

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI BİLİM DALI

ÇOCUKLARDA TOPLUM KÖKENLİ ve HASTANE
KÖKENLİ ENFEKSİYON ETKENİ OLAN
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK**
DUYARLILIKLARI ve VİRÜLANS FAKTÖRLERİ
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Adem KARBUZ

ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ergin ÇİFTÇİ

Bu tez, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 12B3330002

proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2013

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: ADEM KARBUZ	Tarih: 28/6/2013
Anabilim/Bilim Dalı	: ÇOCUK ENFEKSİYÖZ HASTALIKLARI	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. ERGİN CİFTÇİ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı:	Çocuklarda toplum bakanlı ve hastane bakanlı enfeksiyon etkeni olan Staphylococcus aureus suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve virülan faktörleri açısından değerlendirilmesi
Tezin Niteliği:	☐ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☒ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
oy birliği / oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof. Dr. Sennur Akdoğan
..... Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof. Dr. Erdal İmre
..... Anabilim/Bilim Dalı
Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof. Dr. Ergin Ciftci
..... Anabilim/Bilim Dalı
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	ii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
ŞEKİL DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> identifikasyonu.....	5
2.3. Virölans faktörleri	6
2.3.1. Kapsül	7
2.3.2. Hücre duvarı	7
2.3.3. Yüzey proteinleri ve protein A	8
2.3.4. Protein A	8
2.3.5. Enzimler.....	9
2.3.6. Toksinler	9
2.3.7. Aksesuar gen regülatör bölgesi (<i>agr</i>).....	14
2.4. Epidemiyoloji	15
2.5. Patogenez.....	16
2.6. <i>S. aureus</i> enfeksiyon tipleri	17
2.6.1. Toplum kökenli enfeksiyonlar	18
2.6.2. Hastane kökenli (sağlık bakım hizmeti ile ilişkili) enfeksiyon.....	18
2.7. Klinik bulgular	18
2.7.1. Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları	19
2.7.2. Toksik şok sendromu	23
2.7.3. Haşlanmış deri sendromu.....	24
2.7.4. Besin zehirlenmeleri	25
2.7.5. Bakteriyemi ve endokardit.....	26
2.7.6. Kateter ilişkili kan akım enfeksiyonu	26

2.7.7. Osteomiyelit.....	27
2.7.8. Septik artrit	27
2.8. Antibiyotik tedavisi ve direnç gelişim mekanizmaları.....	27
2.8.1. Beta-laktam antibiyotiklerin etki mekanizması	28
2.8.2. Beta-laktamaz direnci ve direnç varlığında uygulanan tedavi.....	29
2.8.3. Metisilin direnci ve <i>mecA</i> varlığı.....	29
2.8.4. Vankomisin direnci.....	34
2.9. <i>S. aureus</i> tiplendirilmesinde moleküler yöntemler.....	35
2.9.1. ‘‘Pulsed Field’’ Jel Elektroforezi (PFGE)	35
2.9.2. Multilokus sekans tiplendirmesi (MLST)	37
3. ARAŞTIRMANIN AMACI.....	39
4. MATERYAL VE METOD.....	40
5. BULGULAR.....	53
6. BULGULARIN ÖZETİ.....	66
7. TARTIŞMA	68
8. SONUÇLAR	86
9. ÖZET.....	88
10. SUMMARY	90
11. KAYNAKLAR	92
12. EKLER.....	106
EK-1	106
Ek 2.....	108

TEŞEKKÜR

Yanında çalışarak bilgi ve birikimlerinden faydalanma imkânına sahip olduğum için kendimi çok şanslı olarak gördüğüm ve gurur duyduğum, zerafeti, hoşgörüsü ve mesleki etik ilkeleriyle örnek olan saygı değer hocam Prof. Dr. Ülker Doğru'ya, eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan, büyük bir özveri ve içtenlikle desteklerini esirgemeyen, çok sevdiğim ve saydığım, çok değerli hocam Prof. Dr. Erdal İnce'ye ve yan dal eğitimime başladığım günden beri her zaman yanımda hissettiğim, yürüdüğüm bu engebeli ve kaygan yolda hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, çok sevdiğim ve saydığım, tez danışmanım ve çok değerli hocam Prof. Dr. Ergin Çiftçi'ye sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yan dal eğitimim sırasında bana emeği geçen başta Çocuk Sağlığı Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı saygı değer hocam Prof. Dr. Semra Atalay nezdinde tüm hocalarıma, birlikte çalıştığım Uzm. Dr. Halil Özdemir, Uzm. Dr. Bilge Baldemir ve Uzm. Dr. Tuğçe Kara başta olmak üzere tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı hemşire ve personeline ve ayrıca çalışmaktan keyif aldığım sekreter Songül Karadaş'a bütün desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tezim için örnek toplama aşamasında desteklerini esirgemeyen, çok kıymetli zamanlarından ödün veren Prof. Dr. A. Derya Aysev, Uzm. Dr. Haluk Güriz, Bio. Neslihan Arman, Bio. Elif Öztürk, Bio. Refik Gökdemir başta olmak üzere Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına ve istatistik ile ilgili konularda yardımcı olan sayın Zeynep Bıyıklı ve sayın Can Ateş'e teşekkür ederim.

Tezimin şekillenmesinde çok büyük emeği ve özverisi olan, yardımlarını hiç esirgemeyen Doç. Dr. Zeynep Ceren Karahan'a, tezimin moleküler çalışma ayağında özellikle başlangıç dönemi olmak üzere hep yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Alper Tekeli'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yaşamım ve öğrenim hayatım boyunca hiç esirgemedikleri maddi ve manevi destekleri ile daima yanımda olan, emekleri ve fedakârlıkları ile bu günlere gelebilmemi sağlayan canımdan çok sevdiğim aileme; sevgisi, hoşgörüsü ve anlayışı ile hep yanımda olan sevgili eşime ve varlığıyla yaşamıma anlam katan ve bana güç veren ancak yeterince zaman ayıramadığım biricik oğluma tüm kalbimle çok teşekkür ederim...

