüzde ise bu direnç %95'in üzerindedir (6). *Stafilokoklar* hem immün sistemi sağlam kişilerde, hem de immün yetmezliği olan hastalarda nazokomiyal ve toplumdan edinilmiş enfeksiyonların önemli etkenlerindendir (7, 8). Deri ve yumuşak doku, santral sinir sistemi, akciğer, plevra, kas iskelet sistemi ve üriner sistem enfeksiyonları ile infektif endokardit, bakteriyemi, sepsis yabancı cisim enfeksiyonları gibi birçok enfeksiyonda stafilokokların etiyolojik önemi bilinmektedir (8, 9).

Bazı *S. aureus* suşlarının epidemik karakter taşıdığı ve nazokomiyal epidemilere neden olduğu bilinmektedir (10). Antimikrobiyal tedavi konusunda yıllar içerisinde hızlı gelişmeler olmasına rağmen stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde güçlüklerle karşılaşmaktadır. Hastane epidemilerine yol açması nedeni ile tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır (11).

MRSA suşları sıklıkla hastanelerde artmaya başlamıştır. Bunun sebebi genellikle kolonize veya enfekte hastadan veya sağlık çalışanlarından bulaşın olmasıdır (12). Hastanelerde bir veya iki suşun yayılmasıyla salgınlar meydana gelmekte ve MRSA'lar nozokomiyal patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Son zamanlarda salgınların artmasındaki sıklık, kolonize hastaların büyük oranda artmasına veya farklı MRSA suşlarıyla enfekte olmaya ya da MRSA bulaşmasının nozokomiyal olarak artmasına bağlıdır (13, 14). Nazal MRSA taşıyıcılığı salgın sırasında, çalışan kişilerde %3 ile %7 arasında görülmektedir (15, 16). Nazal taşıyıcılık genellikle bulaşıcıdır. Fakat kişilere bulaşma haftalar veya aylarca sürebilir (17).

Burun ön kısmının MRSA ile kolonize olması toplum kaynaklı (TK) ve hastane kaynaklı (HK) *S. aureus* enfeksiyonları için önemli bir risk faktörüdür (18). MRSA enfeksiyonu gelişen hastalarda genellikle taşıyıcılardan enfeksiyon meydana gelmektedir (19).

Metisilin direncinden sorumlu mekanizmalar başta *mecA* geni varlığına bağlı PBP2a yapımı olmak üzere PBP'lerin beta laktam antibiyotiklere afinitelerinde azalma ve beta laktamazların aşırı yapımıdır. *MecA* geni tüm MRSA suşlarında bulunan mobil bir genetik elemanın parçasıdır (20). Katayama ve ark. *mecA*'nın stafilokokal kaset kromozomu *mec* (*SCCmec*) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçası olduğunu göstermişlerdir (21). *SCCmec*, *mec* ve *ccr* gen komplekslerine göre tiplere ve J bölgelerindeki farklılıklara göre alt tiplere ayrılır (22). PZR yöntemi ile yapılan çalışmalarda birçok MRSA suşunun beş *SCCmec* tipinden (*SCCmec* tip I, II, III, IV, V) birini taşıdığı ve bunların birbirlerinden genetik içerik ve büyüklük bakımından farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (23, 24). Ancak günümüzdeki çeşitli çalışmalarda sekiz tip tanımlanmıştır (25). Hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) klonlarının çoğunluğu tip I, II veya III *SCCmec* taşırken TK-MRSA suşları çoğunlukla tip IV *SCCmec* taşımaktadır (26, 27). Tip V *SCCmec* ilk kez 2004 yılında, Avustralya'da izole edilmiş TK-MRSA suşunda tanımlanmıştır (WIS suşu). Tip V *SCCmec*, 28 kb'lık küçük bir element olup *mecA* dışında direnç geni taşımamaktadır. Ancak diğer *SCCmec* tiplerinden farklı olarak elementin kromozomda stabilizasyonunu sağladığı düşünülen birtakım yabancı genler içermektedir (24). *SCCmec* tip I, II ve III β -laktam antibiyotikler dışında direnç genleri de taşırken tip IV sadece β -laktam direnci taşımaktadır (27). *SCCmec* tip II MRSA infeksiyonlarında mortalite daha yüksek olurken *SCCmec* type IV metastatik hastalık ile ilişkilendirilmektedir (28)

Tip I SCCmec, sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip I *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. 1961 yılında izole edilen en eski MRSA suşunda bulunmuştur. Tip I SCCmec'in J bölgesi bir yüzey proteinini kodlayan *pls* genini içermektedir. Bu gen fibronektine bakteriyel aderans etkilemektedir. Bu fonksiyon *S. aureus* enfeksiyonunun başlamasında önemlidir. Tip I SCCmec, *mecA* haricinde herhangi bir antibiyotik direnç geni taşımamaktadır. Tip II SCCmec, sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip II *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. Tip III SCCmec, sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip III *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. SCCmec tip II ve III MRSA suşlarının önemli bir özelliği, çoklu ilaç direncine yol açmaları ve özellikle hastane ortamında sık bulunmalarıdır. Tip II ve III SCCmec kaset gen tipleri, direnç genlerinin bulunduğu geni J (J1, J2, ve J3) bölgelerine sahiptirler. Bu tipler taşıdıkları direnç genleri sayesinde aminoglikozidler, makrolidler, tetrasiklin gibi çeşitli antibiyotiklere ve kadmiyum, civa gibi ağır metallerle karşı dirençli hale gelirler. Tip IV SCCmec, sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip II *ccr* gen kompleksi içermektedir. Tip IVa ve IVb, *mecA* geni dışında herhangi bir direnç geni taşımamaktadır, zira J1 bölgesi diğer SCCmec tiplerine göre oldukça küçüktür, J2 bölgesi ise bulunmamaktadır (29, 30, 31, 32). *S. aureus*'un tiplendirilmesi ile salgınların araştırılması, nazokomiyal bulaşın önlenmesi ve aynı zamanda enfeksiyon kontrol önlemlerini desteklemede önemli veriler sunmaktadır.

Bu araştırmanın amacı, KTÜ Farabi Hastanesi sağlık çalışanlarında nazal MRSA taşıyıcılığı prevalansını ortaya çıkarmak; MRSA saptandığı takdirde bunların SCCmec tiplerini belirlemektir. Hastanemizdeki MRSA kökenlerinin ve bunların SCCmec tiplerinin belirlenmesi ile hastane enfeksiyonlarından sorumlu olası MRSA suşları tanımlanmış olacaktır. Sağlık çalışanlarında taşınan MRSA'nın toplum veya hastane kökenli olduğu ortaya konacaktır. Bu veriler salgınların araştırılması, nazokomiyal bulaşın önlenmesi ve aynı zamanda enfeksiyon kontrol önlemlerini destekleyecek veri tabanı oluşturacaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Stafilokoklar

Staphylococcus cinsi bakteriler *Planococcus*, *Stomatococcus* ve *Micrococcus* cinsleri ile birlikte *Micrococcaceae* ailesi içinde yer almaktadır. *Staphylococcus* cinsinde yer alan türler belirgin insan patojenleridir ve yüzeysel cilt enfeksiyonlarından, hayatı tehdit eden sistemik enfeksiyonlara kadar değişen, çok geniş bir hastalık spektrumuna sahiptirler (33, 34).

‘Staphyle’ sözcüğü eski Yunanca’da üzüm salkımı anlamına gelmekte olup, bu bakterilerin üremeleri esnasında birbirinden ayrılmayıp üzüm salkımına benzeyen düzensiz kümeler oluşturmaları üzerine önerilmiş ve kabul görmüştür (35).

Çevrede çok yaygın bulunan ve ilk olarak 1881 yılında İskoç cerrah Alexander Ogston tarafından tanımlanan stafilokoklar, o dönemde çok ağır seyreden, tedavisi güç, ölümcül enfeksiyonlara neden olmaktaydı (2). Örneklerden izolasyonu ve tür düzeyinde isimlendirilmeleri Rosenbach tarafından 1884 yılında yapılmıştır (35). Stafilokoklar intestinal sistem, genito-üriner sistem, ağız ve üst solunum yollarının normal florasında bulunan etkenlerdir (36). Diğer kolonizasyon yerleri; perine, aksilla ve vajendir. Koagulaz negatif stafilokoklar (KNS) normal deri florasında yaygın olarak bulunurlar (37, 38).

Stafilokoklar Gram pozitif, 0,5 – 1,5 µm çapında, yuvarlak, çoğu zaman düzensiz kümeler, bazen de dörtlü ve kısa zincirler şeklinde görülen, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob mikroorganizmalardır (39, 40). Hem aerob hem aneorop ortamda, kanlı agarda ve diğer selektif olmayan besi yerlerinde hızla ürerler. Çoğu kanlı agarda hemoliz yapar. Yirmi dört saat içinde 1–3 µm çapında, yuvarlak, düzgün, hafif konveks koloniler yaparlar (36, 37, 38).

Tüm stafilokoklar katalaz enzimi üretirler ve bu özellikleri ile streptokoklar'dan kolayca ayrılırlar. Bazıları %10 NaCl içeren ortamlarda üreyebilir. Başta glukoz olmak üzere birçok karbonhidratı fermente ederler ve son ürün olarak laktik asit oluşturur, ancak gaz oluşturmazlar. Stafilokoklar, pigment üretmeyen bazı türlerin yanında, gliserol monofosfat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerlerinde 37°C de ve aerob ortamda ürediklerinde, ortamdaki karatenoidlerden dolayı pigment oluştururlar (41, 42).

Stafilokoklar birçok türe ayrılmaktadır ve bunlardan insanda patojen olan stafilokok türleri; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. pasteurii*, *S. cohnii*, *S. caprae*, *S. haemolyticus*, *S. xylosum*, *S. saccharolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. simulans*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. schleiferi*, *S. hominis*, *S. auricularis*, *S. warneri*'dir. Klinik olarak en önemli etkenler; *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'tur (7, 36, 38, 43, 44).

4.2. *Staphylococcus aureus*

4.2.1. Fizyolojisi

Staphylococcus aureus türleri doğada yaygın bulunan 0,5-1,5 mm çapında, üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan, Gram pozitif, fakültatif anaerob koklardır. Hareketsizdirler ve spor oluşturmazlar. Katı besiyerlerinde S tipi koloni oluştururlar.

Enterotoksinler, toksik şok sendromu toksin-1 (TŞST-1), eksfoliyatif toksin, lökositin, koagülaz, fibrinolizin, hiyalüronidaz, çeşitli proteazlar, nükleazlar ve lipazlar gibi çok sayıda toksin ve enzim sentezlerler. *S. aureus*, aerobik ve anaerobik şartlarda selektif olmayan kanlı agar, nutrient agar, tryptic soy agar, brain heart infusion agarda ürer. *S. aureus* adi jeloz besiyerinde ürese de, %5'lik koyun kanlı agarda, 37°C'de ve pH 7,4'te daha iyi ürer ve kolonilerin etrafında tam bir hemoliz alan görülür. *S. aureus* mannitolu parçalarken, diğerlerinin bu şekere karşı etkileri değişkendir. Bu nedenle Mannitol Tuz Agar (MTA), *S. aureus* izolasyonu için selektif besiyeri olarak kullanılmaktadır (42). Yuvarlak ve düzgün kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler oluşturur. *S. aureus* ayrıca altın sarısı rengine

pigment oluşturur. Kolonilere altın sarısı rengini veren karotenoid pigmentleridir. *S. aureus* ısıya ve kuruluğa karşı dayanıklıdır.

Antibiyotiklere karşı da diğer birçok bakteriye göre daha dirençli oldukları gibi, genel olarak kemoterapötiklere karşı süratle direnç geliştirirler (1, 41, 42).

Pigment oluşumu, oda ısısında ve güneş ışığında ikinci bir 24 - 48 saat daha fazla inkubasyonda artırılabilir. Çoğu *S. aureus* suşu 24–36 saatlik inkubasyon sonucunda içinde at, koyun ve insan kanı bulunan agar besiyerinde hemoliz oluşturur. Kapsül oluşturdıklarında, mikroorganizma mukoid yapışkan koloniler şeklinde görülür (39, 45, 46).

4.2.2. Biyokimyasal özellikleri

Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı parçalarlar. Son ürün laktik asittir (41, 42). Nitratı indirgerler. Üreaz (zayıf), katalaz ve koagulaz pozitif, sitokromları olmasına rağmen genellikle oksidaz negatiftir. %10'luk NaCl'lü ortamda ürer ve Chapman besiyerinde (tuz katılmış) izolasyon oranı yüksektir. Novobiyosin ve lizostafine duyarlı, lizozime dirençlidirler (47).

Glikozu Embden Myerhoff glikolitik yolu ile ya da heksomonofosfat glikolitik yolu ile piruvata metabolize ederler. Laktoz, sukroz, trehaloz, D-maltoz ve D-mannitol'ü fermente ederler. Arabinoz, sellobioz, inositol, rafinoz'dan asit oluşturmazlar. Nişasta ve eskulini hidroliz etmezler. Hipürat ve arjinini hidroliz ederler. Nitratları nitritlere indirgerler. Metil Red (MR) testi genellikle pozitif olup Voges-Proskauer (VP) testi değişkendir. İndol ve H₂S oluşturmazlar. Aerobik üremeleri için aminoasitlere ve vitaminlere, anaerobik üremeleri için ise urasil ve fermente olabilen karbon kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Ayrıca %40 safra bulunan ortamda da üreyebilirler (48).

Fenol ve derivatları, salisilanilidler, karbonilidler, halojenler (klor ve iyot), kloraminler ve iodoformlar gibi derivatlara duyarlıdırlar. Proteaz, lipaz ve esteraz enzimleri vardır. Üreyebilmek için aminoasit, adenin ve tiamine de ihtiyaç duyarlar. Anareob şartlarda inkübe edilen bakteriler ilave olarak urasil ve piruvata da ihtiyaç duyarlar (49).

Koagülaz testinde plazmayı pıhtılaştırması nedeniyle *S. aureus* diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yaygın olarak kullanılan, en çok önem taşıyan ve genel olarak kabul gören identifikasyon kriteridir. Stafilokokların besiyerine saldıkları serbest koagulazın araştırıldığı tüp testi ve kümeleştirme faktörü olarak da bilinen bağlı koagulazın olduğu lam testi yöntemleri ile *S. aureus* diğer stafilokoklardan ayırt edilir (50).

4.2.3. Yapısı

4.2.3.1. Hücre Duvarı

Stafilokokal hücre duvarı ağırlığının %50'sini peptidoglikan oluşturur. Peptidoglikan β -1,4 bağlarıyla bağlanmış N-asetil glukozamin ve N-asetil muramik asit subünitelerinden oluşturur. Peptidoglikan; endotoksin benzeri aktivite, makrofajlardan sitokin salınımının uyarılması, kompleman aktivasyonu ve trombosit agregasyonu etkilerine sahiptir. Peptidoglikana kovalent bağlanmış ribitol teikoik asit, hücre duvarının ana yapısını oluşturur. Gliserol fosfat polimeri olan lipoteikoik asit ise sitoplazmik membrandaki glikolipid uca bağlanır (51).

Çoğu *S. aureus* suşlarında protein A bulunur. Hücre duvarında bulunan ve gruba özel bir antijen olarak tanımlanır. Bu yapı peptidoglikan tabakasının en dışında yer alır. Protein A, kümeleştirici (clumping) faktör A ve B, kollajen bağlayıcı protein, fibronektin bağlayıcı protein A ve B, plazmin duyarlı protein, serin (aspartat) tekrarlayıcı protein, *S. aureus* yüzey protein A (K) konakçı proteinlerine adheransta rol oynayan yüzey proteinleridir. Hepsi MSCRAMM (microbial surface component reacting with adherence matrix molecules) olarak adlandırılır. Bu proteinler stafilokokların konak dokusunda kolonize olmasında en önemli faktörlerdir. Protein A

bazı immunglobulinlerin (IgG₁, IgG₂, IgG₄) Fc reseptörleri ile birleşmekte ve antifagositer ve antikomplementer etkinlik gösterebilmektedir. Stafilocok protein A'nın koagulaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon göstermesi, antifagositik etkiye sebep olması ve antibiyotik duyarlılığını azaltması gibi özellikleri patojenite kriteri olacağına işaret etmektedir (20, 52).

4.2.3.2. Kapsül

Bazı *S.aureus* kökenlerinde hücre duvarının etrafında bakteriyi fagositozdan koruyan polisakkarit yapıda bir mikrokapsül bulunur. Bakterinin kapsül antijenlerine göre günümüze kadar tanımlanan 11 serotipi vardır ve bu serotipler içinde özellikle tip 5 ve 8 insan infeksiyonlarının %75'inden sorumludur. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) kökenlerin çoğu tip 5 ve 8'e aittir. Her iki tip, özellikle tip 8, toksik şok sendromuna neden olan virulans faktörleri ile ilgilidir (52).

4.2.3.3. Antijenik Yapısı

S. aureus karmaşık bir antijenik yapıya sahiptir ve 32'den fazla antijeni saptanmıştır. Bunlardan en önemli antijenik determinantlar; teikoik asit, protein A, peptidoglikan, kümeleştirme faktörü ve kapsüller polisakkarittir (45).

4.2.3.4. Genom

Stafilokokların genomu yaklaşık 2.8 milyon baz çifti içeren sirküler bir kromozom ile profajlar, plazmidler ve transpozonlardan oluşur. *S.aureus* genomunun guanin + sitozin (G+C) içeriği yaklaşık %32'dir. Bakterinin virülansından ve direncinden sorumlu olan genlerin diğer *S.aureus* kökenlerine, başka stafilocok türlerine ve farklı cins Gram-pozitif bakterilere en sık aktarılma yolu transdüksiyondur (20).

4.2.4. Epidemiyoloji

S. aureus, başta burun ve deri olmak üzere perine, aksilla, nazofarinks, vajen ve rektumda kolonize olmakta, taşıyıcılık oranları yetişkinlerde %20-40'ı bulabilmektedir. Hem çocuklarda hem de yetişkinlerde, kolonizasyonun en sık görüldüğü yer burun bölgesidir. Taşıyıcılık durumu klinik açıdan büyük önem taşır, fakat *S. aureus* kolonizasyon bölgesinden farklı bölgelere yayılarak endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilir. Örneğin, burun taşıyıcılarında cildin *S. aureus* ile kontamine olması, cerrahi uygulama ya da cilt bütünlüğünün herhangi bir nedenle bozulması durumunda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir (53).

Taşıyıcılığının en sık olduğu bölge burundur (2, 39, 54, 55). Nazal taşıyıcılık *S.aureus*'un toplumda yayılmasında önemli bir faktördür (2, 13, 39). Burunda *S. aureus* taşıyıcılığı prevalansı, çalışılan popülasyona göre değişkenlik gösterebilmektedir. Taşıyıcılık oranları yaş, ırk, cinsiyet, antibiyotik kullanımı, hastanede yatış öyküsü, altta yatan hastalıkların varlığı (diyabet, hemodiyaliz hastalar , vb.), nazogastrik tüp ve kateter mevcudiyeti, hijyenik alışkanlıklar ve giyim tarzı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Sağlık personeli doktorlar, hemşireler, hasta bakıcılar, vb.) intravenöz ilaç kullananlar, uyuşturucu madde bağımlıları, dermatolojik hastalığı olanlar (ekzama gibi) ve HIV pozitif hastalarda taşıyıcılık oranları genel popülasyona göre daha yüksek bulunmaktadır. Ayrıca, taşıyıcı kişilerin aile bireylerinde de taşıyıcılık daha yaygın görülmektedir (19, 56, 57, 58). Taşıyıcılık beyaz ırkta, erkeklerde ve yaşlılarda daha yaygındır. Erişkin kadınlarda vajinal taşıyıcılık oranı diğer yaş gruplarına göre artış göstermektedir (59, 60).