KISALTMALAR

<i>agr</i>	: Aksesuar gen regülatör
<i>arcC</i>	: Karbamat kinaz
<i>aroE</i>	: Shikimate dehydrogenase
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
ET	: Enterotoksin
fMRSA	: Fenotipik MRSA
Glp	: Gliserol kinaz
Gmk	: Guanilat kinaz
GOSA	: Glikopeptide orta düzeyde duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
HLA	: Doku antijenleri
IFN- γ	: İnterferon gamma
IgG1	: İmmünoglobulin G1
IgG2	: İmmünoglobulin G2
IgG4	: İmmünoglobulin G4
IL-1	: İnterlökin-1
IVIG	: İntravenoz immunglobulin
MIK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MLST	: Multilokus sekans tiplendirme
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NAG	: N-Asetil Glikozamin
NAM	: N-Asetil Muramik asit
PVL	: Panton Valentine Lökositini
PBP	: Penisilin bağlayan protein
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PFGE	: Pulsed-field jel elektroforez
Pta	: Fosfat asetiltransferaz

r-RNA	: Ribozomal ribonükleik asit
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SCC <i>mec</i>	: Stafilokokkal kaset kromozomu <i>mec</i>
SBHİ-MRSA	: Sağlık Bakım Hizmeti ile İlişkili metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Spa</i>	: Stafilokokkal protein A geni
TK-MRSA	: Toplum kökenli metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
TNF	: Tümör nekroz faktörü
tpi	: Triosephosphate isomerase
TSST-1	: Toksik şok sendromu toksini-1
TŞS	: Toksik şok sendromu
UV	: Ultraviyole
VRSA	: Vankomisine dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
yqiL	: Asetil koenzim A asetiltransferaz

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>S. aureus</i> 'un neden olduğu enfeksiyonlar	19
Tablo 2. PFGE'de saptanan paternlerin yorumlanması.	37
Tablo 3. <i>S. aureus</i> suşlarında CLSI tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon duyarlılık sınırları.	45
Tablo 4. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların cinsiyete göre dağılımı.	53
Tablo 5. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların dağılımı	54
Tablo 6a. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda uygulanan tedavi özellikleri	54
Tablo 6b. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda uygulanan tedavi özellikleri	55
Tablo 7. Hastaların hastanede yatırılarak tedavi edildikleri gün sayısı	55
Tablo 8. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda <i>S. aureus</i> suşlarının üretildiği yerler	56
Tablo 9. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda izole edilen <i>S. aureus</i> suşlarının antibiyotik direnç oranları	57
Tablo 10. Metisilin direnci saptanan <i>S. aureus</i> suşlarının diğer antibiyotiklere direnç durumu	58
Tablo 11. <i>S. aureus</i> suşlarındaki <i>mecA</i> pozitifliğinin gruplara göre dağılımı	59
Tablo 12. <i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>PVL</i> pozitifliğinin gruplara göre dağılımı	60
Tablo 13. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda <i>S. aureus</i> suşlarının enterotoksin gen dağılımı	61
Tablo 14. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda <i>S. aureus</i> suşlarının agr tip dağılımı	62
Tablo 15. <i>S. aureus</i> suşlarının sekans tiplerinin gruplara göre ayrıntılı dağılımı	65
Tablo 16. Farklı bölgelerden elde edilen <i>S. aureus</i> suşlarında antimikrobiyal direnç durumu	72

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>S. aureus</i> suşlarında <i>mecA</i> pozitifliğinin görülmesi	58
Resim 2. <i>SCCmec</i> tiplendirilmesinde elde edilen PCR görüntüleri	59
Resim 3. <i>S. aureus</i> suşlarında <i>PVL</i> pozitifliğinin görülmesi	60
Resim 4. <i>S. aureus</i> suşlarında enterotoksin pozitifliğinin görülmesi.	61
Resim 5. <i>S. aureus</i> suşlarında <i>agr</i> tiplerinin görülmesi	62
Resim 6. <i>glp</i> için elde edilen DNA dizi analizinden bir kesit görülmekte	64

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. PFGE ile gruplara ayırma	63
---	----

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus, 1880’li yıllarda keşfedilmiş, koagülaz üreten gram pozitif bir mikroorganizmadır. *S. aureus*, çocuk hastalarda en çok izole edilen patojen olup, morbidite ve mortalitenin de önde gelen nedenlerindendir. Patogenezinde bakterinin virülans faktörleri ile konak savunma mekanizmaları birlikte rol oynar. Stafilokok enterotoksinleri, toksik şok sendromu toksini (TŞST) 1, eksfoliyatif toksinler gibi çeşitli toksinlerin yanı sıra, hemolizinler ve Panton Valentine lökosidini (PVL)’nin de dahil olduğu bazı lökosidinler önemli virülans faktörleri arasında sayılabilir. *S. aureus*’un birçok virülans faktörünün ekspresyonu, iki bileşenli sinyal yolunu kodlayan aksesuar gen regülatör (*agr*) lokusu tarafından kontrol edilir (1,2).

Penisilinlerin 1940 yılında tedavide kullanılmaya başlanması ile ölüm oranı yaklaşık %80 olan *S. aureus* enfeksiyonlarında çok başarılı sonuçlar alınmıştır. Ancak 2 yıl sonra, 1942 yılında ilk penisilin dirençli *S. aureus* suşu, bir hastanede izole edilmiş, ardından toplumdan kazanılan *S. aureus* suşlarında saptanmıştır. 1960’lı yıllarda tüm *S. aureus* suşlarının yaklaşık %80’i penisiline direnç geliştirmiştir. 1961 yılında metisilin klinik kullanımına girmesinden iki yıl sonra, ilk metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları İngiltere’de hastane ortamında bildirilmiştir. Geçen 50 yıl içinde çeşitli hastane kaynaklı MRSA klonları dünya genelinde yayılmıştır (3,4). *S. aureus*, hastane enfeksiyonu etkenleri arasında özellikle de çocuk yoğun bakım ünitelerinde sıklığı giderek artan önemli bir patojen olarak görülmektedir. Dünyanın farklı bölgelerinde, MRSA enfeksiyonlarının yayılımından sorumlu az sayıda MRSA klonu bulunduğu, moleküler tiplendirme verileri ile ortaya konulmuştur (4).

Metisilin direnci gösteren bu suşların, sefalosporinler ve karbapenemler dahil olmak üzere tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca aminoglikozidler, tetrasiklinler, makrolidler, linkozamidler, kinolonlar ve kloramfenikole de farklı oranlarda dirençlidirler. Stafilokoklarda metisilin direnci, tüm beta-laktam antibiyotiklere afinitesi düşük olan ve bu antibiyotiklerin varlığında hücre duvar sentezini sürdürebilen, penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a)’nın üretimine bağlıdır. PBP2a, *mecA* adı verilen bir gen tarafından kodlanmaktadır. *mecA*

geni, stafilokokkal kaset kromozom *mec* (SCC*mec*) olarak isimlendirilen 2.1 kilobayt uzunluğunda hareketli bir genom üzerinde yer alır (3,5). Bu genom üzerinde *mecA* geninin yanısıra diğer antibiyotiklere direnç genleri, insersiyon dizileri ve işlevi henüz tam olarak bilinmeyen genler bulunmaktadır. Günümüze kadar 11 farklı SCC*mec* tipi tanımlanmıştır. SCC*mec* tip II ve tip III elemanları, kaset içine entegre olmuş plazmidler ve bir transpozon aracılığıyla ek direnç genleri taşımaları nedeniyle çoklu antibiyotik direncine yol açar (3,5). Yayınlanan çalışmalarda hastane kaynaklı MRSA izolatlarının SCC*mec* tip I, II veya III, toplum kökenli MRSA izolatlarının ise SCC*mec* tip IV, V veya VI olarak bulunduğu görülmekteyse de, bu bir kural değildir (1).

Sağlık hizmeti veren kuruluşlar dışında, ilk kez 1982 yılında intravenöz ilaç kullananlar arasında MRSA enfeksiyonları rapor edilmiştir. Bu ve sonraki rapor edilen toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları, belli risk faktörleriyle yakından ilişkiliydi. Ancak 1990'lı yılların sonunda, hasta raporlarında, geriye dönük derlemelerde, surveyans çalışmalarında, MRSA için tanımlanan hiçbir yatkınlık yaratacak risk faktörlerine sahip olmayan, özellikle çocuklarda toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları ortaya çıkmaya başladı. Bu suşların neden olduğu enfeksiyonlar büyük oranda deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve nekrotizan pnömoni olup, hastaneye yatış gerektirecek veya ölüme yol açabilecek derecede ciddi enfeksiyonlardı (4).

Son yıllarda, toplumdan edinilmiş derin yerleşimli cilt enfeksiyonları (fronkül, selülit, cilt apseleri vb.) ve ağır seyirli nekrotizan pnömonilerden izole edilen *S. aureus* suşlarının PVL adı verilen bir protein salgıladıkları gösterilmiştir. İnvaziv enfeksiyonlarda stafilokokkal faktörlerin her birinin rolünü belirlemek oldukça güç olmakla beraber, PVL üretiminin özellikle fronkül, cilt apseleri ve ağır nektrotik doku enfeksiyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (6-10). PVL pozitifliği, genellikle SCC*mec* tip IV eşliğinde toplum kökenli MRSA izolatlarında sık olarak tespit edilir. Literatürde nadir olarak hastane kökenli MRSA izolatlarında PVL pozitifliğinden bahsedilmektedir (1)

Günümüzde toplum kaynaklı MRSA ile hastane kaynaklı MRSA arasındaki farklılıklar azalmaya, birbiri içerisine girmeye başlamıştır. *S. aureus*'un tipini belirlemek için en yaygın olarak kullanılan teknikler “pulsed-field” jel elektroforezi

(PFGE), multilokus sekans tiplendirme (MLST), stafilokokkal protein A gen (*spa*) tiplendirmesi ve *SCCmec* tiplendirmedi (3). PFGE, hem yerel ve uluslararası epidemik suşların tanımlanmasını sağlamış, hem de farklı *S. aureus* suşları arasında genetik ve evrimsel yakınlığın bulunabileceğini göstermiştir. Ancak suşların filogenetik ilişkilerinin tam olarak anlaşılması, dizi analizi tabanlı bir teknik olan MLST analizi ve *SCCmec* elemanlarının gruplandırılması ile mümkün olmuştur. MLST, PFGE'den farklı olarak klon içerisindeki alt tipleri ve farklılıkları göstermez. Hastane ve toplum kökenli MRSA suşları, gerek epidemiyoloji gerekse evrimsel ilişkiler açısından birbirinden farklıdır (5).

Ülkemizde toplum kökenli MRSA yaygın değildir. Literatürde çocuk hasta grubunda, ülkemizde yapılmış enterotoksin tayini, *SCCmec* tipi, *agr* tipi, PVL saptanması, PFGE profillerinin incelendiği ve MLST analizi ile tam bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bazı toplum kökenli izolatların, metisiline minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri çok düşük olduğu için bunlar yanlışlıkla MSSA sanılabilir. MRSA izolatlarının yukarıda sayılan yöntemlerle incelenmesi toplum kaynaklı izolatların varlığını kanıtlayabilir ve özelliklerinin saptanmasına katkı sağlar (5). Son yıllarda toplum kökenli izolatların tüm dünyada hızlı bir şekilde yayılması, bu izolatları toplum sağlığı açısından da önemli hale getirmiştir. Toplum ve hastane ortamlarında dolaşan *S. aureus* suşlarının klonal tiplerinin ve antibiyotik duyarlılık paternlerinin bilinmesi uluslararası literatürler eşliğinde ülkemiz için *S. aureus* epidemiyolojisini ortaya çıkarmada ve bu etkenin yol açtığı enfeksiyonların ampirik tedavisinin planlanmasında oldukça yol gösterici olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Fosil kayıtlarına göre bir milyar yıldan daha fazladır yeryüzünde bulunan stafilocoklar ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış ve 1880 yılında Louis Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir. Birkaç yıl içerisinde İskoçyalı cerrah Sir Alexander Ogston cerrahi yaraların süpürasyonuna özel bir mikrobun neden olduğunu düşünmüş, bir hastasında ortaya çıkan apseden aldığı irini mikroskop altında incelemiş ve yuvarlak organizmaların zincir şeklinde karışık küme yaptıklarını görmüştür. Çalışmaları sonucunda akut apseye mikrokokların neden olduğunu ileri sürmüş ve bu mikropları, mikroskop altında üzüm salkımı şeklinde küme yapmış görünümünden dolayı (Yunanca üzüm salkımı anlamına gelen ‘‘staphyle’’ kelimesinden türetilerek) *Staphylococcus* olarak adlandırmıştır (11, 12). Alman bir cerrah olan Anton J. Rosenbach ise 1884 yılında iki farklı *Staphylococcus* suşunu izole etmiş ve kolonilerinin oluşturdukları pigmentlere göre isimlendirilmelerini yapmıştır. Altın sarısı renginde pigment oluşturan *Staphylococcus aureus* (Latince altın anlamında olan ‘‘aurum’’ kelimesinden türetilerek), beyaz renkte pigment oluşturan (Latince ‘‘albus’’ kelimesinden türetilerek) *Staphylococcus albus* ismini vermiştir (13). Loeb tarafından 1903 yılında stafilocokların plazmayı koagüle etme yeteneği ilk kez kaz plazması ile gösterilmiş ancak bu durum 1930’lu yıllara kadar önemsenmemiştir (14). Stafilocokların daha patojen tiplerinin belirlenmesinde hemoliz testi yanında koagülaz aktivitesinin de önemli olduğu sonucu çıkartılan bir çalışmada koagülaz aktivitesi *Staphylococcus aureus* suşlarının %88’inde saptanırken, *Staphylococcus albus* suşlarının ancak %12’sinde tespit edilmiştir (15). 1957 yılında ise stafilocokları ayırmada koagülaz testi anahtar özellik kazanmış, sonrasında koagülaz pozitif koklar homojen bir grup içinde *S. aureus* olarak, koagülaz negatif olanlar daha heterojen bir grup içinde ‘‘koagülaz negatif stafilocoklar’’ olarak ayrılmıştır. Günümüze kadar koagülaz negatif stafilocoklar içerisinde birçok tür tanımlanmıştır (16). *S. aureus* ise insanlarda en sık hastalık yapan ve aynı zamanda en *virulan* ve patojen stafilocok türü olmaya devam etmektedir.