İki tip *S. aureus* taşıyıcılığı görülebilir: Sağlıklı bireylerin %10-35'i persistan taşıyıcıdır ve bu suşu her zaman taşırlar. İntermittan taşıyıcılık oranı ise %20-75'dir. Persistan taşıyıcılarda bakteri yükü daha fazladır ve bu yüzden persistan taşıyıcılıkta enfeksiyon gelişme riski daha yüksektir. Persistan taşıyıcılık çocuklarda erişkinlere oranla daha fazladır ve çoğu kişide 10-20 yaşlar arasında intermittan taşıyıcılığa dönüşür (61, 62). Günümüzde, sağlıklı bireylerin % 25-35'i deri ya da mukoza üzerinde *S. aureus* taşıdığı tahmin edilmektedir (56). Günümüzde, dünya çapında 2 milyardan fazla birey *S.aureus* taşıyıcısı iken, Hollanda ve ABD'de yapılan tahminlere

göre bu ülkelerin sırasıyla 2 ve 53 milyon bireyinin MRSA taşıyıcısı olduğu tahmin ediliyor (63).

S. aureus hastane kökenli enfeksiyonların en sık nedenidir (64). *S.aureus*' un mortalitesi ve kan yolu enfeksiyonlarındaki kalma süresinin değerlendirildiği kohort çalışmalar, *S. aureus*'un invaziv enfeksiyonlarının ve direncinin klinik öneme sahip olduğunu göstermektedir (65).

Nazal MRSA taşıyıcılarındaki enfeksiyon gelişme riski diğer metisilin sensitif *S. aureus* (MSSA) taşıyıcılarına oranla 4 kat daha fazladır (39, 51).

Nazal *S. aureus* taşıyıcılığı hem otoenfeksiyona predispozisyon oluşturur, hem de mikroorganizmanın ortama yayılmasına neden olur (54). *S. aureus*'un hava yolu ile yayılımı, yanık ünitelerinde önemli bir geçiş yoludur. Su ve sabunla yapılan el yıkama, *S. aureus*'u elden uzaklaştırma ve yayılımı önlemede büyük önem taşır (13, 66, 67, 68).

Eş zamanlı burun ve el taşıyıcılığı saptanan kişilerde, eldeki *S. aureus* suşu çoğu zaman burundaki ile aynı olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (66). Nazal *S.aureus* taşıyıcılığı gerek toplum kaynaklı, gerekse hastane kaynaklı stafilokokal enfeksiyonların oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Birçok hastanede endemik hale gelmiş olan MRSA için kaynak genelde kolonize veya infekte olan hasta ya da sağlık çalışanları olmaktadır (69).

4.2.4.1. Sağlık Çalışanlarında S.aureus Taşıyıcılığı

S. aureus taşıyıcılığı ile meslek grupları arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Sağlık kurumlarında çalışan sağlık personelinde *S. aureus* taşıyıcılığı, diğer meslek gruplarında çalışanlara göre daha yüksek oranlarda bildirilmektedir. Taşıyıcı sağlık personelinin *S. aureus*'un hastane içi yayılımında ve salgınlardaki rolü pek çok çalışmada ortaya konmuştur (70, 71, 72, 73). Örneğin doktorlar %50, hemşireler %70 ve hastane koğu görevlileri %90 sıklıkla olmak üzere, %33 olan genel popülasyon taşıyıcılık oranlarına göre, daha yüksek nazofarengeal taşıyıcılık oranlarına sahiptirler. İnsülin kullanan diyabetik hastalar, kronik hemodiyaliz hastaları, çeşitli dermatolojik

bozuklukları olan hastalar, yasadışı intravenöz ilaç kullanıcıları ve HIV pozitif hastalar genel popülasyona göre daha yüksek taşıyıcılık oranlarına sahiptir. Taşıyıcılar nazal bölgeden organizmayı ciltlerine transfer ederler. Travma organizma için giriş kapısı oluşturur, bunu lokal ve bazen jeneralize enfeksiyon izler. Bu örnekte organizma endojen orijinlidir, başka vakalarda hastane personeli veya bir aile üyesinden geçebilir (39, 74).

S. aureus, başta burun ve deri olmak üzere perine, aksilla, nazofarinks, vajen ve rektumda kolonize olmakta, taşıyıcılık oranları yetişkinlerde %20-40'ı bulabilmektedir. (52). Fakat taşıyıcılığının en sık olduğu bölge burundur (38, 53, 54).

S. aureus, hastane ortamında yoğun olarak bulunabilmekte ve hastane personeline kolonize olarak vücudun çeşitli bölgelerinde taşınabilmektedir. Bu ise, mikroorganizmanın hem vücudun başka bölgelerine, hem de eller aracılığıyla hastalar arasında yayılmasına ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (2, 39, 70, 75). Ayrıca hastane personeli ve hastalardaki asemptomatik taşıyıcılık, epidemilerin başlamasına neden olan temel rezervuardır. Kontamine materyal (sonda, aspirator vb.) ve yüzeyler, ellerin kontaminasyonu açısından büyük önem taşımaktadır (76).

Çocukların ve yetişkinlerin %25 kadarı taşıyıcı olurlar. Herhangi bir zamanda yetişkinlerdeki nazal taşıyıcılık oranının, mevsimsel ve lokal epidemiyolojik faktörlere bağlı olarak, %20 ile %40 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Yaklaşık olarak nüfusun %20'si sürekli olarak, %60'ı ise geçici olarak *S. aureus* ile kolonize olur, %20'si ise hiç kolonize olmaz. Kadın popülasyonda toksik şok sendromu insidansı nedeniyle erişkin premenopozal kadınlarda vajinal taşıyıcılık oranları araştırılmıştır. Bildirilen değerler menstrüel dönemde artış göstermekle beraber %10'a yakındır (74, 77).

4.2.5. Patogenez

S. aureus enfeksiyonlarının patogenezinde yüzey proteinleri, kapsüler polisakkaritler, sitotoksinler, süperantijenler ve enzimler gibi çok sayıda faktör rol oynar. Spesifik stafilokoksik yüzey proteinleri, fibronektinin ‘‘arginin-glisin-aspartat’’ dizinine bağlanır (1).

S. aureus’un konak dokusuna adezyonunda fibronektin, fibrinojen, vitronektin, laminin ve kollajen olmak üzere beş protein rol oynar. Fibronektin hem dokularda hem de kanda bulunan bir glikoproteindir. İnvaziv *Staphylococcus* türlerinin diğer türlere göre, fibronektine daha fazla bağlandığı bildirilmektedir. Trombositlerden salgılanan trombospondin de *S. aureus*’un adezyonunda rol oynar. Adezyondan sonra mikroorganizma mukozal veya epiteliyal yüzeylere penetre olarak konağa invaze olur. Kemotaksis, opsonizasyon ve fagositozun bağlamasından sonra intrasellüler stafilokoklar çok çekirdekli lökositler tarafından hızla öldürülürler. Yabancı cisim enfeksiyonlarında ise yabancı cismin konağın plazma ve matriks proteinleriyle kaplanması ve bakterinin bunlara yapışması enfeksiyonun ortaya çıkmasına yol açar (33, 78).

S. aureus’un virulans faktörleri bir veya birden çok gen tarafından kontrol edilmektedir. Koagülaz, hemolizinler, deoksiribonükleaz (DNaz), hyaluronidaz, fosfataz ve Protein A virulansla ilgili bulunmuştur. Adezinler, kolonizasyonda rol oynarlar. Stafilokinaz ve diğer ekstrasellüler enzimler (proteaz, lipaz, kollajenaz, elastaz); koagülaz, lökosidin ve kapsül yapısı fagositoza karşı direnci sağlamada etkilidir. Hayvanlarda uygulanan deneysel sepsis modelinde kapsül polisakkariti tip 5 ve tip 8’e karşı geliştirilen antikorların koruyucu etkisi gösterilmiştir ve tip 5 ve tip 8 kapsüler polisakkarite karşı geliştirilmiş konjuge aşının hemodiyaliz uygulanan hastalarda faydalı olduğu ortaya konulmuştur (1, 33, 42).

4.2.6. Enzimler

Stafilokoklar lipaz, hyaluronidaz, fibrinolizin, penisilinaz, katalaz, koagülaz ve DNaz gibi özellikle komşu dokulara yayılımı kolaylaştırarak virulansta rol oynayan enzimler üretirler. Katalaz, koagülaz, DNaz enzim üretim özellikleri identifikasyonda da kullanılmaktadır (50).

4.2.6.1. Katalaz

Tüm stafilokok türleri toksik hidrojen peroksidi (H_2O_2) toksik olmayan oksijen ve suya ayırtıran katalaz enzimi üretirler (79). Fagositlerin solunum siklusları için gerekli olan H_2O_2 'yi inaktive ederek bakterisidal etkilerini ortadan kaldırır. Böylece, fagosit edilen bakteriler yaşamlarını sürdürebilirler (79).

4.2.6.2. Koagülaz

Koagülaz ısıya dirençli, filtrelerden geçebilen bir enzimdir. Patojen stafilokoklar girdikleri organizmada sentezledikleri koagülaz enzimi sayesinde bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal serumun bakterisid etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olurlar. Bu nedenle koagülaz pozitif izolatlar patojen olarak kabul edilirler (80). *S. aureus* suşları bağlı koagülaz (clumping factor = kümeleştirici faktör) ve serbest koagülaz olmak üzere iki tip koagülaz enzimi üretir. Serbest ve bağlı koagülazın ayrı antijenik yapıda oldukları ve farklı enzimatik mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırdıkları bilinmektedir (81).

Lam ve tüp olmak üzere iki farklı yöntemle koagülaz varlığı saptanır. Lam deneyi ile stafilokokların yüzeylerinde bağlı halde bulunan koagülaz saptanmaktadır. Çoğu *S. aureus* suşlarında bağlı koagülaz pozitifdir. Lam koagülaz deneyi negatif olan suşlara mutlaka tüp koagülaz testi yapılmalıdır. Çünkü bağlı koagülaz üretmeyen suşlar serbest koagülaz üretebilmekte ve tüp koagülaz testi ile bu serbest koagülaz saptanabilmektedir (82).

4.2.6.3. Hiyaluronidaz

S. aureus suşlarının %90'ı hiyaluronidaz üretir. Bu enzim bağdokusunun matriksinde bulunan mukopolisakkarid yapısındaki hiyaluronik asitleri hidrolize eder ve mikroorganizmanın kolayca yayılmasını sağlar (33, 83, 84).

4.2.6.4. Fibrinolizin

Stafilokinaz adıda verilen bu enzim tüm *S. aureus* suşları tarafından oluşturulur ve fibrin pıhtılarını çözer. Fibrin kılıflarının yıkımı enfeksiyonun dokularda daha kolay yayılmasına yol açar. Stafilokoklar tarafından salınan kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni aktive ederek plazmin oluşturur. Fibrinolitik etki bu madde aracılığı ile oluşur. Stafilokinaz *sak* geni tarafından kodlanır. Enzimin üretimi bazı suşlarda bir faj genomunun kontrolü altındayken, diğer suşlarda kromozomal genler tarafından kontrol edilir. Stafilokinaz ayrıca IgG'yi ve kompleman C3b bileşenini parçalayarak bakteriyi fagositoza karşı korur (85).

4.2.6.5. Lipaz

Tüm *S. aureus* suşları ve KNS'lerin %30'undan fazlası çeşitli lipazlar oluşturur. Bu enzimler stafilokokların vücudun sebase bölgelerinde yaşayabilmeleri için gereklidir ve lipidleri hidrolize ederek stafilokokların cilt ve cilt altı dokularda yayılmasını kolaylaştırır. Ayrıca yüzeysel cilt enfeksiyonlarının gelişmesinde önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (86).

4.2.6.6. DNaz

DNaz ve ısıya dayanıklı stafilokoksik nükleaz (Thermonuclease [TNase]), endo ve ekzo nükleolitik aktivite gösteren enzimler olarak sentezlenir. Her ikisi de DNA ve RNA'yı nükleotidlere parçalar. DNaz *S. aureus*'ların %90'dan fazlasında bulunan, hücre dışı bir enzimdir. Bu nedenle DNaz testi, laboratuvarında *S. aureus* suşlarının ayırıcı tanısında kullanılabilir. *S. aureus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius* ve *S. hyicus* suşlarının çoğu DNaz oluştururken, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. carnosus* çok zayıf

DNaz aktivitesine sahiptirler (1, 42).

4.2.6.7. Beta Laktamaz

Bu enzimi sentezleyen suşlar, özellikle penisilin ve sefalosporinler gibi beta laktam halkası bulunan hücre duvar inhibitörlerine karşı dirençlidirler. Bu suşlarda aynı zamanda eritromisin ve tetrasiklin gibi çok sayıda antibakteriyel ajanlara karşı direnç de sık görülür. Bu enzimler plazmid kontrolünde sentezlendiklerinden dolayı, konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla bakteriler arasında yayılım oldukça yaygındır (41).

4.2.7. Toksinler

S. aureus çok sayıda virulans faktörüne sahiptir. En azından 5 sitolitik toksin (alfa-, beta-, gamma-, delta-toksin ve lökosidin), eksfoliyatif toksin, toksik şok sendromu toksini-1 ve 5 farklı enterotoksin bulunur. Sitolitik toksinler, hemolizinler olarak da tanımlanmıştır, fakat ilk dört toksinin aktivitesi eritrositlerle sınırlı değildir, ayrıca lökosidin eritrositler üzerine etki etmemektedir (1, 42).

4.2.7.1. Alfa Toksin

Alfa toksin (α -hemolizin), 33 kDa moleküler ağırlığında bir ekzotoksindir. Etki mekanizması tam bilinmemekle birlikte, hücre membranlarının bütünlüğünü bozduğu düşünülmektedir. Bu toksin eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploid fibroblastlar, HeLa hücreleri ve ‘‘Ehrlich ascites’’ karsinoma hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri için sitotoksik özellik gösterir. Aynı zamanda kan damarlarındaki düz kasları harab eder. Alfa toksin, genetik olarak hem bakteriyel kromozomda hem de bir plazmidde kodlanır (1, 42).

4.2.7.2. Beta Toksin

β -hemolizin veya sfingomiyelinaz C olarak da isimlendirilen bu toksin, 35 kDa moleköl ağırlığına sahip, ısıya duyarlı bir proteindir. Eritrosit, lökosit, makrofaj ve fibroblastlar dahil birçok hücre için toksik özellik gösterir. Beta toksin ve alfa toksinin beraberce, stafilokoksik hastalıklarda karakteristik olan doku yıkımı ve abse oluşumundan sorumlu olduğu düşünülmektedir (1, 42).

4.2.7.3. Gamma Toksin

Gama toksin (γ -hemolizin), moleküler ağırlıkları 32 ile 35 kDa arasında değişen üç ayrı proteinden oluşmaktadır. Bu proteinlerden birisi, moleköl ağırlığı 32 ve 34 kDa olan Panton-Valentine leukocidin (PVL) proteinleriyle birleşerek, PVL toksinini oluşturur. İnsan, koyun, tavşan gibi farklı türlerin eritrositlerini ve ayrıca insan lenfoblastik hücrelerini parçalayabilme yeteneğine sahiptir. Belirgin hemolitik aktivitesi olmasına rağmen etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir (1, 42).

4.2.7.4. Delta Toksin

Delta toksin (δ -hemolizin), moleköl ağırlığı 3 kDa olan termostabil bir proteindir. *S. aureus* suşlarının %97'si ve KNS'ların %50-70'i bu enzimi sentezler. Geniş bir sitolitik aktivite spektrumuna sahiptir. Hücre membranın deterjan benzeri bir etkiyle parçaladığı düşünülmektedir. Aynı zamanda adenilat siklazı aktive ederek siklik adenozin monofosfat (cAMP) salınımına neden olur. Bu enzimatik aktivite stafilokoksik toksik şok sendromunda ve stafilokoksik besin zehirlenmelerinde görülen ishalin patogeneğinde rol oynar (1, 42).

4.2.7.5. Lökositin

S. aureus tarafından salgılanan toksin sadece granülosit ve makrofajların üzerinde litik etkiye sahiptir. Elektroforetik olarak birbirinden ayrılan F (Fast) ve S (Slow) olmak üzere iki bileşenden oluşmuştur. Bu bileşenlerden her biri iyi antijenik özelliğe sahiptir ve toksoid oluştururlar. Bileşenlerden hiçbirisi tek başına lökosit

membranında toksik etkiye neden olmaz. Ancak iki molekülün kombinasyonu hücre membranında yapısal değişikliğe, por oluşumuna ve özellikle potasyum ve diğer katyonlara karşı permeabilite artışına yol açarak degranülasyona neden olur. Lökositin üreten bakteriler fagositoza karşı artmış bir direnç gösterirler. *S. aureus* un PVL, γ -hemolizin, LukE ve LukD gibi toksinleri konak hücre zarı üzerinde sinerjik etki gösterirler. Bu toksinlere sinergohimenotropik toksinler denir. In vitro ve in vivo şartlarda tek doz enjeksiyonla geriye dönüşümlü lökopeni oluşur ve 60 dakika içinde membranlara hasar verici etki mikroskopik olarak görülebilir hale gelir (41, 73, 87).

4.2.7.6. Eksfoliyatif (Epidermolitik) Toksin

Stafilokokal haşlanmış deri sendromuna sebep olan, major veziküler ve eksfoliyatif dermatolojik lezyonlara da neden olan toksindir (2, 37, 39).

4.2.7.7. Toksik Şok Sendromu Toksini (TŞST-1)

Toksik şok sendromu (TŞS); ateş, hipotansiyon, döküntüler ve çok sayıda organ tutulumu ile karakterize, TŞST-1'in yol açtığı bir hastalıktır. TŞST-1 *tet* geni tarafından kodlanır ve TŞS'nin yanısıra, stafilokoksik kızıl hastalığından da sorumludur. Daha önceleri pirojenik ekzotoksin C ve enterotoksin F olarak da isimlendirilen TŞST-1, birçok *S. aureus* suşları tarafından salınan bir ekzotoksindir. TŞST-1, 22 kDa'luk molekül ağırlığına sahip bir süperantijendir. T lenfosit proliferasyonu ve monositlerden IL-1 salımlarını uyarır. Isıya ve proteolitik enzimlere karşı dirençlidir. TŞST-1'in *S. aureus* dışındaki türlerde varlığı halen tartışma konusudur. Ancak, KNS'ların ve A grubu streptokokların da TŞS'una yol açabildikleri bilinmektedir (43, 84, 87).

4.2.7.8. Enterotoksinler

S. aureus suşlarının yaklaşık üçte biri çeşitli enterotoksinler üretir. Enterotoksinler düşük molekül ağırlığına sahip (26-34 kDa), basit zincir şeklinde, ısıya dirençli proteinlerdir. Gastrointestinal enzimler tarafından hidrolize karşı dirençlidirler ve 100 °C'de 30 dk ısıya dayanabilirler. Bu nedenle enterotoksin üreten stafilokoklar besin ürünlerini kontamine eder ve toksinlerini salgılayarak, yiyeceğin yeniden ısıtılması

koruyucu olmaz (43).