Stafilokoklar 0,5 ile 1,5 µm çapında mikroskop altında tek tek olabildiği gibi, ikili, dörtlü veya kısa zincir oluşturabilen veya düzensiz üzüm salkımı görünümünde küme yapmış olarak saptanan gram pozitif koklardır. Üzüm salkımı şeklinde görünümü üç boyutlu olarak bölünebilmeleri ve bölünme sonrasında ayrılmadan birlikte hareket etmelerinden kaynaklanmaktadır (17, 18).

Stafilokoklar hareketsiz, spor oluşturmayan, sıklıkla kapsülsüz ve çoğu türü fakültatif anaerob olarak yüksek konsantrasyonda tuz içeren besiyerlerinde ve 18-40°C aralıklarında üreyebilen mikroorganizmalardır (17, 18).

Basit besiyerlerinde üreyebilen stafilokoklar en iyi kanlı agarda ürerler. Kanlı agarda üremeleri sonunda çeşitli renklerde pigment oluşturabilmekte ve türe ve çevre koşullarına göre değişen derecelerde hemoliz özelliği gösterebilmektedir (18).

Staphylococcus cinsi içinde yer alan 36 türün 16 tanesi insanlarda bulunur. Bağışıklık sistemi sağlam olan, vücut içerisinde implante yabancı materyal bulundurmayan insanlarda sadece birkaçı patojendir. Klinik örneklerden en çok izole edilen ve en virülan olan tür *S. aureus*'tur (18).

2.2. *Staphylococcus aureus* identifikasyonu

Stafilokokların laboratuvar tanısında mikroskop altında Gram boyama özellikleri, kültürde üreme sonrası morfolojik görünüm ve çeşitli biyokimyasal testler önemli yer tutar.

S. aureus, kanlı agarda 37°C'de ve ortalama 24 saatlik bir inkübasyondan sonra 1-4 mm çapında düzgün kenarlı, yuvarlak, konveks, parlak, opak, sıklıkla koloniyi çevreleyen açık bir beta-hemoliz zonu gösteren bir üreme gerçekleştirir. Pigment üretimi değişken olmakla birlikte sarı veya altın sarısı renginde pigment görülebilir. Pigment oluşumu çevre koşullarıyla ilişkili olup, hücre zarında yer alan karotenoid yapıdan ileri gelir. Sarı pigment, *S. aureus*'un bir virülans faktörüdür. (19)

Gram pozitif kokların ayrırımı için kullanılan basit bir test olan katalaz testi pozitifliği ile streptokok ve enterokoklardan ayrılır. Katalaz enzimi, hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırır (17).

S. aureus'u diğer stafilokoklardan ayırmada kullanılan ve büyük oranda tanınal kabul edilen koagülaz testi pozitifliğidir. Koagülaz, fibrinojeni fibrine dönüştüren bir enzimdir. Böylelikle plazmanın pıhtılaşmasına neden olur. *S. aureus*, "serbest" ve "bağlı" (clumping factor) olmak üzere iki tip koagülaza sahiptir. Serbest koagülaz, plazmada bulunan koagülaz aktivatörü ile reaksiyona girerek aktifleşir ve fibrinojenin fibrine dönüşümünü sağlayan süreci başlatır. Varlığı tüpte koagülaz testi ile araştırılır. Bağlı koagülaz ise hücre duvarında yer alır ve plazmada bulunan fibrinojene doğrudan bağlanarak fibrin oluşumuna yol açar. Varlığı lamda koagülaz testi ile saptanır. Tüpte koagülaz testine göre daha hızlı sonuç verir. Ancak lamda koagülaz testi ile *S. aureus* suşların %10-15'inde yalancı negatiflik tespit edilebilir. Böyle durumda tüpte koagülaz testi ile testin doğrulanması gerekir (19). Her ne kadar koagülaz testinin tanınal değeri olduğu kabul edilse de *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırmada mannitolden asit oluşturma, DNAaz üretimi, protein A varlığı gibi başka biyokimyasal testler de kullanılır (19).

Ayrıca fenotipik olarak net ayırımı yapılamayan suşlarda 16S veya 23S ribozomal RNA'nın moleküler analizi türlerin ayırımına yardımcı olabilir. Yine *S. aureus* için özgün olan termostabil endonükleazı kodlayan *nuc* geninin gösterilmesinde moleküler yöntemler kullanılarak tanıya gidilebilir (18).

2.3. Virülans faktörleri

Stafilokoklar genellikle insanların cilt ve mukozasında normal flora elemanı olarak bulunan fırsatçı patojenlerdir. *S. aureus* virülansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Hastalığın gelişmesi konakçının enfeksiyona direnci ile bakterinin sahip olduğu çeşitli virülans faktörleri arasındaki etkileşmeye bağlıdır. *S. aureus* çok sayıda ve çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. Bu virülans faktörleri, bakterinin konağa yapışması, hücreye invazyonu, toksisite ve konağın savunma mekanizmalarından kaçma ile ilişkili yapısal, enzimatik ve toksik ürünlerden oluşur (20).

2.3.1. Kapsül

Klinik izolatlarda saptanan *S. aureus*'un %90'ından fazlası polisakkarit yapıda bir kapsüle sahiptir. Kapsül üretimi ile virülans arasındaki ilişki çeşitli hayvan deneylerinde ve bazı hastalıklarda gösterilmiştir. Kapsül organizmayı polimorfonükleer hücrelerin fagositozundan korur, organizmanın konakçı hücrelere ve prostetik araçlara daha kolay yapışmasını destekleyebilir. On bir kapsül serotipi tanımlanmıştır. Tip-1 ve tip-2 kapsül bol miktarda polisakkarid içerir ve kanlı agarda mukoid kolonilerin görülmesine neden olur, ancak insan klinik örneklerinde nadiren bulunur. Bunların aksine, kapsül tip-5 ve tip-8 klinik enfeksiyonların %75'inden fazlasında saptanır. Kapsül tip-8 endokarditli farelerde endokardiyal lezyonlardan elde edilen *S. aureus* suşlarında yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Yine kapsül tip-5'in fare modellerinde stafilokokal bakteriyemi ve artrit gelişiminde virülans faktörü olarak katkı sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca kapsül tip-8'in TŞST üretimi ile kapsül tip-5'in ise oksasilin direnci ile ilişkisi gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde tip-5 ve tip-8'e karşı gelişen antikorların koruyucu olması, aşı çalışmalarının önünü açmış ancak şu ana kadar geliştirilen konjuge aşılardan istenen etkinlik elde edilememiştir (18, 19, 21).

2.3.2. Hücre duvarı

Staphylococcus aureus hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit, lipoteikoik asit ve protein A gibi çok sayıda yüzey proteinlerinden oluşur. Peptidoglikan yapı, N-Asetil Glikozamin (NAG) ve N-Asetil Muramik asit (NAM) polimerlerinin çapraz bağlanması sonucu meydana gelir. Gram negatif bakterilerdekinin aksine çok katmanlı kalın bir tabaka halinde bulunur. Peptidoglikan tabakası beta-laktam antibiyotiklerin ve glikopeptidlerin hedefi olması nedeniyle önemli bir yapıdır (18, 21).

Sadece gram pozitif bakterilerde bulunan teikoik asit, hücre duvarı kuru ağırlığının %50'ye yakın bir kısmını oluşturur. Teikoik asitler türe özgüdür. *S. aureus*'a özgü ribitol teikoik asit peptidoglikanın NAM ünitesine bağlanır. Lipoteikoik asit (gliserol teikoik asit) ise plazma membranının lipitlerine bağlanan

fosfat polimerleridir. Teikoik asit hücre duvar metabolizmasında önemli olan aktif enzimlerin ve diğer proteinlerin bağlanma bölgesi olarak görev yapar. Bakterinin konak mukoza hücrelerine yapışmasında rol alan teikoik asitin *S. aureus* enfeksiyonlarının patogenezinde ve immün sistemin aktive olmasındaki direkt rolü tam olarak aydınlatılmış değildir. Lipoteikoik asit, makrofaj ve diğer doğal bağışıklık sisteminin parçası olan hücrelerden sitokinlerin salınımını uyarak inflamasyonda görev alır (18).

Hem peptidoglikan, hem teikoik asit *Staphylococcus* hücre duvarına sertlik ve esneklik kazandırır, bakteriye şekli verir ve ozmotik basınçtan korur. Sahip oldukları birçok biyolojik aktivite ile virülansa katkı sağlar. Kompleman sistemini aktive eder, parçalı çekirdekli lökositlerin kemotaksisini artırarak apse oluşuma zemin hazırlar, monositlerden IL-1 salınımı ile endojen pirojen etki gösterir (17, 21).

2.3.3. Yüzey proteinleri ve protein A

Staphylococcus aureus konakta değişik matriks proteinlerine bağlanmada rol oynayan birçok yüzey proteini taşır. Bu yüzey proteinleri; protein A, kollajen bağlayan protein, fibronektin bağlayan protein A ve B, serin-aspartat tekrar proteini, plazmine duyarlı protein, kümeleştirici faktör A ve B, metisilin direncini etkileyen protein, demir regüle determinant A-C, *S. aureus* yüzey proteini A-K olup hücre duvarı peptidoglikan tabakasına kovalen olarak bağlanırlar ve ‘‘matriks proteinlerini tanıyan mikrobiyal yüzey komponentleri’’ olarak tanımlanırlar (18). *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarına zemin hazırlayan kolonizasyon sürecinin başlatılması ve konak dokulara bağlanmada bu adezyon moleküllerinin önemli rolleri vardır (22).

2.3.4. Protein A

Staphylococcus aureus suşlarının çoğunda bulunan fakat koagülaz negatif stafilokoklarda olmayan bu nedenle özgün bir tanımlama testi olarak da kullanılabilen protein A, hücre duvarının en dış katmanında yer alan bir yüzey proteindir. Protein A, IgG₃ dışındaki tüm IgG alt tiplerin Fc bölümüne immün olmayan yolla bağlanma özelliğine sahiptir. Serum immunglobulinlerini tüketerek

opsonizasyona yol açan antibakteriyel antikorlardan, komplemandan ve sonunda fagositozdan bakteriyi korur. İmmunojenik olan protein A'ya karşı gelişen antikorlar ciddi *S. aureus* enfeksiyonlu hastalarda tespit edilir. Protein A, trombositlerdeki von Willebrand faktöre bağlanabilir. Bu özelliği *S. aureus* tarafından oluşturulan endovasküler enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli olabilir. Ayrıca *S. aureus*'un neden olduğu pnömoninin patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı son çalışmalarda gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde protein A'nın yokluğu pnömoni olaylarının ve pnömoni ile ilişkili mortalitenin azaldığını göstermiştir. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) için reseptör görevi görür. Böylelikle akciğerlerde temel proinflatuvar faktör olarak görev yapar (19, 21, 22).