4.2.8.Yaptığı Hastalıklar

S.aureus üç major mekanizma vasıtası ile hastalığa yol açar; ürettiği ekzoenzimlerin direkt doku hasarına yol açması; ekzotoksinlerin dolaşıma girerek intoksikasyon semptomlarına yol açması; süperantijenlerin eksresyonu ile T hücre aktivasyonu ve sitokin salınımı ile multisistem tutulumu. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar; toksinlere bağlı ortaya çıkan enfeksiyonlar, toksik şok sendromu, haşlanmış deri sendromu, besin zehirlenmesi, invazyon ve sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlar, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, follikulit, impetigo, fronkül, karbonkül, supuratif hidradenit, mastit, yara enfeksiyonları, sellulit, lenfanjit, bakteriyemi, endokardit, perikardit, santral sinir sistemi enfeksiyonları, menenjit, subdural ampiyem, beyin apsesi, epidural apse, supuratif intrakraniyal flebit, akciğer ve plevra enfeksiyonları, pnomoni, akciğer apsesi, plevral ampiyem, kas ve iskelet sistemi enfeksiyonları, septik artrit, septik bursit, protez eklem enfeksiyonları, osteomyelit, piyomiyozit, üriner sistem enfeksiyonları, yabancı cisim enfeksiyonlarıdır (62, 73).

4.2.8.1. Deri Enfeksiyonları

İnsanlarda görülen en sık enfeksiyon tipidir. Kıl folikülü enfeksiyonunun (folikülit) deri altı dokuya yayılmasıyla fronkül ve karbonkül oluşur. *S. aureus* ile ilişkili bütün lokalize, primer cilt enfeksiyonları yumuşak dokulara hızla yayılabilir ve selülit, lenfanjit ve nekrotizan fasiit meydana getirebilir. Puerperal dönemin genellikle ikinci ve ya üçüncü haftasında olan emziren kadınların %1-3'ünde *S. aureus* ile ilişkili mastit gelişebilir. Cerrahi yara enfeksiyonları, ameliyattan iki gün veya daha sonra insizyon bölgesinde ödem, eritem ve ağrı gelişmesiyle karakterizedir (62, 73).

4.2.8.2. Kemik ve Eklem Enfeksiyonları

Stafilokoklar yetişkinlerde kemik ve eklem dokusuna en sık travma ve ya penetran yaralar sonucunda direk inokülasyonla ulaşırlar. Çocuklarda daha sık olmak üzere, hematogen yayılım komplikasyonu olarak da osteomyelit veya septik artrit ortaya

çıkabilir; bu da sıklıkla yeni doğanda umbilikal enfeksiyonlardan sonra hematojen yayılım sonucu özellikle alt ekstremitelerde görülür (62, 73).Stafilokok septik artrit en sık diz, kalça, dirsek, omuz ve interfalanjial eklemlerde görülür. Romatoid artrit, osteoartrit gibi altta yatan kronik bir eklem hastalığı en önemli risk faktörüdür. Septik bursit periartiküler bursayı içeren akut bir enfeksiyondur ve sıklıkla olekranon ve prepatellar bölge gibi bası altındaki bölgelerde lokalizedir. Giriş kapısı genellikle lokaldir. Olguların %90'ı *S. aureus*'a bağlıdır (79).

4.2.8.3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları

S. aureus pnömonisi aspirasyona veya hematojen yayılmaya bağlı meydana gelir. Her iki durumda pulmoner enfeksiyon, apse oluşumu ve plevral ampiyem gibi lokal komplikasyonlara yol açabilir (62, 73).

4.2.8.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları

S. aureus bakteriyemi esnasında renal kortekse yerleşerek renal kortikal apseye, kalıcı üriner katateri olanlarda ise assendan yolla enfeksiyona yol açabilir (62, 73).

4.2.8.5. Endokardit

Belirli bir odakta yerleşen stafilokokların (deri, solunum ve genitoüriner sistem) kana yayılıp çoğalmaları ile oluşan üşüme titreme ile yüksek ateş, çeşitli organ yerleşimleri ile bunlara bağlı özel klinik tablonun oluştuğu ağır enfeksiyonlardır (50).

4.2.8.6. Bakteriyemi

Bakteriyemilerin çoğunun intravenöz kateter (%26) ve solunum yolu enfeksiyonu (%13) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (62, 73).

4.2.8.7. Stafilokoksik Besin Zehirlenmeleri

Bakteriyel besin zehirlenmelerinin en sık görüleni stafilokoksik besin zehirlenmeleridir. Hastalık *S. aureus*'un bir toksijenik suşu tarafından oluşturulan ısıya

dirençli enterotoksin B veya diğer enteretoksinlerle kontamine gıdaların yenilmesi sonucu ortaya çıkar. Stafilocok besin zehirlenmesinin epidemiyolojisi insandan insana bulaş ile karakterizedir. Sorumlu organizma genellikle gıdayı hazırlayan bir kişiden izole edilir. Uygun olmayan koşullarda saklanmış kremalı tatlılar, işlenmiş et, dondurma, konserve gıdalar, patates salatası gibi yiyecekler bulaşmaya yol açar. Hastalık 2-6 saatlik bir inkübasyon peryodundan sonra bulantı ve kusmayla başlar, daha sonra karında kramplar ve ishal tabloya eklenir (20).

4.2.8.8. Stafilokoksik Haşlanmış Deri Sendromu

Stafilokoklar epidermolitik toksin (eksfoliyatin) oluşturma özelliğinde olup nazofarinkste ya da deride bulunurlar. En çok çocuk ve yenidoğanlarda görülür. Aniden ağız çevresinde eritem ve 2-3 gün içinde hızla güneş yanığına benzer parlak kırmızı bül tarzında döküntü ile başlar ve lokal lezyonu deri kavlaması şeklinde izler (20).

4.2.8.9. Toksik Şok Sendromu

Toksik şok sendromu 1980'li yıllarda vajinal tampon kullanan kadınlarda menstrüasyon sırasında oluşan bir hastalık olarak dikkati çekmiştir. *S. aureus*'un toksik şok sendromu toksini (TSST-1) salgılayan suşlarıyla kolonizasyon veya enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan ateş, diyare, eritrodermi, mental konfüzyon ve ciddi refrakter hipotansiyonla karakterize bir klinik tablodur. Menstruasyonla ilişkili toksik şok sendromunun azalmasıyla menstruasyonla ilişkisiz toksik şok sendromunun da belirgin epidemiyolojik önemi olduğu anlaşılmıştır. Vajinal enfeksiyon, kontraseptif aletlerin kullanımı, doğum, abortus ve postpartum dönem gibi koşullarda da enfeksiyona sebep olur (88).

4.2.9. *S. aureus*'un Laboratuvar Tanısı

S. aureus'un identifikasyonunda koloni morfolojisi, boyanma, pigment üretimi, hemoliz, mannitol fermantasyonu, yüksek tuz konsantrasyonulu ortamlarda üreme ve koagülaz özellikleri araştırılır. *S. aureus*'un bütün suşları koagülaz ve mannitol pozitifdir. Kanlı agarda 24 saatte üreyen stafilokoklar beta hemoliz zonu bulunan, altın

sarısı renginde koloniler oluştururlar. Sposuz, hareketsiz, kapsülsüz, genellikle katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler ve Gram boyama ile boyandıklarından Gram pozitifler. Fakültatif anaerop olup daha çok aerop üremeyi tercih ederler. Çoğu %7.5 NaCl içeren basit besiyerlerinde, 18-45 °C’de kolaylıkla ürerler. Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı parçalarlar ve ürün olarak laktik asit meydana çıkarırlar (89, 90).

4.2.10. Tedavi

Stafilokoklar antibiyotiklere çok çabuk direnç geliştirirler. Penisilinlere direnç %90’ın üzerindedir. Semisentetik penisilinler, penisilinaza dirençli oldukları için tedavide kullanılabilirler. Semisentetik penisilinlere dirençli suşların oluşturdukları hastalıkların tedavisinde vankomisin, klindamisin, trimetoprim-sulfametaksazol (TMP/SMX), veya doksisiklin kullanılabilir. Son zamanlarda vankomisin dirençli *S.aureus* suşları saptanmaya başlanmıştır (91).

4.2.10.1. Taşıyıcıların tedavisi

Rifampisin (2×600 mg, beş gün)

Siprofloksasin (2×750 mg, 14 gün)

Trimetoprim-Sulfametaksazol, Doksisiklin kullanılan sistemik antibiyotiklerdir.

Günümüzdeki standart yöntem %2 nazal mupirosin pomadın 8 saatte bir, 5-7 gün boyunca kullnılmasıdır. Mupirosine düşük düzeyde bir direnç söz konusudur. Klorhekzidin bazlı sabun ile banyo yaptırılması kolonizasyon oranının azaltmaktadır (69).

4.2.11. Antimikrobiyal Direnç

Antibiyotiklere direnç gelişimi özellikle *S.aureus* suşlarında daha çok karşılaşılan bir durumdur. *S.aureus*’un neden olduğu bakteriyemi, pnömoni, endokardit ve osteomyelit gibi ağır infeksiyonlarda yüksek dozlarda ve uzun süreli antibiyotik

kullanılması gerekmektedir (62).

S. aureus günümüzde kliniklerde kullanılan neredeyse tüm antibiyotiklere direnç geliştirmiş durumdadır. *S. aureus*'un antibiyotik direnci önce sulfonamidlerle başladı ve günümüzde glikopeptidlerle devam etmektedir (20). Penisiline dirençli *S. aureus*'un sebep olduğu infeksiyonları tedavi etmek amacıyla geliştirilen metisilin ve diğer penisilinaz dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle başlangıçta başarılı bir tedavi sağlanmış olsa da, daha sonra MRSA suşları ortaya çıkmıştır. MRSA önce hastane infeksiyonlarında, günümüzde de toplumda kazanılmış infeksiyonlarda etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Beta-laktamazlar aracılığı ile hidrolize olmayan β -laktam antibiyotiklere (metisilin, oksasilin, nafsilin, kloksasilin, dikloksasilin) karşı direnç, metisilin direnci olarak tanımlanmaktadır (92). Bu antibiyotiklerin hiç kullanılmadığı ülkelerde dahi stafilokoklarda bu direnç geninin varlığı gösterilmiştir (93). Metisiline dirençli suşlar tüm β -laktam antibiyotiklere ve β -laktamaz / β -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına direnç gösterirler. Metisiline dirençli stafilokokların genellikle eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim sulfametoksazol (TMP/SMX), kinolonlar ve aminoglikozidlere de direnç gösterdiği bildirilmektedir. Bugün glikopeptit antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin) metisiline dirençli suşlarda yaşam kurtarıcı seçeneklerdir (94).

4.2.11.1. Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA)

Stafilokoklarda metisilin direnci ilk kez 1961 yılında, metisilinin klinik kullanıma girmesinden kısa süre sonra İngiltere'de bildirilmiştir. Hemen ardından Japonya, Avrupa, Avustralya'ya yayılmış ve Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) ilk dirençli olgu 1968'de bildirilmiştir. 1970'lerin sonunda MRSA suşları klindamisin, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklin, rifampisin, aminoglikozidler gibi çok sayıda antibakteriyel ajana karşı direnç kazanmaya başlamıştır. 1980'li yıllardan sonra MRSA suşları tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralardaki yerini almıştır. MRSA'lar önceleri önemli bir nozokomiyal patojen olarak kabul edilmekteyken, takip eden yıllarda, toplumda MRSA enfeksiyonlarının görülme sıklığındaki artış dikkat çekmektedir. Bugün, hastane kaynaklı *S. aureus*'ların yaklaşık %40'ında, toplum kaynaklı *S. aureus*'ların ise yaklaşık %8-20'sinde metisilin direnci

saptanmaktadır (95).

Metisilin dirençli stafilokoklarda duyarlı olanlardan farklı olarak ilave bir penisilin bağlayan protein (Penicillin Binding Protein, PBP) vardır. PBP2' nin hemen altında yer alan PBP2A veya PBP2' adı verilen 78 kDa moleküler ağırlığındaki bu enzimin β -laktam antibiyotiklere ilgisi diğer PBP'lerden daha düşüktür. Bu nedenle metisilin dirençli bakteri β -laktam antibiyotiklerle karşılaştığında diğer tüm PBP' ler antibiyotik tarafından bloke edilse dahi bu enzim düşük afinitesi sebebi ile β -laktam antibiyotiğe bağlanamaz ve tüm fonksiyonları üzerine alarak bakteri duvar sentezini devam ettirir ve bakterinin yaşamını idame ettirir. PBP2A'nın sentezini sağlayan genetik bilginin bakteri kromozomunda lokalize ilave 2 kb' lik bir gen olan *mecA* geninde taşıdığı gösterilmiştir. Bu gen metisilin dirençli olanlarda var iken duyarlı olanlarda yoktur. Transdüksiyon ile bu genetik bilgi dirençli suşlardan duyarlı suşlara aktarılabilmektedir (21, 27).

MRSA suşunun, duyarlılık testi yapılmaksızın tüm β -laktam grubu antibiyotiklere (penisilinler, β -laktam antibiyotik+ β -laktam inhibitörü kombinasyonları, tüm sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler) dirençli olduğu kabul edilir (27, 96).

Bakteride metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için *mecA* geninin ekspresyonu gerekir. *MecA* geni taşıdığı halde metisiline değişik düzeylerde dirençli ve hatta duyarlı stafilokoklar olabilmektedir yani *mecA* geninin varlığı bu tür metisilin direnci için mutlak gerekli ancak yeterli değildir. Meydana gelen metisilin direnci iki şekilde olabilir (21, 27).

4.2.11.2. Homojen direnç

Bakteri kolonisini oluşturan tüm bakteriler *mecA* genini taşırlar ve hepsinde bu gen sunulmuş yani fonksiyoneldir. Yüksek düzeyde dirence sebep olur.

4.2.11.3. Heterojen direnç

Klinik uygulamalarda daha sık görülen tespiti güç ve esas problem teşkil eden dirençtir. Koloni oluşturan tüm bakteriler *mecA* genini taşımasına rağmen direnç ancak 10^6 ya da 10^8 bakteriden birinde tespit edilebilmektedir. Bunun *mecA* geninin fonksiyonunu kontrol ettiği sanılan “Factor essential for methicillin resistant” fem A veya factor X gibi kontrol genlerinin fonksiyonları ile meydana geldiği düşünülmektedir. Bu tür direnç duyarlılık testleri %4 NaCl içeren ortamda düşük ısıda yapıldığı ve inkubasyon süresinin 48 saat olduğu şartlarda daha iyi tespit edilebilmektedir (61, 97).

Beta laktamazların aşırı salgılanması metisilini kısmen parçalayarak metisiline dirence neden olur. Bu tür direnç, beta laktam antibiyotiklerin beta laktamaz inhibitörü ile kombine edilebilmesi ile yenilebilir (98).

4.2.11.4. *S. aureus* Suşlarında Metisilin Direncinin Belirlenmesi

S. aureus suşlarında metisilin direncinin belirlenmesinde; Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi, Oksasilin Tuz Tarama Agar Testi, E-test Yöntemi, Lateks Aglutinasyon, Moleküler Yöntemler ve Kromojenik Yöntemler kullanılır.

4.2.11.5. Oksasilin Disk Difüzyon Yöntemi

Kimyasal yapısı nedeniyle penisilinazlara dirençli penisilinler içerisinde yüksek dayanıklılığa sahip olması nedeniyle, indikatör antibiyotik olarak sıklıkla oksasilin kullanılır. Bu yöntemde MRSA izolatlarının saptanması amacı ile 1 µg oksasilin içeren antibiyogram diskleri kullanılmaktadır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından belirlenen direnç sınır değerlerine göre inhibisyon zonunun çapı ≤ 10 mm olan izolatlar dirençli, 11-12 mm olan izolatlar orta düzeyde duyarlı, ≥ 13 mm olan izolatlar ise duyarlı olarak kabul edilmektedir (99, 100).

4.2.11.6. Sefoksitin Disk Difüzyon Yöntemi

Sefalosporinler de son yıllarda, indikatörü metisilin direnç olarak üzerinde çalışılan bir diğer önemli antibiyotik grubunu oluşturmaktadır. Moksalaktam ve sefoksitin diskleri kullanılarak yapılan disk difüzyon testleri, MRSA ayırımında oldukça yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir. Ayrıca, sefoksitin disk difüzyon yönteminin değerlendirilmesinin, oksasilin disk difüzyon yöntemine göre daha kolay olduğu bildirilmiştir. Bu yöntemde 30 µg sefoksitin içeren antibiyogram diskleri kullanılmaktadır. CLSI tarafından belirlenen direnç sınır değerlerine göre inhibisyon zon çap ≤ 21 mm olan izolatlar dirençli, ≥ 22 mm olan izolatlar ise duyarlı olarak kabul edilmektedir (99).

4.2.11.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), dizilişi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca kopyasının elde edildiği bir tekniktir. PZR türe özgün çok sayıda DNA fragmentlerinin üretilmesi için enzimatik bir reaksiyondur. Özellikle çok sayıda enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların kısa sürede teşhis edilmesi ve identifikasyonun yapılmasının yanında ait olduğu mikroorganizmaya özgün olan DNA dizisinin varlığını ortaya koymak için kullanılan bir analiz yöntemidir (22, 101, 102, 103).

Metisilin direnç geni ekspresyonu her zaman rutin testlerle saptanamamakta ve bu yüzden metisiline dirençli bir bakteri duyarlı olarak tanımlanabilmektedir (104). Metisiline direncin heterojenite göstermesi, düşük seviyede dirençli suşların ayırımının zorluğu, konvansiyonel duyarlılık testlerinin direnci belirlemede yetersiz kalması tedaviyi olumsuz etkilemektedir (105, 106). MRSA tespitinde düşük affiniteli penisilin bağlayan proteini kodlayan *mecA* genini belirlemede polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) altın standart olarak kabul edilmektedir (107, 108).

4.2.12. Stafilokoksik Kaset Kromozomu *mec* (SCC*mec*) Yapısı

Metisilin direncinden sorumlu mekanizmalar başta *mecA* geni varlığına bağlı PBP2A yapımı olmak üzere PBP'lerin β -laktam antibiyotiklere afinitelerinde azalma ve β -laktamazların aşırı yapımıdır. *mecA* geni tüm MRSA suşlarında bulunan mobil bir genetik elemanın parçasıdır (96). Katayama ve ark. *mecA*'nın stafilokoksik kaset kromozomu *mec* (SCC*mec*) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçası olduğunu göstermişlerdir (21).

S. aureus un SCC*mec* yapısı, *mec* geni kompleksi, kaset kromozom rekombinaz (*ccr*) gen kompleksi ve J (junkyard) olmak üzere üç elementten oluşur. SCC*mec* elementleri, faj transdüksiyonu veya diğer genetik transfer sistemleri ile taşınabilmektedir. *ccr* gen kompleks bölgesi SCC*mec* gen kaset bölgesinin mobilitesinden, yani *S. aureus*'un kromozomuna girip çıkmasından sorumludur (29, 30).