2.3.5. Enzimler

Staphylococcus aureus suşlarının neredeyse tümü virülansa katkıda bulunan koagülaz, katalaz, nükleaz, proteaz, lipaz, hiyaluronidaz, kollajenaz ve beta-laktamaz gibi çeşitli enzimler salgırlar. Bu enzimlerden bazıları bakteri etrafının fibrinle örtülmesine yol açarak bakterinin opsonizasyon ve fagositozdan kurtulmasını sağlamakta, fagosit edilen bakterilerin yok edilmesini önlemekte veya konak doku komponentlerini parçalayarak bakterinin yayılmasını kolaylaştırmaktadır. *S. aureus* tarafından en az üç farklı beta-laktamaz oluşturulmaktadır. Beta-laktamazlar, antibiyotik varlığında üretilebildiği gibi antibiyotiğe maruz kalmadan da sürekli olarak üretilebilir. Bakterinin penisilin ve ampisiline dirençli olmasına yol açar. Beta-laktamazları kodlayan genler genellikle plazmidler üzerinde bulunur ve bu plazmidler eritromisin ve tetrasiklin gibi başka antibiyotiklere direnç genlerini de taşıyabilirler. Bu direnç genleri transformasyon ve transdüksiyon ile bakteriler arasında transfer edilebilir (21, 22).

2.3.6. Toksinler

Staphylococcus aureus konak doku ve hücreler üzerinde potent biyolojik etki gösteren başta sitolitik toksin, eksofoliyatif toksin, enterotoksin ve TSST-1 olmak

üzere çok sayıda hücre dışına salınan ve genelde bakterinin virülansından sorumlu olduğu düşünülen toksinleri yapar.

2.3.6.1.Sitotoksinler. Bu grup içerisinde eskiden alfa, beta, delta ve gama olmak üzere dört adet hemolizin yer alırdı. Ancak bunların sadece eritrositler üzerine etki göstermemesi ve sonradan eritrositleri parçalayamayan bir sitolitik toksin olan Panton Valentin Lökositinin tanımlanması hemolizin olarak sınıflandırmanın doğru olmayacağını göstermiştir (17).

2.3.6.1.2.Alfa-toksin. İnsanda enfeksiyona neden olan *S. aureus* suşlarının çoğu tarafından yapılır. Eritrosit, lökosit, hepatosit ve trombosit gibi birçok hücre üzerine ölümcül etki gösterir. Konakta hedef hücre membranlarında porların oluşumuna yol açar. Hücreden hızlı bir şekilde K^+ atılımı olurken, Na^+ , Ca^{++} ve diğer küçük iyonların hücre içine alımı gerçekleşir. Hücre içerisinde ozmotik yüke bağlı şişmeye ve sonunda hücrenin parçalanmasına yol açar. Alfa-toksin doku yıkımında da rol oynar. Yine nörotoksik özelliği de bulunur. Koyun kanlı agarda üremeleri sırasında bazı *S. aureus* suşlarında görülen hemolizden sorumlu olan toksindir (17, 21).

2.3.6.1.3.Beta-toksin. Sfingomiyelinaz olarak da bilinen beta-toksin hücre membranlarında bulunan sfingomyelin üzerinden etkisini gösterir. Sfingomiyelin içeriğine bağlı olarak eritrositler başta olmak üzere birçok hücreye toksik etki gösterir. Mg^{++} iyonları varlığında etkili olan toksin “sıcak-soğuk hemolizin” olarak da bilinir. Grup B streptokok identifikasyonu için kullanılan CAMP testinde gözlenen sinerjistik hemolizden sorumlu toksindir (21).

2.3.6.1.4.Sigma-toksin. *Staphylococcus aureus* suşlarının çoğunda bulunur. Temelde sürfaktan gibi hücre membranını bozan bir etki gösterir, zaman içinde hücre içeriğinin dışarı sızması ile sonuçlanan membrandaki kanalların oluşumu üzerine de etkili olabilir. Stafilokoksik besin zehirlenmesi ve toksik şok sendromu gibi bazı enfeksiyonlarda görülen ishalde rol oynar (21, 26).

2.3.6.1.5.Gama-toksin. Aslında üç proteini tanımlar ve iki komponentli altı farklı toksin oluşturur. Bunlardan biri de Panton Valentine Lökositini (PVL)'dir. Bu altı tane iki komponentli toksin çeşitli derecelerde hemolitik aktivite gösterirken, hepsi etkin olarak lökositleri lizise uğratar (21).

Alfa-, beta-, sigma- ve gama- toksin kromozom üzerinde kodlanmaktadır ve *agr* regülasyonuna tabidir (18).

2.3.6.1.6.Panton Valentine Lökositini (PVL). İlk kez 1932 yılında Panton ve Valentine tarafından bildirilmiştir. PVL, özellikle lökositlere etki gösteren, hücre dışına salınan bir toksindir. Bakteriyofaj üzerinde taşınan *lukF-PV* and *lukS-PV* genleri tarafından kodlanan LukF-PV and LukS-PV isimli iki proteinin sinerjistik etkisi ile parçalı çekirdekli lökosit ve makrofajların membranında porlar oluşturduğu bir sitotoksindir. Diğer hemolizinler gibi *agr* tarafından düzenlenir, ancak diğerleri gibi kromozomal olarak kodlanmamaktadır. Bu durum PVL'nin suşlar arası aktarılmasına izin verir. Yine diğer hemolizinlerin aksine metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili metisiline dirençli *S. aureus* suşlarında (SBHİ-MRSA) genellikle düşük oranda (<%2) bulunurken, toplumdan kazanılmış MRSA (TK-MRSA) suşlarının hemen hepsinde saptanır. USA300, TK-MRSA klonu özellikle PVL ile bağlantılıdır (18, 19, 22).

PVL geni taşıyan *S. aureus* suşları ciddi cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ve özellikle çocuk ve adolesanlarda sıklıkla ölümcül seyreden nekrotizan pnömoni ile ilişkilidir. Çocuklarda invaziv osetomiyelite yol açan *S. aureus* suşları PVL üretirse, hastalığın lokal ve sistemik inflamasyon bulguları daha şiddetli olmakta, ateş daha uzun sürmekte, etkenin kan kültürlerinde daha yüksek oranda tespit edilmesine yol açmakta ve kronik osteomiyelit veya venöz tromboz gibi komplikasyonlarla daha sık karşılaşılmaktadır (19).

PVL pozitif *S. aureus* suşlarının önceden sağlıklı çocuk ve genç erişkinlerde daha hızlı progresyon gösteren, hemorajik ve nekrotizan pnömoniye neden olduğunun 2002 yılında Gillet ve ark. (27) tarafından bildirilmesinden sonra dünya genelinde PVL ve pnömoni arasındaki ilişki üzerine çok sayıda araştırmalar yapılmıştır (22, 27). PVL pozitif suşların neden olduğu invaziv *S. aureus* enfeksiyonlu çocuklarda daha sıklıkla pulmoner bulguların ortaya çıktığı, PVL

pozitifliğinin pnömonili hastalarda artmış mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca PVL pozitif suşlarda stafilokokal protein A'nın daha yüksek oranda ortaya çıktığının saptanması, ikisinin birlikte bulunmasının dokularda PVL negatif suşlara göre daha fazla inflamasyona yol açacağı varsayılmıştır (19). Ancak çeşitli hayvan çalışmalarında pnömonideki PVL'nin rolü üzerine tartışılmalı sonuçlar elde edilmiştir. Farelerde yapılan çalışmalarda ciddi hastalık semptomları olmasına rağmen, mortalite üzerine etkisinin olmadığı gözlenmiş, yine pulmoner hastalık patogenezi için gerekli olmadığı bildirilmiştir (22).

Sonuç olarak *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarında PVL'nin rolü tam olarak açıklanmış değildir. Ancak PVL varlığı klinisyenlerin tedavi seçeneklerinde değişikliğe yol açabilir. PVL üretimini azaltan, protein sentezini inhibe eden klindamisin gibi antibiyotiklerin bakterisidal etkili antibiyotikler ile birlikte veya tek başlarına kullanımı yönünde tercihlere yol açabilir (19).

2.3.6.2.Eksfoliyatif toksinler. Epidermolitik toksinler olarak da bilinir. Eksfoliyatif toksin (ET) A ve B olarak immunolojik ve biyokimyasal olarak birbirinden farklı ancak benzer biyolojik aktiviteye sahip iki formu tanımlanmıştır. ET-A termostabil bir protein olup kromozomal kökenli, ET-B ise ısıya duyarlı bir protein olup, plazmid kökenlidir. Toksin hücre dışı olarak etki gösterir, doğrudan hücre ölümüne, hücre membran lizisine veya inflamatuvar cevaba neden olmaz. Ayrıca, üst epidermisin dışında herhangi bir organa veya hücreye de zarar vermez. Toksin glutamat spesifik bir serin proteazdır. Hedef molekülü, sadece stratum granulosum düzeyinde bulunan ve keratinositler arası bağlanmanın sürdürülmesinden sorumlu desmoglein-1 adı verilen bir transmembran desmosomal glikoproteindir. Klinik izolatlarda veya burun taşıyıcılığında saptanan *S. aureus* suşlarının çok az bir kısmı (%0-2) bu toksini üreten genleri taşır. Stafilokokal haşlanmış deri sendromuna ve bullöz impetigoya neden olan toksinlerdir (18, 19, 21).

2.3.6.3.Süperantijenler. Süperantijenler, klasik antijenik yapılardan farklı olarak çok daha az yoğunlukta, çok daha fazla düzeyde T hücrelerini uyarıp yoğun bir sitokin salınımına yol açan proteinler olarak tanımlanmaktadır. Klasik antijenlerden farklarına bakıldığında, antijen sunan hücreler tarafından işlenmeye

ihtiyaç duymazlar, MHC sınıf II molekülü üzerinden özgül olmayan yolla T hücrelerin uyarılmasını sağlarlar. Böylelikle klasik antijene göre en az 10000 kat daha fazla T hücrenin aktive olmasına yol açarlar ve yoğun bir sitokin salınımı gerçekleşmiş olur (28).

Staphylococcus aureus tarafından salınan enterotoksinler ve TSST-1 süperantijen özelliği gösteren toksinlerdir. Enterotoksinleri kodlayan genlerin plazmid veya bakteriyofaj gibi hareketli elemanlar üzerinde taşınması genlerin suşlar arasında yatay transferine izin verir (29).

2.3.6.3.1. Enterotoksinler. *Staphylococcus aureus*, A-Q olmak üzere en az 15 farklı ısıya dirençli enterotoksin oluşturur (19). İnsanlarda besin zehirlenmesi ve toksik şok sendromu gibi ciddi olabilecek hastalıklara yol açabilirler. Besinlerde bir kez oluştuktan sonra pişirilmeye inaktif olmazlar. Bundan dolayı da dünya genelinde besin zehirlenmelerinin önemli bir kısmından sorumludurlar. Enterotoksinlerin tam etki mekanizması bilinmemekle birlikte, intestinal peristaltizmi arttırdıkları gösterilmiştir. Özellikle mide ve üst ince bağırsak bölümünde daha yoğun ve ciddi olmak üzere gastrointestinal sistemde inflamatuvar değişikliklere yol açtığı görülmüştür (21, 29).

Son çalışmalarda çoğu *S. aureus* suşunun birden fazla enterotoksin geni taşıdığı gösterilmiştir (29). Özellikle USA400 klonunun çok sayıda enterotoksin geni taşıyabileceği gösterilmiştir (19). Stafilokokal enterotoksin (SET) A en sık stafilokoksik besin zehirlenmeleriyle ilişkili olan toksindir. SET-B besin zehirlenmeleri yanında lokal enfeksiyonlarla ve pnömoni ile ilişkisi olan, biyolojik silah olarak kullanımı konusunda çalışılan bir enterotoksindir (19, 29). SET-B ve SET-C non menstrüel toksik şok sendromundan sorumludur (18). SET-D dünya genelinde ikinci en sık stafilokok ilişkili besin zehirlenmesine yol açan enterotoksindir. SET-E'ye bağlı besin zehirlenmeleri bildirilmiştir. SET-G, -H ve -İ diğerleri kadar çok sık bildirilmeyen, besin zehirlenmelerinde önemli rolü olmayan enterotoksinlerdir (29).