4.2.13. Stafilokoksik Kaset Kromozomu *mec* (SCC*mec*) Tipleri

SCC*mec*, *mec* ve *ccr* gen komplekslerine göre tiplere ve J bölgelerindeki farklılıklara göre alt tiplere ayrılır (82). PZR yöntemi ile yapılan çalışmalarda birçok MRSA suşunun beş SCC*mec* tipinden (SCC*mec* tip I, II, III, IV, V) birini taşıdığı ve bunların birbirlerinden genetik içerik ve büyüklük bakımından farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (23, 24). Ancak günümüzdeki çeşitli çalışmalarda sekiz tip tanımlanmıştır (25).

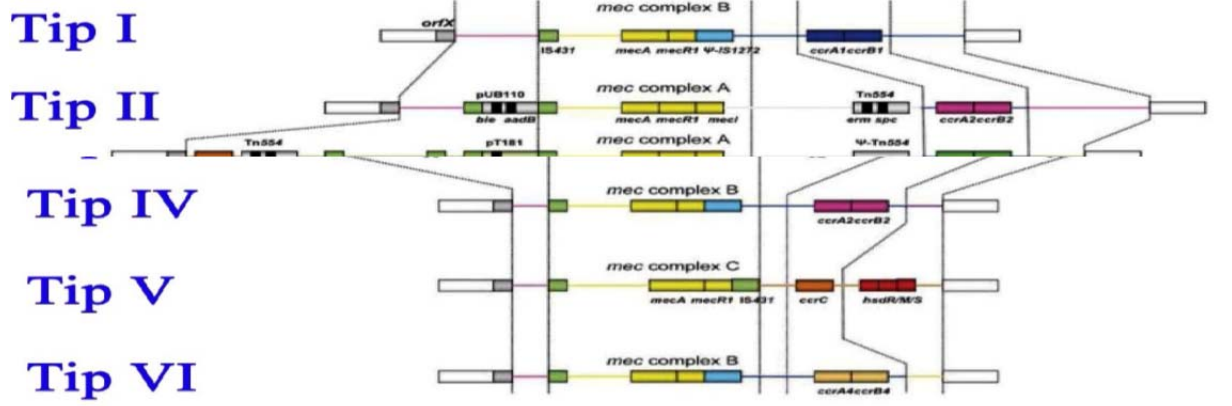
Hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) klonlarının çoğunluğu tip I, II veya III SCC*mec* taşıırken TK-MRSA suşları çoğunlukla tip IV SCC*mec* taşımaktadır (26, 27). Tip V SCC*mec* ilk kez 2004 yılında, Avustralya'da izole edilmiş TK-MRSA suşunda tanımlanmıştır (WIS suşu). Tip V SCC*mec*, 28 kb'lık küçük bir element olup *mecA* dışında direnç geni taşımamaktadır. Ancak diğer SCC*mec* tiplerinden farklı olarak elementin kromozomda stabilizasyonunu sağladığı düşünülen birtakım yabancı genler içermektedir (24).

Aminoasit tipine göre *ccrA* ve *ccrB* olmak üzere iki tipi ve her bir tip için dört farklı allotipi (*ccrA* için *ccrA1*, *ccrA2*, *ccrA3* ve *ccrA4*; *ccrB* için *ccrB1*, *ccrB2*, *ccrB3* ve *ccrB4*) bulunmaktayken son zamanlarda *ccrC* olmak üzere üçüncü bir tip bildirilmiştir. *ccrA* ve *ccrB* tip I, II, III, IV ve VI SCC*mec* gen kaset yapısında bulunurken, *ccrC* sadece tip V SCC*mec* gen kaset bölgesinde bulunmaktadır (29, 30).

Tip I SCC*mec*, sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip I *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. 1961 yılında izole edilen en eski MRSA suşunda bulunmuştur. Tip I SCC*mec*'in J bölgesi bir yüzey proteinini kodlayan *pls* genini içermektedir. Bu gen fibronektine bakteriyel aderans etkilemektedir. Bu fonksiyon *S. aureus* enfeksiyonunun başlamasında önemlidir. Tip I SCC*mec*, *mecA* haricinde herhangi bir antibiyotik direnç geni taşımamaktadır. Tip II SCC*mec*, sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip II *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. Tip III SCC*mec*, sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip III *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. SCC*mec* tip II ve III MRSA suşlarının önemli bir özelliği, çoklu ilaç direncine yol açmaları ve özellikle hastane ortamında sık bulunmalarıdır. Tip II ve III SCC*mec* kaset gen tipleri, direnç genlerinin bulunduğu geni J (J1, J2, ve J3) bölgelerine sahiptirler. Bu tipler taşıdıkları direnç genleri sayesinde aminoglikozidler, makrolidler, tetrasiklin gibi çeşitli antibiyotiklere ve kadmiyum, civa gibi ağır metallerle karşı dirençli hale gelirler. Tip IV SCC*mec*, sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip II *ccr* gen kompleksi içermektedir. Tip IVa ve IVb, *mecA* geni dışında herhangi bir direnç geni taşımamaktadır, zira J1 bölgesi diğer SCC*mec* tiplerine göre oldukça küçüktür, J2 bölgesi ise bulunmamaktadır (29, 30, 31, 32).

SCC*mec*, kendisini oluşturan *mec* gen kompleks sınıfları ve *ccr* gen kompleks tiplerinin, çeşitli kombinasyonlar şeklinde bir araya gelmesi ile farklı tiplere ayrılmaktadır (SCC*mec* tip I, II, III, IV, V). Ayrıca J bölgesindeki yapısal farklılığa bağlı olarak her bir SCC*mec* tipinin varyantları tanımlanmıştır: IA, IIA; IIB, IIC, IID, IIE, IIIA, IIIB, IVa, IVb, IVc, IVd, IVA, IVE, IVF (109, 110).

SCCmec YAPISI (I-VI)



Şekil 1: SCCmec kaset gen tiplerinin yapısal görüntüsü (30).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. Laboratuvar araç ve gereçleri

1.5 ml'lik santrifüj tüpleri ve 0.2 ml'lik PZR tüpleri (Grainer bio-one), Çalkalayıcı su banyosu (GFL 1086, Almanya), pH metre (Hanna, Romanya), Pastör fırını (Hanna, Portekiz), Manyetik karıştırıcı (Stuart), Otomatik pipetler (Lab-mate), Pipet ucu (Piove di Sacco, İtalya) Vorteks (Heidolph, Almanya), Santrifüj (Sigma), Dijital güç kaynağı (EC-105), Jel dökme tepsisi ve tarak, 250 ml erlenmayer, 50 ml mezür, etüv (Dedeoğlu), Otoklav (Bes, İstanbul), Etüv (Heraus, Almanya), Buz makinesi (Scotsman), Thermal cycler (ABI 9700, Applied biosystems), Hassas terazi (Sartorius Laboratory), Mikrodalga fırın (Beko), Jel dökümantasyon sistemi (Bio-rad), UV ilüminatör (Vilber lourmat), -20°C (Uğur), -80°C (Thermo) derin dondurucular, Deiyonize su cihazı (Barnstead), McFarland (PhoenixSpec), Techne geneous

5.1.2. Nazal sürüntü örnekleri

Karadeniz Teknik Üniversitesi Farabi Hastanesi'nde çalışmakta olan; 101 doktor, 176 hemşire, 137 yardımcı sağlık personeli olmak üzere toplam 414 kişiden 2012 yılı içerisinde nazal sürüntü kültürleri alınmıştır.

5.1.3. Kimyasallar

Sodium hydroxid (NaOH), Mannitol salt phenol red agar toz, Yeast Extract, Blood agar base, Broth (Merck), Tryptose Blood Agar (Merck), Agaroz (Quantum Biotechnologies), Etidyum bromür (Sigma), Bromphenol blue, Xylene cyanol, Tris HCl, EDTA, Glycerol, Double distile water (ddw), Enjeksiyonluk su, Amplifikasyon seti; dNTP seti (Roche, Almanya, Fermentas, ABD), Primerler (IDT, Amerika, biomers, Almanya), PZR master mix (Promega, Amerika), 1 kb DNA marker (Fermentas), 100 bp DNA marker (Qiagen, Almanya), GelPilot 100 bp Plus Ladder (Qiagen).

5.1.4. Besiyerleri

5.1.4.1. Mannitol salt phenol red agar (MTA)

Mannitol salt phenol red agar toz	40gr
Distile su	1,000 ml

Yukarıdaki içeriğe sahip hazır liyofilize besiyerinden 40gr alındı 1000 ml distile su içerisinde eriyene kadar ısıtılarak karıştırıldı. Otoklavda 121°C’de 15dk steril edilip, 50°C’ye kadar soğutulup steril petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü.

Besiyeri bileşimindeki yüksek tuz konsantrasyonu refakatçi floranın gelişimini baskımlarken *S. aureus* 'un gelişimini destekler, aynı zamanda koloni etrafında fenol red ile belirlenen sarı zon oluşumunu sağlar. Standart yayma yöntemi ile ekim ve 35-37°C’de 3 güne kadar yapılan inkübasyon sonunda parlak kırmızı besiyerinde gelişen ve etrafı sarı zon ile çevrili büyük parlak sarı-opak koloniler *S. aureus* olarak değerlendirilir.

5.1.4.2. Kanlı Agar (Blood Agar Base)

Blood agar base	40 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldü, otoklavda 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edildi, 50°C’ye kadar soğutuldu. Üzerine %5 sitratlı insan kanı eklendi. Steril petri kutularına kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü.

5.1.4.3. %4 NaCl'li Muller-Hinton Besiyeri

Muller-Hinton Agar base	38 gr
Sodyum Chloride	40 gr
Distile su	1000ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldü, otoklavda 121°C'de 15 dk süreyle sterilize edildi, 50°C'ye kadar soğutuldu. Steril petri kutularına kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü.

5.1.5. Solüsyonlar

5.1.5.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar

5.1.5.1.1. Tris HCl (1 M)

80 ml distile su üzerine 15.7 gr Tris HCl eklendi ve çözüldükten sonra pH 8.0 olarak ayarlandı. Toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda steril edildi.

5.1.5.1.2. EDTA (0.5 M)

80 ml distile su üzerine 29.2 gr EDTA eklendi ve çözüldükten sonra pH 8.0 olarak ayarlandı. Toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda steril edildi.

5.1.5.1.3. TE Tamponu

Son konsantrasyonları 10 mM Tris HCl ve 1 mM EDTA olacak şekilde Tris HCl (1 M) stok solüsyonundan 1ml, EDTA (0.5 M) stok solüsyonundan 200 µl alınarak 98.8 ml distile suya eklendi.

5.1.5.2. Master Mix İçin Kullanılan Solüsyonlar

5.1.5.2.1. dNTP Mix

1.5 ml'lik santrifüj tüplerine 100 mM'lık dTTP, dATP, dGTP, dCTP'den 20'şer µl koyuldu ve üzerine 720 µl steril distile su eklenerek hazırlandı. Hazırlanan karışım kısa bir süre vortekslendi. Böylece 2.5mM konsantrasyonunda dNTP karışımı elde edildi. Hazırlanan karışım 200'er µl olarak yeni, steril, DNase-free santrifüj tüplerine bölünerek kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

5.1.5.2.2. Primer Mix

Liyofilize haldeki primerler 100 pmol/µl olacak şekilde steril distile suyla sulandırılarak stok çözeltiler elde edilmiştir. Her bir primer çifti için, 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine stok çözeltilerden 20'şer µl koyuldu ve üzerine 360 µl steril distile su eklenerek son konsantrasyonu 5 pmol/µl olan (her biri) primer mix hazırlandı. Kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

5.1.5.3. Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan Solüsyonlar

5.1.5.3.1. 5XTBE Tamponu

54 gr Tris Base, 27.5 gr Boric Acid ve 3.72 gr EDTA az miktarda distile su ile manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldükten sonra hacmi 1000 ml'ye tamamlandı ve pH 8.3'e ayarlandı.

5.1.5.3.2. Yükleme Tamponu (Loading Buffer)

30 ml gliserol, 250 mg bromphenol blue ve 250 mg xylene cyanol distile su içinde karıştırıldı ve hacim 100 ml'ye tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine 1'er ml olarak dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

5.1.5.3.3.Etidyum Bromür Solüsyonu

Etidyum bromür 10 mg/ml olacak şekilde distile su içerisinde çözüldü ve oda ısısında ışıktan korunarak saklandı.

5.2.Yöntem

5.2.1. Örneklerin Alınması

Nazal sürüntü örneklerinin alınması için öncelikle KTÜ Farabi Hastanesi Başhekimlik izini alındı. KTÜ Farabi Hastanesinde çalışan toplam 414 sağlık personeline, yapılacak örnek alma işlemi anlatılarak yazılı onamları alındıktan sonra steril nemlendirilmiş eküvyonlu çubuklar ile her iki burun deliğinden, hafifçe bastırılıp çevrilerek örnekler alındı ve transport besiyeri içine aktarıldı (ERIKSEN). Örnekler, önceden haber verilmeksizin ve personelin çalışma saatleri içerisinde toplandı. Bu şekilde elde edilen örnekler en fazla 4 saat içerisinde KTÜ Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarına ekim için ulaştırıldı.

5.2.2. Örneklerin Kültürü

S.aureus nazal taşıyıcılık saptanmasında farklı besiyerleri farklı sonuçlar üretir. MTA'da örnekler, daha hassas olmakla birlikte 24-48 saatlik inkübasyonlarda hatalı sonuçlar alınabilmektedir (ERIKSEN). Bu nedenle 1 haftayı bulan inkübasyon sürelerinin daha *S.aureus* saptama olasılığını artırmak için aynı anda hem kanlı agar hemde MTA'ya steril eküvyonlu çubuğun bir yüzünü kanlı agara tek yönlü olarak, diğer yüzünüde MTA'ya tek yönlü olarak, daha sonra steril öze yardımıyla üç yönlü olarak ekildi ekilmiştir. Ekimi yapılan örnekler 37°C de 24-48 saat, aerobik şartlarda inkübe edildi.

5.2.3. Kültürlerin Değerlendirilmesi Saf Kültür Elde Edilmesi

Kanlı agarda beta hemoliz oluşturan S tipi kolonilerden ve MTA'da mannitolü fermente ederek sarı-turuncu koloniler oluşturan koloniler seçilerek, Gram boyalı

preparat hazırlanarak, mikroskopik morfolojileri ve dizilişleri *S.aureus*'u düşündüren Gram pozitif koklardan katalaz, koagülaz ve tüpte koagülaz testleri yapıldı. Kanlı agar inkübasyon sonrasında 1-2 mm çaplı, düzgün yüzeyli, mat beyaz sarı kolonilerden gram boyama yapıldı. Gram boyama incelemesinde gram pozitif küme yapan kok şeklindeki bakterilere katalaz ve koagülaz testleri yapıldı. Katalaz ve koagülaz pozitif olanlar tek koloni pasaj (TKP) yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi.

5.2.2.2. Katalaz testi

Katalaz, hidrojen peroksit (H_2O_2)'i parçalayarak su ve oksijene dönüştüren enzimdir. İzole edilen *S. aureus* suşlarında katalaz aktivitesini araştırmak için, bakteri kolonisinden alınan bir parça, temiz bir lam üzerinde bir damla fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde süspanse edildi ve üzerine 1-2 damla taze hazırlanmış %3 lük H_2O_2 damlatıldı. Oksijen kabarcıklarının oluşması testin pozitif olduğunu göstermiştir.

5.2.2.3. Koagülaz Testi

Lam deneyinde, kültür filtratına geçmeyen ve bakteri hücresi yüzeyinde bulunan bağlı koagülaz (clumping factor = kümeleştirici faktör) varlığı araştırılmıştır. Bakteri yüzeyindeki faktörün plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırması bakterilerin kümeleşmesine yol açmaktadır. Lam testinde temiz bir lamın uç kısımlarına birer damla distile su damlatılmış, kolonilerinden öze ile bir miktar alınarak homojen süspansiyonlar elde edilmiş ve elde edilen bu süspansiyonların birisinin üzerine bir damla EDTA'lı tavşan plazması, diğerinin üzerine bir damla FTS damlatılmıştır. Tavşan plazması damlatılan tarafta 5-10 saniye içerisinde gözle görülür kümelerin oluşması testin pozitif olduğunu göstermiştir.

Tüp deneyinde, bakterilerin bulundukları ortama saldıkları bağlı olmayan koagülaz araştırılmıştır. Liyofilize halde temin edilen EDTA'lı tavşan plazması üretici firmanın (BBL) önerileri doğrultusunda önce 3 ml steril distile su ile sulandırılmış, 0,5'er ml küçük steril tüplere dağıtılmış, üzerlerine üreme olan besiyerinden öze ile alınan birkaç koloni ilave edilerek 35°C de inkübe edilmiştir. İlk 4 saatte pıhtı oluşması (süspansiyonun jel halini alması) testin pozitif olduğunu göstermiştir. Koagülaz pozitif

suşların çoğu 4 saat içerisinde plazmanın pıhtılaşmasına yol açarken, pıhtı oluşmaması halinde süspansiyon oda ısısında 24 saate kadar bekletilmiştir ve pıhtılaşma oluşmayan testler negatif olarak değerlendirilmiştir.

5.2.3. Fenotipik Yöntemlerle MRSA Belirlenmesi

5.2.3.1. Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

S. aureus olarak tanımlanan suşların antibakteriyel duyarlılıkları ox ve fox disk diffüzyon yöntemi ile, CLSI'nin önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. steril pamuklu çubuk yardımıyla TKP yapılan örneklerden alınarak tüpün içerisine aktarıldı ve McFarland 0.5 olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. MHA plak besiyerleri ve diskler oda ısısına gelmesi için buzdolabından dışarı çıkarıldı. MHA yüzeyinde nem varsa inkübatörde kapağı hafifçe açık bırakılarak kuruması sağlandı. McFarland 0.5 ile aynı opasiteye ayarlandıktan sonra 15 dakika içinde MHA'a ekim yapıldı. Bunun için eküvyon çubuğu bakteri süspansiyonuna daldırılarak fazla sıvı tüpün cidarına hafifçe bastırılarak bırakıldıktan sonra agar yüzeyinde boşluk kalmayacak şekilde (her seferde 60 derece döndürerek ve en son dış daireye sürecek şekilde) ekimler yapıldı. En fazla 15 dakika içinde 1µg'lık oksasilin (ox) ve 30µg'lık sefoksitim (fox) antibiyotik diskleri sivri uçlu bir pensetle besiyerine değdirilmemeye gayret edilerek yerleştirildi. Diskler yerleştirildikten sonra plaklar 15 dakika içinde 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Metisilin direnci CLSI kriterleri doğrultusunda; ox için ≥ 13 mm zon çapı olanlar duyarlı, 11-12 olanlar sınırda dirençli, ≤ 11 mm olanlar dirençli olarak değerlendirildi. Fox ≥ 22 mm zon çapı olanlar duyarlı, ≤ 21 mm zon çapı olanlar dirençli olarak değerlendirildi (105).

5.2.4. Genotipik Yöntemlerle MRSA Doğrulanması

5.2.4. 1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için bazı modifikasyonlarla birlikte Melo ve ark. tarafından kullanılan yöntem izlendi (111).

1. İki öze dolusu bakteri alındı
2. 1 ml PBS içinde süspanse edildi.
3. 10K da santrifüj edildi.
4. Sıvı kısmı (süpernatant) atıldı
5. Pellet 1 ml ddw içinde süspanse edildi.
6. 10K da 3 dk santrifüj edildi
7. Sıvı kısmı atıldı
8. Pellet 1 ml ddw içinde süspanse edildi
9. 10K da 3 dk santrifüj edildi.
10. Sıvı kısmı atıldı
11. Pellet 350 µl TE içinde süspanse edildi.
12. 40 µl lizozim (50 mg/ml) eklendi (Final conc. 500 µg/ml)
13. 10 µl Proteinaz K (20 mg/ml) eklendi (Final conc. 500 µg/ml)
14. İyice vortekslendi
15. 37°C' de 30 dk inkube edildi.
16. 3 defa dondur-çöz yapıldı (-80 °C- 37 °C su banyosu)
17. İçine 3 adet cam boncuk (2.5mm çaplı) eklendi
18. 10 dk maksimum hızda vortekslendi
19. 0.5 ml'lik santrifüj tüplerine 100'er µl olarak bölündü
20. Örnekler ısı döngü cihazında (thermal cycler) 98°C'de 15dk bekletilerek enzim inaktivasyonu sağlandı

21. 10000rpm’de da 3 dk santrifüj edildi.

22. Süpernatant yeni, steril tüplere aktarılarak PZR için kullanıldı.

Yaptığımız çalışmada fenotipik yöntemlerle MRSA olduğu anlaşılan 11 suşta *mecA* geninin varlığı PZR yöntemi kullanılarak araştırıldı.

5.2.4. 2. PZR Yöntemi ile *mecA* Geninin Amplifikasyonu

<u>PZR protokolu</u>	<u>Master mix (MIX)</u>	<u>N</u>
dH ₂ O		×N
Tampon		10x (NH ₄) ₂ SO ₄ ×N
dNTP		200 M×N
MgCl		2,5 mM×N
Primer F		50 pmol×N
Primer R		50 pmol×N
Taq polimeraz		2 Ü×N
<u>DNA</u>		<u>30 µm ×N</u>
TV = 50		1×N

Master mix hazırlamak için köpük kutusuna bir miktar buz konuldu ve yukarıda yazılan kimyasallar -20 °C’den çıkarılarak buz içerisine konuldu. *mecA* doğrulanmasında Oliviera ve ark. tarafından çalışılan primerler (P4, 5’-TCCAGATTACAACCTTCACCAGG-3’ ve P7, 5’-CCACTTCATATCTTGTAACG-3’) kullanıldı (116b). Thermostabil enzim olarak FastStart Taq DNA polimeraz (Roche Diagnostic) ve Hot Start Taq DNA polimeraz (Fermentas) enzimleri kullanıldı. Buz üzerinde çözünen kimyasallar vortekslendikten sonra 1.5 ml’lik santrifüj tüpüne her bir örnek için hacim 40 µl olacak şekilde yukarıda belirtilen sıraya ve miktara göre karıştırıldı. Buz üzerinde hazırlanan master mix 30 saniye vortekslendikten sonra quick spin yapıldı ve 0.2 ml’lik PZR tüplerine 40 µl olacak şekilde pipetlendi. Tüplerin

üzerine örnek numaraları yazıldı ve numaralarına göre izole edilen DNA’lardan her bir PZR tüpüne 10 µl olacak şekilde pipetlendi. Bu şekilde hazırlanan tüpler termal döngü cihazına yerleştirildi.

PZR programı

Başlangıç denatürasyonu	94 °C’de 5 dakika
Denatürasyon aşaması	94 °C’de 30 saniye
Primerlerin yapışması (annealing)	55 °C’de 30 saniye 30 döngü
Sentez (uzama) aşaması	72 °C’de 30 saniye
Son uzama	72 °C’de 10 dakika

5.2.4. 3. Agaroz Jel (%2) Hazırlanması

Agar	2 g
0,5xTBE	100 ml
Etidyum Bromür	2 µl

Bu çalışmada Polimerize Zincir Reaksiyonu (PZR) sonucu çıkan ürünleri incelemek için Agaroz jel elektroforezi kullanıldı. Bunun için 2 gr agaroz ve 100 ml TBE kullanılarak %2’lik agaroz jel hazırlandı. TBE içinde hazırlanan solusyon mikrodalga fırında 4 dakika medyum da çalıştırıldı. Daha sonra 60°C’ye kadar soğuması beklendi 2 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. İyice karıştığından emin olduktan sonra karışımın içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat ediyoruz ve önceden tarakları yerleştirdiğimiz tepsiye jelimizi döküyoruz. Daha sonra donmasını bekliyoruz. Donan jelofisini elektroforez tankının içine yerleştiriyoruz.

5.2.4. 4. Elektroforez Jelinin Hazırlanması ve Kalıpların Jele Yüklenmesi

1. 0.5x TBE içinde 100 ml olacak şekilde %1’lik agaroz hazırlandı. 1 g ‘pulsed-field certified agarose’ 200 ml’lik balona konuldu. Üzerine 100 ml 0.5 x TBE eklendi, yavaşça karıştırılarak agarın dağılması sağlandı. Balonun ağzına

aliminyum folyo kapatılarak mikrodalga fırında 60 saniye tutuldu, çıkarılarak hafifçe karıştırıldı, tekrar 15 saniye mikrodalga fırında tutuldu. Agaroz iyice çözüldükten sonra, balon 45-50°C'lik su banyosuna konuldu.

2. Agaroz dökülecek kaset hazırlandı, sızdırmaması için etrafı bantlandı.
3. Agaroz kalıplarının her biri, 12 dişli tarağın dişlerinin uç kısmına yerleştirildi.
4. Örnek konulan kısım DNA'nın yürüyeceği yöne gelmek kaydıyla, tarak agaroz dökülecek kaset içine yerleştirildi.
5. Su banyosundan çıkarılmış ve sıcaklığı yaklaşık 45-50°C olan agaroz dikkatli bir şekilde hava kabarcığı oluşturulmadan kaset içine döküldü.
6. Oda ısısında 20-30 dakika katılaşmaya bırakıldı ve sonrasında tarak dikkatlice çıkarıldı
7. Sonra 0.5 x TBE tamponu bulunan tanka yerleştirildi.

5.2.4.5. *mecA* PZR Ürünlerinin Yürütülmesi

mecA ürünün saptanması amacıyla 10µl PZR ürünü, 2µl yükleme solüsyonu ile süspanse edilerek, 0.5X TBE tampon ile hazırlanan %2'lik agarozda jel elektroforezi yapılmıştır. Agaroz jelde yürütülen ampikon 0.5 g/ml etidyum bromür ile işaretlenmiş ve 60 dakika 80 Volt elektrik akımına tabi tutulduktan sonra, UV transilluminatör ile değerlendirilmiştir. PZR ürününün büyüklüğü moleküler büyüklük belirteci bantlar ile karşılaştırılarak doğrulanmış ve jeller dijital fotoğraf makinesi ile görüntülenmiştir.

5.2.4.6. SCC*mec* Multiplex PZR Amplifikasyonu

mecA pozitif örneklerde SCC*mec* tip tayini amacıyla, DNA örneklerinden 10 µl alınarak kalıp DNA olarak PZR karışımına eklenmiştir. PZR karışımını hazırlamak için 10X PZR tamponuna 1.5mM MgCl₂, 200µM dNTP, her bir primerden protokola uygun miktarda (0.4µM, 0.8µM), 1.25 U *Taq* DNA polimeraz enzimi ve önceden hesaplanarak

belirlenen miktarda distile su, son hacim 50µl olacak şekilde ilave edilmiştir. Örnekler termal döngü cihazında ilk denatürasyon için 94°C’de 4 dakika bekletildikten sonra, her bir döngü sırasıyla 94°C’de 30 saniye, 53°C’de 30 saniye ve 72°C’de 1 dakika olacak şekilde, 30 döngü çalışılmıştır. Son olarak örnekler 72°C’de 4 dakika bekletilerek PZR sonlandırıldı.

Tablo 1. SCCmec tiplendirmede kullanılan primerler

Primer	Conc	Sekans	Ürün bp	Tipler
CIF2 F2	0.4	TTCGAGTTGCTGATGAAGAAGG	495	I
CIF2 R2	0.4	ATTTACCACAAGGACTACCAGC		
KDP F1	0.4	AATCATCTGCCATTGGTGATGC	284	II
KDP R1	0.4	CGAATGAAGTGAAAGAAAGTGG		
MECI P2	0.4	ATCAAGACTTGCATTCAGGC	209	II, III
MECI P3	0.4	GCGGTTTCAATTCACCTTGTC		
DCS F2	0.8	CATCCTATGATAGCTTGGTC	342	I, II, IV
DCS R1	0.8	CTAAATCATAGCCATGACCG		
MECA P4	0.8	TCCAGATTACAACCTTCACCAGG	162	IC
MECA P7	0.8	CCACTTCATATCTTGTAACG		

Master miks karışımı Tablo 2’de sunulan oranlar gözetilerek hazırlandı.

Tablo 2. PZR master miks hazırlanması

Komponent	Final derişim
Tampon	1X
dNTP mix	0.2mM
MgCl ₂	1.5mM
Primer mix	0.4, 0.8µM
Taq polimeraz	1.5U
ddw	değişken
Template	10µl
TOPLAM	50µl

PZR programı

Başlangıç denatürasyonu	94 °C'de 4 dakika	
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 saniye	} 30 döngü
Primerlerin yapışması.....	53 °C'de 30 saniye	
Sentez (uzama) aşaması	72 °C'de 1 dakika	
Son uzama	72 °C'de 4 dakika	

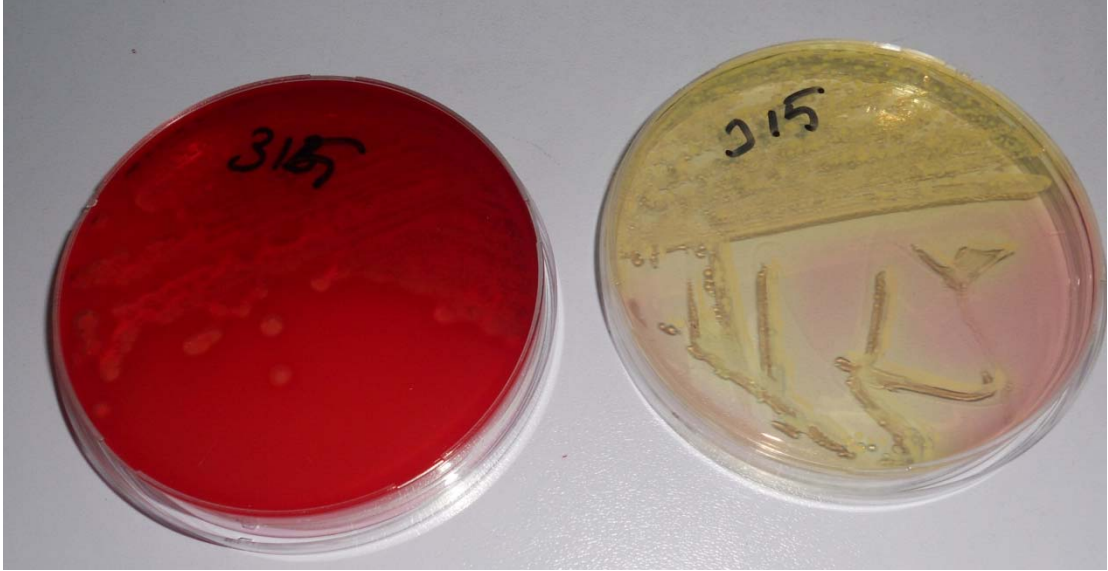
5.2.4.6.1. SCCmec PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Saptanması

Amplifiye edilen ürünlerin görüntülenmesi için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanıldı. Elektroforez için %2'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için 1 gr agaroz 50 ml TBE tamponu ile karıştırılmış ve mikrodalga fırın içerisinde partikülleri tamamen eriyinceye kadar ısıtılmıştır. İçinde erimiş agaroz bulunan merlen, 55°C'ye ayarlanmış su banyosunda 15 dk bekletildikten sonra içine son konsantrasyonu 0.5 µg/ml olacak şekilde etidyum bromür eklendi ve dağılması için çalkalandı. Geniş kuyucuk oluşturan tarak, düz bir zemindeki tepsi üzerine oturtuldu ve jel tepsiye döküldükten sonra katılaşması için oda ısısına bırakıldı. Katılaştıran agarozdan tarak çıkarıldıktan sonra tepsi ile birlikte elektroforez tankının içine yerleştirildi ve üzerini kapatacak şekilde TBE tamponu döküldü. DNA'yı ağırlaştırarak kuyucuklara pipetleyebilmek ve yürüyen DNA'nın yaklaşık konumunu belirlemek için yükleme tamponu kullanıldı. 10 µl PZR ürünü 3 µl yükleme tamponuna karıştırılarak kuyucuklara aktarıldı. Örnekler ilk 10 dk 80 voltta yürütüldükten sonra volt 100'e çıkarılıp 30 dk daha yürütüldü. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra UV ilüminatörde jel görüntülendi.

6. BULGULAR

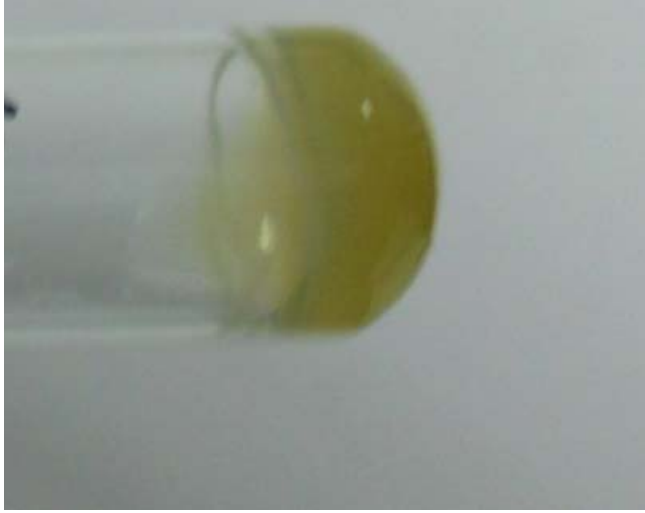
KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi'nde çalışmakta olan yaşları 20 ile 57 arasında değişmekte olan; 101 doktor, 176 hemşire, 137 yardımcı sağlık personeli olmak üzere toplam 414 kişiden 2012 yılı içerisinde burun sürüntü örnekleri alınmıştır.

Nazal sürüntü örneklerinden yapılan kültürlerde *S. aureus* suşlarının idantifikasyonu amacıyla, üreyen bakterilerin kanlı agar ve mannitol salt agardaki koloni morfolojileri ve mikroskopik görünümleri incelendi (Şekil 8). *S.aureus* şüpheli kolonilerden katalaz, koagülaz (lam ve tüp) testleri yapıldı ve MTA besiyerine tekrar pasajlandı(Şekil 2).



Şekil 2: *S.aureus* kolonilerinin kanlı agar ve mannitol salt agar besiyerindeki görünümü

Tüp deneyinde, bakterilerin bulundukları ortama saldıkları bağılı olmayan koagülazı araştırmak amacıyla *S.aureus* olarak şüphelenilen kolonilere tüpte koagülaz testi uygulandı ve 34 örnekte pozitif bulundu (Şekil 3).



Şekil 3: *S. aureus* suşunun tüpte pozitif koagülaz testi

Katalaz ve koagülaz pozitif, kanlı agarda beta hemoliz yapan ve mannitol salt agarda tipik görüntü ve renge sahip koloniler *S.aureus* olarak kaydedildi. İzolatların metisilin direnci oksasilin ve sefoksitin diskleri ile değerlendirildi (Şekil 4, 5, 6).



Şekil 4: Muller Hinton besiyerinde *S.aures*'un oksasilin ve sefoksitin direnci

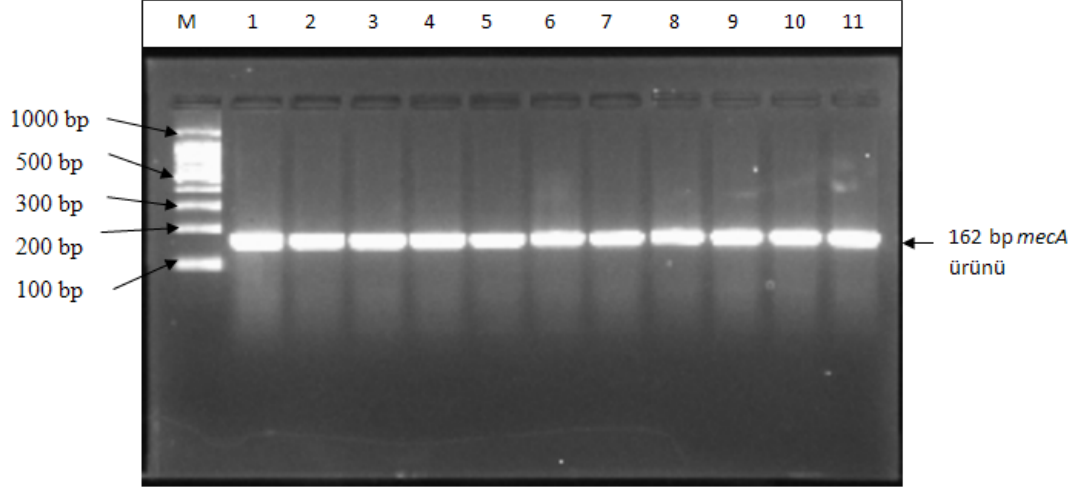


Şekil 5: Muller Hinton besiyerinde *S.aures*'un oksasilin ve sefoksitin direnci



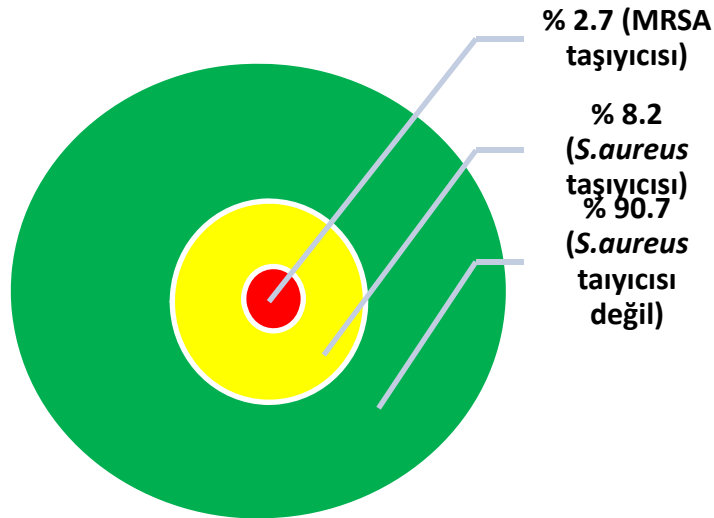
Şekil 6: Muller Hinton besiyerinde *S.aures*'un oksasilin ve sefoksitin direnci

Fenotipik yöntemlerle MRSA olarak tanımlanan 11 suşun PZR yöntemi ile de *mecA* geni taşıdığı belirlenirken diğer suşlar PZR negatif olduğu görüldü (Şekil 7).



Şekil 7: *mecA* PZR ürününün agaroz jel elektroforezinde görüntüsü: M, marker; 1-11, 162 bp uzunluğundaki *mecA* ürün bandları.

Toplam 414 sağlık çalışanından alınan nazal sürüntü örneklerinden 34'ünde (%8.2) *S.aureus*, 11'inde (%2.7) ise MRSA taşıyıcılığı saptandı (Şekil 8).



Şekil 8: Nazal sürüntü örneği alınan sağlık çalışanlarında *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılık oranları

S.aureus ve MRSA taşıyıcılığı, doktor ve yardımcı sağlık personelinde hemşirelere oranla daha yüksek yüzdede saptandı (Tablo 3).

Tablo 3: Nazal sürüntü örneği alınan sağlık çalışanlarında meslek gruplarına göre *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılık oranları

<i>S. aureus</i> taşıyıcılığı				MRSA taşıyıcılığı	
MESLEK	n	n	%	n	%
Doktor	101	10	% 9.9	3	% 2.9
Hemşire	176	11	% 6.2	4	% 2.2
YSP	137	13	% 9.4	4	% 2.9

Yoğun bakım üniteleri ve ameliyathanede çalışan personelde *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılığının diğer servislere göre daha yüksek olduğu belirlendi (Tablo 4).

Tablo 4: Nazal sürüntü örneği alınan sağlık çalışanlarının kliniklere göre *S.aureus* taşıyıcılığı ve MRSA oranları

Klinikler	<i>S. aureus</i> taşıyıcılığı			MRSA taşıyıcılığı	
	n	n	%	n	%
Yoğun Bakım Üniteleri	125	15	%12	6	%4.8
Ameliyathaneler	38	4	%10.5	2	%5.2
Servisler	251	15	%5.9	3	%1.1

Erkeklerde *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılığının kadınlardan daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 5).

Tablo 5: Nazal sürüntü örneği alınan sağlık çalışanlarının cinsiyete göre *S.aureus* taşıyıcılığı ve MRSA oranları

Cinsiyet	<i>S. aureus</i> taşıyıcılığı			MRSA taşıyıcılığı	
	n	n	%	n	%
Kadın	247	13	% 5.2	5	%2
Erkek	167	21	% 12.5	6	%3.5

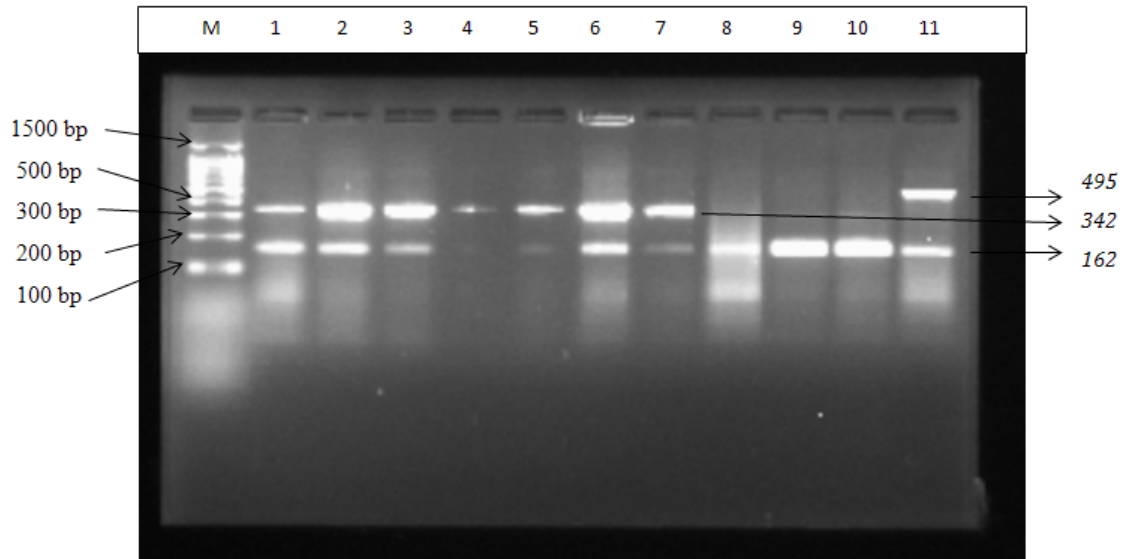
S.aureus taşıyıcılığının yaş ile paralel olarak arttığı gözlenirken, MRSA taşıyıcılığının da üst yaş grubunda en yüksek olduğu izlendi (Tablo 6).

Tablo 6: Nazal sürüntü örneği alınan sağlık çalışanlarının yaşa göre *S.aureus* taşıyıcılığı ve MRSA oranları

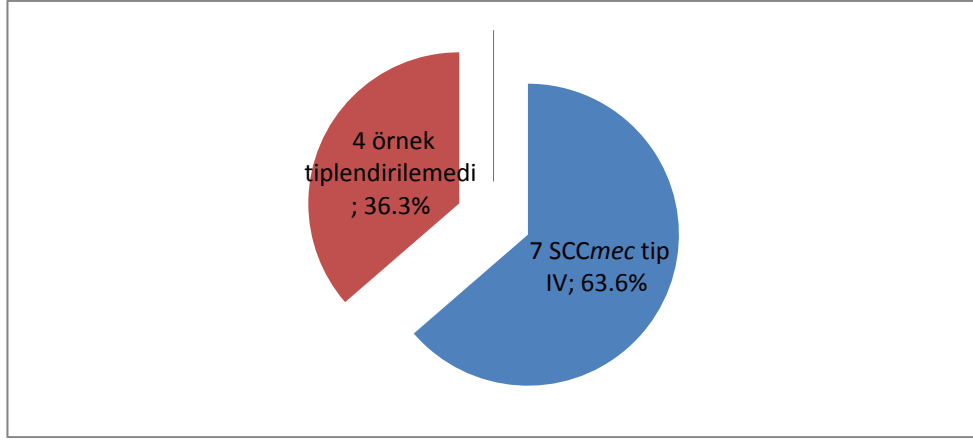
	<i>S. aureus</i> taşıyıcılığı			MRSA taşıyıcılığı	
Yaş Grubu	n	n	%	n	%
20-29	157	8	%5.0	4	%2.8
30-39	214	18	%8.4	4	%1.8
40 ve üzeri	43	6	%13.9	3	%6.9

SCCmec Tiplendirmesi

mecA geni pozitif olan 11 MRSA suşunun SCCmec tipi, Oliviera ve ark. tarafından kullanılan multipleks PZR metodu ile araştırıldı (116b). *mecA* ve *dcs* gen amplifikasyon ürünleri belirlenen 7 *S.aureus* izolatının SCCmec tip IV olduğu belirlendi. Sadece *mecA* ürünü saptanan 3 izolat ve *mecA* ürünü ile birlikte sadece 495bp ürün bulunduran bir izolatın SCCmec tipi belirlenemedi (Şekil 9, 10).



Şekil 9: SCCmec tipleri: M, marker; sıra 1-7, tip IV; sıra 8-11 tiplendirilemeyen suşlar



Şekil 10. SCCmec tiplerinin dağılımı

MRSA SCCmec tiplerinin alındığı personele ait özelliklerin dağılımı Tablo 7, 8, 9 ve 10’da sunulmuştur.

Tablo 7: SCCmec tiplerinin servislere göre dağılımı

Üniteler	SCCmec tip IV		Tiplendirilemeyen	
Yoğun bakım üniteleri	4	%57	2	%50
Kadın doğum servisi	1	%14.2	1	%25
Ameliyathaneler	2	%28.5	-	-
Psikiyatri servisi	-		1	%25

Tablo 8: SCCmec tiplerinin yaşlara göre dağılımı

Yaş grubu	SCCmec tip IV		Tiplendirilemeyen	
20-29	2	%28.5	2	%50
30-39	4	%57.1	-	-
40 ve üzeri	1	%14.2	2	%50

Tablo 9: SCCmec tiplerinin meslek gruplarına göre dağılımı

MESLEK	SCCmec tip IV			Tiplendirilemeyen	
	n	n	%	n	%
Doktor	101	3	% 2.9	-	-
Hemşire	176	2	% 1.1	2	% 50
YSP	137	2	% 1.4	2	% 50

Tablo 10: SCC*mec* tiplerinin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	SCC <i>mec</i> tip IV			Tiplendirilemeyen	
	n	n	%	n	%
Kadın	247	2	% 0.8	3	%1.2
Erkek	167	5	%2.9	1	%0.5

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nazal *S.aureus* taşıyıcılığı gerek toplum kaynaklı, gerekse hastane kaynaklı stafilokokal enfeksiyonların oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Birçok hastanede endemik hale gelmiş olan MRSA için kaynak genelde kolonize veya enfekte olan hasta ya da sağlık çalışanları olmaktadır (68).

S. aureus, hastane ortamında yoğun olarak bulunabilmekte ve hastane personeline kolonize olarak vücudun çeşitli bölgelerinde taşınabilmektedir. Bu ise, mikroorganizmanın hem vücudun başka bölgelerine, hem de hastalar arasında yayılmasına ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (2, 38, 69, 78).

S.aureus taşıyıcılarının hem kendileri hem de çevrelerindeki kişiler için potansiyel enfeksiyon kaynağını oluşturdukları bilinmektedir (113). Taşıyıcı sağlık personelinin *S. aureus*'un hastane içi yayılımındaki rolü pek çok çalışmada ortaya konmuştur (69, 70).

S. aureus, başta burun ve deri olmak üzere perine, aksilla, nazofarinks, vajen ve rektumda kolonize olmakta, taşıyıcılık oranları yetişkinlerde %20-40'ı bulabilmektedir (52). Fakat taşıyıcılığının en sık olduğu bölge burundur (2, 38, 53, 54).

Burunda *S. aureus* taşıyıcılığı prevalansı, çalışılan popülasyona göre değişkenlik gösterebilmektedir. Taşıyıcılık oranları yaş, ırk, cinsiyet, antibiyotik kullanımı, hastanede yatış öyküsü, altta yatan hastalıkların varlığı (diyabet, hemodiyaliz hastaları, vb.), nazogastrik tüp ve kateter mevcudiyeti, hijyenik alışkanlıklar ve giyim tarzı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Sağlık personeli doktorlar, hemşireler, hasta bakıcılar, intravenöz ilaç kullananlar, uyuşturucu madde bağımlıları, dermatolojik hastalığı olanlar (ekzama gibi) ve HIV pozitif hastalarda taşıyıcılık oranları genel popülasyona göre daha yüksek bulunmaktadır.

Ayrıca, taşıyıcı kişilerin aile bireylerinde de taşıyıcılık daha yaygın görülmektedir (19, 55, 56, 57).

Creech ve arkadaşları 2001 ve 2004 yıllarında, ABD’de aynı popülasyonda sağlıklı gönüllülerde *S. aureus* taşıyıcılığı oranlarını sırasıyla %29.0 (145/500) ve %36.4 (182/500) olarak bulmuştur. Bu çalışmalarda, *S. aureus* taşıyıcılığında yıllar içerisinde görülen artış dikkat çekicidir (114). Kuehnert ve arkadaşları (2006) ABD’nde %32.4 (2916/9622), Fluegge ve ark. (2006) Almanya’da %25.8 (489/1895), Leman ve ark. (2004) ABD’de %27.3 (128/469), Hisata ve arkadaşları (2005) Japonya’da %28.2 (231/818) olarak bulmuşlardır (115, 116, 117, 118). Erdenizmenli ve ark. (2004) 500 sağlıklı gönüllü üzerinde yaptıkları çalışmada 42’si (%8.4) burundan, 8’i (%1.6) koltuk altından ve 5’i (%1.0) hem burun hem de koltuk altından olmak üzere toplam 55 *S. aureus* izole etmişlerdir (119). Soysal ve ark. (2006) ise 1000 sağlıklı gönüllü üzerinde yaptıkları çalışmada 169’u (%16.9) burundan, 3’ü (%0.3) perineden ve 1’i (%0.1) hem burun hem de perineden olmak üzere toplam 173 *S. aureus* izole etmişlerdir (120). Çalışmalarda nazal *S.aureus* taşıyıcılığı anlamlı bir şekilde yüksek çıktığından çalışmamızda nazal sürüntü örnekleri kullanıldı (119, 120).

S. aureus taşıyıcılığı ile meslek grupları arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Sağlık kurumlarında çalışan sağlık personelinde *S. aureus* taşıyıcılığı, diğer meslek gruplarında çalışanlara göre daha yüksek oranlarda bildirilmektedir. Kampf ve ark. (2003) Almanya da üç hastanede toplam 447 sağlık personelinde nazal *S. aureus* kolonizasyonunu %33.8 (151/447) olarak bildirmiştir (121). Shopsisin ve arkadaşlarının (2000) New York da yaptığı çalışmada, *S.aureus* taşıyıcılığını %32 olarak bulmuştur (54). Şenol ve arkadaşlarının İzmir’de ameliyathane ve postoperatif yoğun bakım ünitelerinde çalışan 62 sağlık personelinde yaptığı nazal *S.aureus* taşıyıcılığını %29 olarak bulmuştur (122). Demirdal ve arkadaşlarının (2006) Afyon da yaptığı çalışmada *S.aureus* taşıyıcılığını %4.8 (9/189) olarak bulmuştur (123). Erdenizmenli ve arkadaşlarının (2004) İzmir de yaptığı çalışmada, hastanelerde çalışan 102 sağlıklı bireyde *S. aureus* taşıyıcılığını %8.8 (9/102) olarak bildirmiştir (119).

Bizim çalışmamız ise 414 sağlıklı gönüllü sağlık çalışanı üzerinde yürütüldü ve 34’ünde (%8.2) *S. aureus* suşu izole edildi. Elde edilen veri Erdenizmenli ve

arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonucu ile benzerdir. Ancak ülkemize ait yüksek ve daha düşük oranlara rastlanmaktadır (122, 123). Bu durum, hastanelerin personelinin taşıyıcılık durumunu bilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Zira; veri, enfeksiyon kontrol önlemlerini almada destekleyici olarak kullanılabilir.

Burunda *S.aureus* kolonizasyonu saptanan hastane personeli önemli bir bulaş kaynağı durumundadır. Özellikle yoğun bakım üniteleri gibi kritik bakım alanlarında MRSA enfeksiyonlarının yayılmasında hastane personeli birinci derecede sorumludur. Yapılan çalışmalarda *S.aureus* burun ve el taşıyıcısı olan personel ve doktorların epidemi kaynağı olabilecekleri gösterilmiştir (124). Po-Liang Lu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, toplumdan 1838 kişi ve 393 hastane çalışanından burun sürüntüsü kültürü alınarak nazal *S. aureus*, MRSA taşıyıcılığı ve risk faktörleri araştırılmıştır. *S. aureus* taşıyıcılığının toplumda (%25.2) hastane çalışanlarından (%19.1) daha yüksek olduğu tespit edilmiş fakat hastane çalışanlarında MRSA oranının (%7.63) toplumda ise (%3.5) olarak bulunmuştur (125).

Sağlık personeli doktorlar, hemşireler, hasta bakıcılar, intravenöz ilaç kullananlar, uyuşturucu madde bağımlıları, dermatolojik hastalığı olanlar (ekzama gibi) ve HIV pozitif hastalarda taşıyıcılık oranları genel popülasyona göre daha yüksek bulunmaktadır. Ayrıca, taşıyıcı kişilerin aile bireylerinde de taşıyıcılık daha yaygın görülmektedir (19, 55, 56, 57). Dimitrov ve arkadaşlarının (2003) Kuveyt'te yaptıkları çalışmada sağlık çalışanlarında nazal ve boğaz MRSA taşıyıcılığını, doktorlarda %21, hemşirelerde %14.4 olarak bulmuştur (126). Öncül ve arkadaşları (2002) İstanbul'da 495 sağlık personelinde nazal *S. aureus* kolonizasyon oranlarının doktorlarda %10.6 (15/141), hemşirelerde %16,6 (35/211) ve diğer sağlık personelinde %19.6 (28/143) olmak üzere, toplam %15.8 (78/495) olarak bildirmiştir (127). Naz ve arkadaşları (2006) Eskişehir de 500 sağlık personelinde nazal *S. aureus* kolonizasyon oranlarının doktorlarda %14.0 (14/100), hemşirelerde %11.1 (21/190) ve diğer sağlık personelinde %16.2 (34/210) olmak üzere, toplam %13.8 (69/500) olarak bildirmiştir (128). Oğuzkaya ve arkadaşlarının Erciyes de 136 sağlık personelinde nazal kolonizasyon oranlarının doktorlarda %11.8 (2/17), hemşirelerde %12.5 (4/32) ve diğer sağlık personelinde %14.8 (12/81) olmak üzere, toplam %13.2 (18/136) olarak bildirmiştir (129). Demirdal ve arkadaşları (2006) Afyon da 189 sağlık personelinde nazal

kolonizasyon oranlarının doktorlarda %30.0 (33/110), hemşirelerde %33.9 (20/59) ve diğer sağlık personelinde %30.0 (6/20) olmak üzere, toplam %31.2 (59/189) olarak bildirmişlerdir (123). Caner ve arkadaşlarının çalışmasında; nazal *S. aureus* taşıyıcılığı hemşireler, doktorlar ve yardımcı sağlık personelinde sırası ile %19.6, %28.8 ve %31.8 olarak bulunmuştur (130).

Bizim çalışmamızda ise doktorlarda %9.9 (10/101), hemşirelerde % 6.2 (11/176), yardımcı sağlık personelinde ise %9.4 (13/137) olarak bulunmuştur. Çalışmada genel olarak bakıldığında diğer çalışmalarla uyumlu şekilde hemşirelerde taşıyıcılık daha düşük bulunmuştur.

Taşıyıcılık beyaz ırkta, erkeklerde ve yaşlılarda daha yaygındır. Erişkin kadınlarda vajinal taşıyıcılık oranı diğer yaş gruplarına göre artış göstermektedir (58). Kuehnert ve arkadaşları (2006) ABD de yaptıkları çalışmada *S. aureus* taşıyıcılığını erkeklerde %37.0 (1733/4685), kadınlarda ise %28.0 (1382/4937) olarak bildirmiştir (115). Kenner ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmada *S. aureus* taşıyıcılığını erkeklerde %43.6 (90/534), kadınlarda ise %17.8 (83/466) olarak bildirmiştir (131). Soysal ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları çalışmada *S. aureus* taşıyıcılığını erkeklerde %16.9 (95/218), kadınlarda ise %31.4 (58/185) olarak bildirmiştir (132).

Bizim çalışmamızda ise *S. aureus* taşıyıcılığı erkeklerde %12.5 (21/167), kadınlarda ise %5.2 (13/247) olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da Kenner ve Kuehnert'in çalışmasındaki gibi *S. aureus* taşıyıcılığı erkeklerde kadınlardan daha yüksek çıkmıştır. Erkeklerde taşıyıcılığın kadınlara oranla daha yüksek çıkması, kadınların el yıkama gibi temel hijyenik kurallara daha fazla dikkat ettiğini göstermektedir. Bunun yanı sıra diğer hijyenik alışkanlıklar, çalışma mekan ve koşullar, giyim alışkanlıkları, beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktiviteler, sigara ve alkol kullanımı, uzun süreli toplu yerlerde bulunma, sosyoekonomik durum gibi çeşitli faktörler, kadın ve erkeklerde taşıyıcılık oranları arasındaki farkları açıklayabilecek niteliktedir.

Metisilin direnci özellikle hastane kaynaklı suşlarda oldukça yaygın olarak görülmektedir. Metisiline dirençli *S.aureus*'lar (MRSA) birçok antibiyotiğe dirençli

oldukları gibi salgınlara neden olabilmekte ve MRSA'ya bağılı olarak gelişen enfeksiyonların tedavilerinin sorun yarattığı bilinmektedir (36, 120). Kampf ve arkadaşları (2003) Almanya'da üç hastanede toplam 447 sağıık çalışanın nazal MRSA kolonizasyonunu %0.7 (3/447) olarak saptamışlardır (121). Elie Turenne ve arkadaşlarının sağıık çalışanları üzerinde yaptığı çalışmada 256 sağıık çalışanından 112 (43.8%) sinde *S. aureus* taşıyıcılığı, MRSA taşıyıcılığı ise 17 (6.6%) olarak bulunmuştur (125). Ülkemizde, çeşitli hastanelerde yapılan çalışmalarda sağıık personelinde nazal MRSA taşıyıcılık oranının %3.7–10.6 arasında değiştiğı bildirilmiştir (130). Ülkemizde yapılan araştırmalarda hastane çalışanlarında nazal MRSA kolonizasyonunu Cesur ve arkadaşları (2002) Ankara da %6.0 (30/500) olarak bulmuştur (133). Durmaz ve arkadaşlarının çalışmasında sağıık personelinde toplam nazal *S. aureus* taşıyıcılığı %32, MRSA taşıyıcılığı ise % 11 olarak bildirilmiştir (134). Erdenizmenli ve arkadaşları (2004) İzmir de yaptığı çalışmada nazal MRSA kolonizasyonunu %1.0 (1/102) olarak bulmuştur (119). Kocazeybek ve arkadaşlarının 400 hastane personelinde burun portörlüğü araştırdığı çalışmasında 39 MSSA ve 6 MRSA saptamışlardır (135). Mutlu ve arkadaşları, Kocaeli Tıp Fakültesinde yaptıkları çalışmada nazal *S. aureus* taşıyıcılığını %14.4, MRSA taşıyıcılığını ise %3.7 olarak bulmuşlardır (136). Öncül ve arkadaşları (2002) İstanbul da %2.4 (12/495) olarak bulmuştur (127). Kaleli ve arkadaşları, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesinde yaptıkları çalışmada hastane personelinde nazal *S. aureus* taşıyıcılığını %29.2, MRSA taşıyıcılığını ise %16 olarak bulmuşlardır (137).

Bizim çalışmamızda MRSA nazal taşıyıcılığı ise sağıık çalışanlarında %2.7 olarak saptanmıştır. Bu oran ülkemize ait verilerden genel olarak daha düşük olmakla birlikte enfeksiyon kontrol önlemlerini alınması, personel eğitimi gibi çalışmaların daha da önemsenmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Hastane personeli özellikle de doktor ve hemşirelerde, toplumdan daha yüksek oranda *S. aureus* ve MRSA taşıyıcılığı mevcuttur (69, 138). Değişik çalışmalarda metisilin direncli *S. aureus* salgınlarından infekte veya taşıyıcı sağıık personellerinin sorumlu olduğu bildirilmektedir (71, 72). Demirdal ve arkadaşları ayrıca MRSA taşıyıcılığının doktorlarda %2.7 ve hemşirelerde %10.2 olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda nazal MRSA taşıyıcılığı doktorlarda %2.9 (3/10), hemşirelerde %2.2

(4/11), yardımcı sağlık personelinde ise %2.9 (4/13) olmak üzere toplam %2.6 (11/34) olarak bulunmuştur. Caner ve arkadaşlarının çalışmasında; nazal *S. aureus* taşıyıcılığı hemşireler %19.6, doktorlar %28.8 ve yardımcı sağlık personelinde %31.8 olarak bulunmuştur. Hastane personelinde nazal MRSA taşıyıcılığı klinikte görevli personelde %10.6, klinik dışında görevli personelde ise %7.1 olarak bildirilmiştir (139).

S. aureus taşıyıcılığı için yaş'ın önemli bir risk faktörü olduğunu, 20 yaş altı ve 71 – 80 yaş arasında yüksek oranda *S. aureus* taşıyıcılığı olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada yakın zamanda gastrointestinal rahatsızlığı olanların ve hastanede uzun süre yatan hastaların MRSA kolonizasyonu için risk faktörü olduğu gösterilmiştir (140). Shopsis ve arkadaşlarının (2000) New York da yaptığı çalışmada, beş yüz kişiden yalnızca 1'inde TK-MRSA taşıyıcılığı izole ediliyor. Bu taşıyıcı sıklıkla hastanede kalan ve aynı zamanda antibiyotik kullanan 5 yaşında bir kız çocuğu olduğu görülüyor (54).

Sağlıklı popülasyonda MRSA'nın nazal taşıyıcılık sıklığı, MSSA taşıyıcılığına göre daha düşüktür (12). Ülkemizde, çeşitli hastanelerde yapılan çalışmalarda sağlık personelinde nazal MRSA taşıyıcılık oranının %3.7–10.6 arasında değiştiği bildirilmiştir (66, 139, 141). Caylan ve arkadaşlarının çalışmasında; 278 hastane personelinde alınan burun sürüntüsünde genel *S. aureus* taşıyıcılığı 42/278 (%15.1), MRSA taşıyıcılığı ise 11/278 (~%4) olarak bulunmuştur (141). Kurutepe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada toplam 483 hastane personelinin 176 (%36.4)'sında *S. aureus*, 28 (%5.8)'inde ise metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) burun taşıyıcılığı saptanmıştır (142). Mert ve arkadaşları Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yoğun bakım ve ameliyathane personelinde nazal *S. aureus* taşıyıcılığını %33.1, MRSA taşıyıcılığını ise %9.2 oranında bulmuşlardır (143).

Yabancı literatürde bildirilen *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılık oranları sırasıyla %15.8-56.1 ve %2.0-8.5 arasında değişmektedir (19, 125, 144).

Bizim çalışmamızda ise MRSA nazal taşıyıcılığı ise, doktorlarda %2.9, hemşirelerde %2.2, yardımcı sağlık personelinde ise %2.9 olarak saptanmıştır.

SCCmec TK-MRSA ve HK-MRSA suşlarının ayırımında oldukça önemli bir özelliktir. SCCmec I-II-III taşıyan suşlar HK-MRSA olarak, SCCmec tip IV taşıyan suşlar ise TK-MRSA olarak kabul edilmektedir (23, 24, 26, 27). Gonzalez ve arkadaşları (2005) ABD’nde 12 TK-MRSA suşunun hepsini SCCmec tip IV olarak tanımlamıştır (145). Patel ve arkadaşları (2008) 58 TK-MRSA suşunun 36’sını (%62.0) SCCmec tip IV, 15’ini (%26.0) tip II olarak tanımlamış, 7’sini (%12.0) tiplendirememişlerdir (146). Hisata ve arkadaşları (2005) 44 TK-MRSA suşunun 30’unu (%68.1) SCCmec tip II ve 14’ünü (%31.9) tip IV olarak tanımlamıştır (118). Frazee ve arkadaşları (2005) 85 TK-MRSA suşunun 84’ünü (%98.8) SCCmec tip IV ve birini (%1.1) tip II olarak tanımlamıştır (147). Harbarth ve arkadaşları (2005) 13 TK-MRSA suşunun 10’unu (%76.9) SCCmec tip IV, ikisini (%15.4) tip V ve birini (%7.7) tip II olarak tanımlamıştır (148). Karapsias ve arkadaşları (2008) dokuz TK-MRSA suşunun hepsini (%100) SCCmec tip IV olarak tanımlamışlardır (149). Anna Shore ve arkadaşlarının (2005) İrlanda da yaptıkları çalışmada SCCmec I oranı %5.8, SCCmec oranı II %17.4, SCCmec III oranı %5.2, SCCmec IV oranı ise %19.8 olarak bulunmuştur (116). Türkiye de TK-MRSA ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır ve henüz epidemiyolojisi hakkında yeterli bilgi mevcut değildir (150). Mert ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kan kültürlerinden izole edilen tüm MRSA suşları sadece SCCmec III tipini barındırmıştır (130).

Bizim çalışmamızda genotipik metisilin direncini incelemek amacıyla, izole edilen 34 *S. aureus* suşunda PZR ile *mecA* geni arandı. *mecA* geni pozitif bulunan 11 MRSA suşunun SCCmec tipleri araştırıldı. Bu 11 MRSA suşunun 7’si (%63.6) tip IV olarak tayin edilirken, diğer 4 (%36.3) MRSA suşunda *mecA* geni pozitif olmakla birlikte SCCmec geninin tipi mevcut SCCmec tipleri arasında sınıflandıramadı. PZR yöntemiyle yapılan bazı çalışmalarda tiplendirilemeyen MRSA suşlarıyla karşılaşılmıştır (146). Bununla birlikte tiplendirilen tüm suşların tip IV çıkması personelin daha çok toplum kökenli MRSA suşu taşıdığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar SCCmec tip IV taşıyan MRSA klonlarının metastatik hastalık yapmaya eğimli olmalarıyla birlikte daha az mortalite nedeni ve sadece β -laktam direnci taşımaları nedeniyle daha tedavi edilebilir hastalıklar oluşturdukları bilinmektedir (27, 28).

8. SONUÇLAR

Bu çalışmada, sağlık çalışanlarında nazal *S.aureus* taşıyıcılığı %8.2; MRSA taşıyıcılığı %2.7 olarak belirlenmiştir. Beklendiği şekilde taşıyıcılık oranı kadın cinsiyet grubunda erkeklere göre, hemşirelerde doktor ve yardımcı sağlık personeline göre, gençlerde orta ve üst yaş grubunda olanlara göre daha düşük bulundu. Ayrıca, klinik servislerde çalışanlarında ameliyathane ve yoğun bakım çalışanlarına göre taşıyıcılık oranı daha düşük bulunmuştur.

Toplam 11 MRSA izolatından 7'si toplum kökenli ve daha az antibiyotik direncine sahip klon olan SCCmec tip IV olarak bulundu.

Sonuç olarak, hastane ortamında stafilokok enfeksiyonlarıyla sık karşılan durumlarda *S. aureus* ve MRSA taşıyıcılığının belirlenmesi, etkin enfeksiyon kontrol yöntemlerinin uygulanmasında atılacak ciddi bir adım olarak kabul edilmelidir. Ayrıca taşıyıcı personelin saptanması, eğitimi, kontrolü ve bunların daha az hasta temasını gerektiren yerlerde istihdam edilmesi, göz önünde bulundurulması gereken önemli yaklaşımlardır.

KAYNAKLAR

1. Bannerman TL (2003). *Staphylococcus, Micrococcus* and Other Catalase Positive Cocci that Grow Aerobically. In: Manual of Clinical Microbiology. 8th Ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover MC, Washington DC: ASM Press, 384-404.
2. Çetinkaya Y, Ünal S (1999). Stafilocok nazal taşıyıcılık: Önemi ve Tedavi. Hastane Enfeksiyonları Dergisi; 3:22-32.
3. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, et al (1994): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis;13(1):50-5.
4. Boyce JM (1994). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A continuing infection control challenge. Eur J Clin Microbiol Infect Dis;13(1):45-9.
5. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A (1999). The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. Emerg Infect Dis;5(1):9-17.
6. Metisilin dirençli stafilocok enfeksiyonları (2000). Klinik Dergisi cilt 13, özel sayı;26-27.
7. Peters G, Von Eiff C, Herrmann M (1995). Update in staphylococcal infections, the changing pattern of coagulase -negative staphylococci as infectious pathogens. Curr Opin Infect Dis: 8 (suppl 1): 12-19.
8. Schito GC, Auckenthaler R, Marchese A, Banerfeind A (1999). European survey of glycopeptide susceptibility in *Staphylococcus* spp. Clin Microbiol infect; 5:547-553.
9. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirret S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB (1997). The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis;24:584-602.
10. Çetinkaya Y, Ünal S (1996). Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonları. Flora;1 (ek 3): 3-16 .

11. Vankomisin ile rifampisin, amikasin, siprofloksasin ve imipenem kombinasyonlarının *staphylococcus aureus* suşlarına in vitro sinerjik etkisi Klinik Dergisi cilt 11, sayı 3. 1998;109-111.
12. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, Standifordn HC, JohnJF, Korvick JA, Kaufman CA, Yu VL (1993). Metisilin resistant *staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, patogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. Am J Med;94:313-328.
13. Boyce JM (1992). Metisilin resistant *staphylococcus aureus* in hospitals and long-termcare facilities: Microbiology, epidemiology and preventive measures. Infect Control Hosp Epidemiol; 13: 725 –737.
14. Corcoran GD (1997). Carriage of Metisilin resistant *staphylococcus aureus* and the environment J Hosp Infect;37:74-5.
15. Boyce JM (1991). Should we vigorously try to contain and conyrol Metisilin resistant *staphylococcus aureus*? Infect Control Hosp Epidemiol;12:26-52
16. Dawson SJ, Barnet J, Perry C, Jones EM, Mac Gowan AP, Reeves DS (1997). Screening for EMRSA-16 in healthcare workers. J Hosp Infect;37:75-7.
17. Allen KD, Anson JJ, Person LA, Forst NG (1997). Staff carriage of Metisilin resistant *staphylococcus aureus* (EMRSA 15) and the home environment: a case report J Hosp Infect;35:307-311.
18. Sheppard MJ (1997). Control of Metisilin resistant *staphylococcus aureus*. J Hosp Infect;37:73-75.
19. Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H (1997). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms and Associated Risks. *Clinical Microbiology Reviews*, 10: 505-520.
20. Tünger A (2004). *Staphylococcus aureus*: mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed). Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri infeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 9-22.
21. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K (2000). A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes meticillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother;44:1549 -1555.

22. McDonald RR, Antonishyn NA, Hansen T, et al (2005). Development of triplex real time PZR assay for detection of panton-valentine leukocidin toxin genes in clinical isolated of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. J of Clinical Microbiology, 43:6147-9.
23. Oliviera DC, Tomasz A, de Lencastre H (2001). The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. Microb Drug Resist;7(4):349-61.
24. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K (2004). Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. Antimicrob Agents Chemother;48 (7):2637-51.
25. Gülmez D, Sancak B, Erciş S, Karakaya J, Haşçelik G (2012). Investigation of SCCmec Types and Panton-Valentine Leukocidin in Community-Acquired and Nosocomial *Staphylococcus aureus* Strains: Comparing Skin and Soft Tissue Infections to the Other Infections . Mikrobiyol Bul 2012; 46(3): 341-351.
26. Daum RS, Ito T, Hiramatsu K, Hussain F, Mongkolrattanothai K, Jamklang M, Boyle-Vavra S (2002). A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. J Infect Dis, 186(9):1344-7.
27. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, Daum RS, Hiramatsu K (2002). Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Antimicrob Agents Chemother, 46(4):1147-52.
28. Ganga R, Riederer K, Sharma M, Fakih MG, Johnson LB, Shemes S, Khatib R. (2009). Role of SCCmec type in outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in a single medical center. J Clin Microbiol., 47(3):590-5.
29. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chavalit T, Song JH, Hiramatsu K. (2006). Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCCmec) Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in 11 Asian Countries: a Proposal for a New Nomenclature for SCCmec Elements. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50: 1001- 1012.

30. Kılıç A (2008). Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*'un Moleküler Epidemiyolojisi. 5. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi. 24-28 Haziran 2008, Ankara. Kongre Kitabı, 6, 85-90.
31. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T (2001). The Emergence and Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 9: 486-493.
32. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T (2002). Molecular Genetics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 292: 67-74.
33. Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL (2006). Staphylococci and Related Gram-Positive Cocci. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins, 624-662.
34. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (2007). *Staphylococcus, Micrococcus* and Similar Organisms: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed. USA: Mosby, 254-263.
35. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (2002). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 11th edition by Mosby, Inc.
36. Kloos WE, Bonnerman TL (1999). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology, American Society of Microbiology. Washington DC, 264 – 282.
37. Ünal S, Akhan S (1996). Stafilokok Enfeksiyonları. In: Topcu AW, Soyler G, Doğanay M (ed'ler). Enfeksiyon Hastalıkları Kitabı. Birinci baskı, Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul; 773–781.
38. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (1992). Staphylococcus. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology. Twentieth edition, Appleton and Lange, New York, 401-416.
39. Waldvogel FA (2000). *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition. Churchill Livingstone, New York, 2069 –2091.

40. Kloss WE, Schleifer KH (1986). Staphylococcus. In: Sneath PH, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). Bergery's Manual of Systematic Bacteriology volume 2. Williams - Wilkins Baltimore, 1013 –1035.
41. Koneman, EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL (2006). Medical Bacteriology: Taxonomy, Morphology, Physiology, and Virulence. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins, 167-207.
42. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (2007). Laboratory Methods and Strategies For Antimicrobial Susceptibility Testing: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed. USA: Mosby, 187-214.
43. Koneman EW (1997). The Gram-positive cocci Part 1: Staphylococci and related organisms. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth edition, Lippincott Company, Philadelphia, 539 –576.
44. Archer GL (2000). *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. In: Mandel G, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth Edition, Churchill Livingstone, New York, 2092–2099.
45. Bilgehan H (1990). Stafilocoklar. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir; 184 – 204.
46. Sheren JN, Schoberg DR (1990). Staphylococci In: Orbach SL, Barlett J, Blacklow NR. Infectious disease W.B. Saunders Company, Philadelphia: 1395 –1401.
47. Bozkaya E (2005). Tıbbi mikrobiyoloji 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1-10.
48. Jawest E, Melnick JL, Adelberg EA (2007). Tıbbi Mikrobiyoloji. Akman M, Gülmezoğlu E (Ed.) Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 277-84.
49. Devren A (2004). Çeşitli ürünlerden izole edilen *Staphylococcus aureus*'un gelişim üzerine Ph, NaCl ve Potasyum Sorbat'ın etkisi (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

50. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. In : Hensley W (Ed.). characteristics differentiating the species and subspecies of the genus *Staphylococcus*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 544-51.
51. Lowy DF (1998). *Staphylococcus aureus*. N. Engl J Med;339:520-532.
52. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC JR (2006). Color Atlas and Textbook of diagnostic Microbiology, 6th ed. Lippincott, 623-71.
53. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E (1982). Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic Observations During a Community-Acquired Outbreak. *Annals of Internal Medicine*, 96: 11-16.
54. Casewell MW, Hill RLR (1986). The carrier state: Metisilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrob Chemother*;18, suppl A: 1 – 12.
55. Shopsin B, Mathema B, Martinez J, Ha E, Campo ML, Fierman A, Krasinski K, et al (2000). Prevalance of methicillin -resistant and methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Dis*;182: 359–362.
56. Bradley, S.F. (1992). Methicillin Resistant *S. aureus* Infections. *Clinics in Geriatric Medicine*, 8: 853-868.
57. Moreno F., Crisp C, Jorgensen, JH, Patterson JE (1995). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* as a Community Organism. *Clinical Infectious Diseases*, 21: 1308- 1312.
58. Kluytmans JA, Wertheim HF (2005). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Prevention of Nosocomial Infections. *Infection*, 33: 3-8.
59. Eriksen NH, Hartzen SH, Bangsberg J, Andersen LP, Rosdahl VT, Espersen F (1994). Changing patterns among the subgroups of strains of *Staphylococcus aureus* of phage group II in Danish hospitals from 1961-91. *Epidemiol Infect.* Feb;112(1):81-92.
60. Wertheim HFL, Melles, DC, Vos MC, Leeuwen WV, Belkum AV, Verbrugh HA, Nouwen JL (2005). The Role of Nasal Carriage in *Staphylococcus aureus* Infections. *Lancet Infectious Diseases*, 5: 751-762.

61. Tünger A (2004). *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara:9-68.
62. Cengiz AT (1999). *Staphylococcus*. Ustacebeli S (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara Güneş Kitabevi Ltd Sti, 339-348.
63. Grundmann H, Aanensen DM, Vanden Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, A.W (2010). Friedrich Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis PLoS Med, 7 p. e1000215.
64. DeLeo FR, Chambers HF (2009). Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era J Clin Invest, 2464–2474.
65. Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Grundmann H, (2011). Study Group Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections Antimicrob Agents Chemother, 55, 1598–1605.
66. Reagen DR, Doebbeling BN, Pfaller MA, Sheetz CT, Houston AK, Hollis RJ, Wenzel RP (1991). Elimination of coincident *Staphylococcus aureus* nasal and hand carriage with intranasal application of mupirocin calcium ointment . Ann Intern Med; 114: 101–106.
67. Caner H (1998). Ankara Hastanesi personelinde nazal *Stafilokok aureus* taşıyıcılığı. Ankara Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi:1–38.
68. Goldman DA (1992). Epidemiology of *Staphylococcus aureus* and *Group A Streptococci*. In: Jhon V. Bennett (eds). Hospital Infections. 3 rd edition Little Brown and Company, 767 –783.
69. Öncül A (2006).Toplumda ve hastanede edinilmiş nazal stafilokok taşıyıcılığında risk faktörleri ve direnç durumlarının karşılaştırılması (tez). İstanbul: Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
70. Thornsberry C (1994). Epidemiology of staphylococcal infections: A USA perspective. J Chemother; 6 (suppl 2): 61 –65.
71. Reboli AC, Jhon JF, Platt CG, Cantey JR (1990). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak at a Veterians Affairs Medical Center: importance of carriage of the organism by hospital personnel. Infect Control Hosp Epidemiol; 11: 291–296.

72. Emmerson M (1994). Nosocomial staphylococcal outbreaks. Scand J Infect Dis 93(Suppl):47.
73. Coello R, Jimenez J, Garcia M et al (1994). Prospective study of infection, colonization and carriage of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* an outbreak affecting 990 patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13: 74.
74. Dündar V, Öztürk Dündar D. Stafilokok İnfeksiyonları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1507-1516.
75. Ruben FL, Norden CW (1991). Staphylococcal infections. In: Evans AS, Brachmans PS (eds). Bacterial İnfections of Humans. 2 nd edition New York and London: Plenum Medical Book Company, 621–637.
76. Boyce JM, White RL, Causey WA, Lockwood WR (1983). Burns units as a source of metisilin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. JAMA; 249: 2803 – 2807.
77. Martin RR, Buttram V, Bosch P, et al (1982). Nasal and vaginal *Staphylococcus aureus* in young women: Quantitative studies. Ann Intern Med, 96:951.
78. Moreillon P, Que Y, Glauser MP (2005). *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock) In: Mandell GL, Bennett, JE, Dolin, R. Principles and Practice of Infectious Disease. 6th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2321-2351.
79. Kutlu S (2006). *S.aureus* suşlarında metisilin direnci ve e-test ile vankomisin MIC değerlerinin araştırılması (uzmanlık tezi). İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
80. Adesiyum AA, Shehu LM (1985). Detection of Staphylocoagulase using plasmas from various animals. Vet Microbiol, 10:387-92.
81. Goldstein J, Roberts JW (1982). Microtube coagulase test for detection of coagulase-positive Staphylococci. J Clin Microbiol, 15(5):848-51.
82. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger P, Woods G (2006). Gram-Positive Cocci. İçinde: Washington C. Winn Jr. (ed). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6. Baskı. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 623-671.

83. Franklin, DL. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine*, 339: 520-532.
84. Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane S, Oono T (2006). Staphylococcal Cutaneous Infections: Invasion, Evasion and Aggression. *Journal of Dermatological Science*, 42: 203- 214.
85. Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A (2006). *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38: 504-509.
86. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (2005). *Staphylococcus* and Related Organisms. In: Medical Microbiology. 5th Ed. USA: Mosby, 175-189.
87. Tristan A, Ferry T, Durand G, Dauwalder O, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Etienne J (2007). Virulence Determinants in Community and Hospital Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection*, 62: 105- 109
88. Strausbaugh LJ (1993). Toksik shock syndrome. *Post Grad Med*; 94(6):107.
89. Cengiz AT (1999). *Staphylococcus*. Ustaçelebi Ő. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara. 339-46.
90. Bilgehan H (2000). Stafilokoklar. Klinik Mikrobiyoloji zel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları. İzmir. 239-68.
91. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, eds (2009). *Medical microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby.
92. nal S (2009). MRSA problemi. *ANKEM Derg*; 23(Ek 2):1-12.
93. etin ET, Anđ  (1962). Staphylococci resistant to methicillin. *Br Med J*;2:51.
94. Verhoef J, Schmitz FJ (1999). Staphylococci and the micrococaceae. Armstrong D, Cohen J (ed) : *Infectious Diseases*, 8.13.1, Mosby-Harcourt Publishers Ltd, London.
95. Shukla SK (2005). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and its Emerging Virulence. *Clinical Medicine and Research*, 3: 57-60.

96. Katayama Y, Ashley Robinson D, Mark CE (2005). Genetic Background Affects Stability of *mecA* in *S. aureus* J.Clin.Microbiol, 43:2380-2383
97. Hackbarth CJ, Kocagoz T, Kocagoz S, Chambers HF (1995). Point mutations in *Staphylococcus aureus* PBP 2 gene affect penicilin binding kinetics and are associated with resistance. Antimicrob Agents Chemother 39: 103– 106.
98. Ünal S (1996). Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizması ve metisilin direnç tespit yöntemleri. Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi; 1: 13–17.
99. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN (2007). Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility. Clinical and Laboratory Standarts Institute. 17th Ed. *Informational Supplement*, 27: 44-51.
100. Sancak B (2007). *Staphylococcus aureus*'ta Metisilin ve Vankomisin Direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 38: 127-134.
101. Martin-Lopez JV, Diez-Gil O, Morales M, Batiska N, et al (2004). Simultaneous PZR detection of *ica* cluster and methicillin and mupirocin resistance genes in catheter-isolated *Staphylococcus*. *International Microbiology*. 7:63-66.
102. Stephens AJ, Huygens F, Imman-Bamber J, et al (2006). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotyping using a small set of polymorphisms. *J of Medical Microbiology*, 55.43-51.
103. Kwon NH, Park KT, Moon JS, et al (2005). *Staphylococcus* cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization and molecular analysis for methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* and novel SCC*mec* subtype IVg isolated from bovine milk in Korea. *J of Antimicrobial Chemotherapy*. 56:624-32.
104. Coudron PE, Jones DL, Dalton HP, Archer GL (1986). Evaluation of laboratory tests for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *J Clin Microbiol*, 24: 764-769.
105. Deplano A, Struelens MJ (1988). Nosocomial infections caused by staphylococci. In: Woodford N, Johnson AP, *Molecular Bacteriology*. HP, New Jersey, 431-468.
106. Ünal S (1997). Stafilokoklarda metisilin direnci. In: Gür D, Söyletir G, Bal Ç ve ark. (ed'ler). *Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, 33;72-76.

107. Ünal S, Werner K, DeGirolami P, Barsanti F, Eliopoulos G (1994). Comparison of detection of methicillin-resistant *S.aureus* in a clinical microbiology laboratory. *Antimicrobial Agent Chemother*, 38: 345-347.
108. Leeuwen WB, Pelt C, Luijendijk AD, Verbrungh HA, Goessens HF (1999). Rapid detection of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* isolates by the MRSA-screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol*, 37:3029-3030.
109. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersa E (2006). Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*; 368 (9538:874-85).
110. Shore A, Rossey AS, Keane CT, Enright MC, Coleman DC (2005). Seven novel variants of the staphylococcal chromosomal cassette *mec* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Ireland. *Antimicrob Agents Chemother*.49(5):2070-83.
111. Melo SC, Pungartnik C, Cascardo JC, Brendel M (2006). Rapid and efficient protocol for DNA extraction and molecular identification of the basidiomycete *Crinipellis perniciosus*. *Genet Mol Res*. 14;5(4):851-5.
112. Oliveira DC, Lencastre H (2002). Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the *mec* Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* *Antimicrob Agents Chemother*. 46(7):2155–2161.
113. Gürler N, Töreci K ((1990). Stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi ve yarattığı sorunlar. *Infeks Derg*; 4: 699-716.)
114. Creech CB, Kernodle DS, Alsentzer A, Wilson C, Edwards KM (2005). Increasing Rates of Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Healthy Children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 24: 617-621.
115. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McCallister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC (2006). Prevalence of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in the United States, 2001-2002. *Journal of Infectious Diseases*, 193:169-171.
116. Fluegge K, Adams B, Volksbeck UL, Serr A, Henneke P, Berner R (2006). Low Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a Southwestern Region of Germany. *European Journal of Pediatrics*, 165: 688-690.

117. Leman R, Alvarado-Ramy F, Pocock S, Barg N, Kellum M, Mcallister S, Cheek J, Kuehnert M (2004). Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an American Indian Population. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25: 121-125.
118. Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamanoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, Baba T, Terasaw M, Sotozono C, Kinoshita S, Yamashiro Y, Hiramatsu K (2005). Dissemination of Methicillin-Resistant *Staphylococci* among Healthy Japanese Children. *Journal of Clinical Microbiology*, 43: 3364-3372.
119. Erdenizmenli M, Yapar N, Senger SS, Özdemir S, Yüce A. (2004). Investigation of Colonization with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 57: 172-175.
120. Soysal A, Sahin H, Yağcı A, Barlan I, Bakir M (2006). The Low Rate of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Turkish Children. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 59:195-196.
121. Kampf G, Adena S, Rüden H, Weist K (2003). Inducibility and Potential Role of *mecA* Gene- Positive Oxacillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* from Colonized Healthcare Workers as a Source for Nosocomial Infections. *Journal of Hospital Infection*, 54: 124-129.
122. Şenol G, Öztürk T (2003). Bir Eğitim Hastanesinin Cerrahi ve Ameliyathane Personeline *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 33:47-51.
123. Demirdal T, Demirtürk N, Altındış M (2006). Hastane Personeline Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı. *Klimik Dergisi*, 19: 25-27.
124. Çetinkaya ŞY (2000). Metisilin direncli *Staphlococcus aureus* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*; 4: 205 –217.
125. Po-Liang LU, Lien-Chun C, Chien-Fang P, Yi-Hsing C, Tyen-Po C, Ling Ma, and L. K Siu (2005). Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *staphylococcus aureus* carriage. *Journal Of Clinical Microbiology*, 132–139.
126. Mert A, Koksall F, Eroğlu C, G. Aygün, M. A (1995). Büyükbeşer ve R. Ozturk. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yoğun bakım ve ameliyathane personeline *S. aureus* taşıyıcılığı ve metisilin direnci. *Ulusal Enfeksiyon Kongresi*; 23.

127. Öncül O, Erdemoğlu A, Özsoy MF, Altunay H, Ertem Z, Çavuşlu F (2002). Hastane Personelinde Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı. *Klinik Dergisi*, 15: 74-77.
128. Naz H, Çevik FÇ, Aykın N (2006). Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi Personelinde Burunda *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı. *Ankara Dergisi*, 20:141-144.
129. Oğuzkaya-Artan M, Gülgün M, Baykan Z, Tok D (2008) Hastane Çalışanlarında *Staphylococcus aureus* Burun Taşıyıcılığı ve Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 22: 87-90.
130. Mert G, Kılıç A, Bedir O, Başustaoglu AC (2011). Clinical significance and staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures Turk J Med Sci; 41 (5): 859-865.
131. Killgore G, Tenover FC (2006). Prevalence of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in the United States, 2001-2002. *Journal of Infectious Diseases*, 193: 169-171.
132. Kenner J, O'connor T, Piantanida N, Fishbain J, Eberly B, Viscount H, Uyehara C, Hospenthal D (2003). Rates of Carriage of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 24:439-444.
133. Furuya EY, Lowy FD (2006). Antimicrobial resistant bacteria in the community setting. *Nat Rev Microbiol*; 4: 36- 45.
134. Caylan R, Aydın K, Koksall İ, Kostakoğlu U (1999). Hastanemizdeki nosokomial stafilokoklarda metisilin direncinin saptanması ve personelde MRSA taşıyıcılığı. *Mikrobiyol Bult*; 33: 163–169.
135. Cesur S, Cokça F (2002). Determination of Nasal Carriage Rates of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospital Personnel and in the Community. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 36: 247-252.
136. Saionji K, Shitara M (1992). Carrier state and comparative study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from staff and patients. *Nippon Rinsho* 50:998.

137. Mutlu B, Gunde S, Kolaylı F, Karadenizli A, Tansel O, oşkunkan F, Vahapoğlu H (1997). Hastane personelinin burun kültürlerinden izole edilen stafilokok türlerinin metisilin duyarlılığı VII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi; 0–26.
138. Kocazeybek B, Ayyıldız A, Gülsoy Ö, Bayındır O, Sönmez B, Demiroğlu C (2003). Hastane personeline burun portörlüğü ve izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıkları. T Mikrobiyol Cem Derg;33:52-56.
139. Elie-Turenne MC, Fernandes H, Mediavilla JR, Rosenthal M, Mathema B, Singh A, Cohen TR, Pawar KA, Shahidi H, Kreiswirth BN, Deitch EA (2010). Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in an urban teaching hospital. Infect Control Hosp Epidemiol. 31(6): 574-80.
140. Herwaldt LA (2003). *S. aureus* nasal carriage and surgical site infections. Surgery;134:2-8.
141. Kutlay EL (1993). Hastane personeline ve normal popülasyonda *S. aureus* taşıyıcılığı. Gazi Üniversitesi Mikrobiyoloji A.B.D, Uzmanlık tezi; 1 –80.
142. Durmaz B, Tekerekoğlu M, Otlı B, Taştekin N (1999). Turgut Ozal Tıp Merkezi personeline burunda *S. aureus* ve metisilin dirençli *S. aureus* taşıyıcılık oranları. Turgut Ozal Tıp Merkezi Dergisi; 6 : 1150–1153.
143. Kurutepe S ve ark (2005). Klinik Ve Pre-Klinik Hastane Personeline Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Burun Taşıyıcılığı Oranları Türk Mikrobiyol Cem Derg, 35:178-182.
144. Dimitrov T, Udo EE, Grover S (2003). Point surveillance of *Staphylococcus aureus* carriage among medical staff in Infectious Diseases Hospital, Kuwait. Med Princ Pract 12 :139.
145. Gonzalez BE, Martinez-Aguilar G, Hulten KG, Hammerman WA, Cossbu J, Avalos-Mishaan A, Mason EO, Kaplan SL (2005). Severe *Staphylococcal* Sepsis in Adolescents in the Era of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics*, 115: 642-648.
146. Patel M, Hoesley CJ, Moser SA, Stamm AM, Baddley JW, Waites KB (2008). Dissemination of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Tertiary Care Hospital. *Southern Medical Journal*, 101: 40-45.

147. Frazee BW, Lynn J, Charlebois ED, Lambert L, Lowery D, Perdrearemington F (2005). High Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Department Skin and Soft Tissue Infections. *Annals of Emergency Medicine*, 45: 311-320.
148. Harbarth S, François P, Schrenzel J, Fankhauser-Rodriguez C, Hugonnet S, Koessler T, Huyghe A, Pittet D (2005). Community Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Switzerland. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 962-965.
149. Karapsias S, Piperaki ET, Spiliopoulou I, Katsanis G, Tseleni-Kotsovilı A (2008). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Among Healthy Employees of the Hellenic Air Force. *Euro Surveillance*, 13: 18999. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18999>
150. Karahan ZC, Tekel A, Adalet R, Koyuncu E, Dolapcı I, Akan OA (2008). Investigation of Panton-Valentine leukocidin Genes and SCCmec types in Clinical *Staphylococcus aureus* Isolates from Turkey. *Microbial drug resistance*, 14: 203-210.

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Sağlık Çalışanlarında Nazal Metisilin-rezistan <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) Taşıyıcılığının Araştırılması"			
	ARAŞTIRMANIN PROTOKOL/PLAN KODU	2012/55			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Y.Doç.Dr.C.Kurtuluş BURUK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji			
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, UNVANI/ADI/SOYADI	Yük.Lis.Öğr.Ceyda UZUN ŞAHİN, Y.Doç.Dr.Gülçin BAYRAMOĞLU, Doç.Dr.İlknur TOSUN			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	UZMANLIK TEZİ ☒ AKADEMİK AMAÇLI ☐			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
DİĞER:	☐			

**KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU**

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 05	Tarih: 14/01/2013
	Y.Doç.Dr.C.Kurtuluş BURUK'un sorumluluğunda yürütülen Yük.Lis.Öğr.Ceyda UZUN ŞAHİN'e ait "Sağlık Çalışanlarında Nazal Metisilin-rezistan <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) Taşıyıcılığının Araştırılması" başlıklı 2012/55 no'lu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma/tez başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına; toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI KARAR FORMU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Faruk AYDIN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof.Dr.Faruk AYDIN Başkan:	Tıbbi Mikrobiyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Gamze ÇAN Başkan Yrd.	Halk Sağlığı	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.S.Caner KARAHAHAN Üye:	Tıbbi Biyokimya	Özel Yıldızlı Güven Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Ümit ÇOBANOĞLU Üye:	Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Yüksel ALİYAZICIOĞLU Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.S. Murat KESİM Raportör:	Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİNLİ
Doç.Dr.Hülya ULUSOY Üye:	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİNLİ
Prof.Dr.Hafız AYDIN Üye:	Ortopedi ve Travmatoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr. Murat LİVAOĞLU Üye:	Plastik, Rekons. ve Estetik Cer.	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Y.Doç.Dr. Evrim ÖZKORUMAK Üye:	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Gülşay KARAGÜZEL Üye:	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Fatih Mehmet GÖKÇE Üye:	Fizyoloji	RTE Üniv. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Miraç ÇELİK Üye:	Hukuk	KTÜ Hukuk Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİNLİ
Tufan SAĞLAM Üye:	Tekstil	Serbest (Tekstil Mühendisi)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİNLİ

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik No:52249652342

Soyadı, Adı: UZUN ŞAHİN Ceyda

Uyruğu: T.C.

Doğum tarihi ve yeri:26.04.1982 / ARABAN/ G.ANTEP

Medeni hali: Evli

Telefon: 0555 849 79 80

Fax:

E-posta: ceyda.sahin@erdogan.edu.tr

Yazışma adresi: 22. Bölge Müdürlüğü DSİ Lojmanları 3. Blok kat 2 TRABZON

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece Yılı	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet
Y.Lisans	KTÜ Tıbbi Mikrobiyoloji	2013
Lisans	KTÜ Sağlık Yüksek Okulu	2005
Lise	Trabzon Atatürk Lisesi	1998

AKADEMİK / MESLEKİ DENEYİM

Görevi (yıl)	Kurum	Süre
Öğr. Gör.	RTEÜ SHMYO	2 yıl
Hemşire	KTÜ Farabi Hastanesi	7 yıl

YABANCI DİL

İngilizce