Antibiyotik ilişkili ishallerde de enterotoksin salgılayan *S. aureus* suşları izole edilebilmektedir. Yine antibiyotik ilişkili ishale neden olan *S. aureus* suşlarının önemli bir kısmının metisiline dirençli olduğuna da dikkat etmek gerekir (29).

2.3.6.3.2.Toksik Şok Sendromu Toksini (TŞST)-1. Toksik şok sendromu toksini-1 1981 yılında, toksik şok sendromu hastalığından sonra iki araştırmacı grup tarafından keşfedilmiştir. Toksin, ısı ile inaktivasyona dirençli proteolitik bir enzimdir. TŞST-1 üretimi *agr* tarafından düzenlenir ancak ortaya çıkması için birtakım çevre koşullarının da olması gereklidir. Bu koşullar yüksek düzeyde protein, kısmen nötral pH, artmış parsiyel CO₂ basıncı ve artmış parsiyel O₂ basıncı olarak kabul edilir. Bu dört durum menstruasyon sırasında yüksek emici tamponların kullanımı ile sağlanmış olur. Normal zamanlarda nadir görülen toksik şok sendromu hastalığının tampon kullananlarda zirve yapması bu etmenlerle açıklanmaktadır (18).

Bakteriyel patojenite, hücre popülasyonu temelinde ortaya çıkan gen ekspresyonu ile düzenlenir. Bu “quorum sensing”, aksesuar genlerin yani virülans genlerinin ürünlerinin ortaya çıkışını düzenlemeye çalışır. Düşük yoğunluktaki bakteri topluluklarında, bakteriyel hücreler çoğaldıkları zaman, aksesuar genler hücre duvar oluşumu ile ilgili genlerin yanında ya daha az eksprese olur ya da hiç olmaz. Bunun tersine yüksek yoğunlukta bakteri topluluklarında ise aksesuar genlerin ekspresyonu artar. Aksesuar gen regülör dediğimiz “*agr*” cins spesifiktir. Efektör molekülü RNA III adında regülör RNA molekülüdür. Birçok stafilokokal toksin ve virülans faktörler aksesuar gen regülör (*agr*) bölgesi tarafından kontrol edilir (19).

2.3.7. Aksesuar gen regülör bölgesi (*agr*)

Bir ‘quorum-sensing’ sistemi olan *agr*, bazı yüzey proteinleri ve hücre dışına salınan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (23). *agr* in-vitro ortamda geç üssel büyümeden durağan faza geçişte birkaç hücre yüzey proteinin ekspresyonunda azalmaya ve çok sayıda salgılanan virülans faktörün ekspresyonunda artmaya yol açarak etkili olur. *agr* ekspresyonunun epitelyal hücrelerin apoptozuna ve invazyonuna yol açtığı da görülür. *agr* ekspresyonunun farelerde cilt altı apse ve artrit oluşumu ve tavşanlarda endokardit oluşumu gibi çeşitli enfeksiyon modellerinde katkı sağladığı bulunmuştur. İlginç bir şekilde farklı *agr* gruplarının ağırlıklı olarak belli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (24). Yapılan çalışmalarda *agr* tip I ve II’nin azalmış vankomisin duyarlılığı ile, tip III’ün toksik şok sendromu ve PVL ile indüklenmiş nekrotizan

pnömoni gelişimi ile ve tip IV'ün eksfoliyatin üretimi ile ilişkisi gösterilmiştir (25). Tekeli ve ark. (1), yetişkinlerde yaptıkları bir çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen MRSA izolatlarının %91'ini *agr* tip I olarak saptamış ancak vankomisin direnci saptamamıştır, bu da *agr* tip I içerisinde muhtemel vankomisine heterorezistan *S. aureus* izolatlarının olabileceği ile açıklanmıştır (1).

2.4. Epidemiyoloji

Staphylococcus aureus gerek toplumdan kazanılan, gerekse sağlık bakım hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonların en sık etkenlerinden biridir. *S. aureus* enfeksiyonlarının insidansı yılda 100 binde 28,4 ile 35,4 arasında değişmektedir. *S. aureus* enfeksiyonları önemli oranda morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Enfekte yatan hastalar ortalama 3 kat daha uzun hastanede yatış süresine, 3 kat daha fazla maliyete ve 5 kat daha fazla hastanede ölüm riskine sahiptirler (18).

Kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilen stafilokoklar, doğada yaygın olarak bulunurlar. İnsan ve diğer memeliler *S. aureus* için doğal rezervuardır. *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarında ilk basamak kolonizasyondur. Kolonizasyon bir mikroorganizmanın hastalık veya enfeksiyonun klinik semptom veya bulgularına neden olmadan dokuda bulunmasıdır. Taşıyıcılık ise bu mikroorganizma ile kolonize olma durumudur. Taşıyıcı, organizmayı diğer bireylere doğrudan temas ile bulaştırabilir. Aslında kolonizasyon ile taşıyıcılık aynı anlamda kullanılan kavramlardır.

Çoğu yenidoğan doğumdan kısa bir süre sonra genellikle de annelerinde var olan suş ile kolonize olur. Hem *S. aureus*'a karşı gelişen immün yanıt hem de diğer floraya hâkim olmaya çalışan bakterilerle aralarında gerçekleşen yarışma kolonizasyon durumunun yaş ile azalmasına yol açar. Cilt, tırnak, farenks, kıvrım yerleri, aksilla, perine, boğaz, rektum ve vajina gibi birçok bölgede kolonizasyon görülebilir. Stafilokokların kolonizasyonda hücre duvarı yüzey proteinleri ve hücre duvarında yer alan teikoik asit önemli rol oynar (18).

Diyaliz hastaları, intravenöz ilaç bağımlıları, tekrarlayan *S. aureus* enfeksiyonu olan hastalar, insülin bağımlı diabetes mellitusu olan hastalar, dermatolojik problemleri ve damar içi kateteri olan bireyler gibi bazı topluluklarda

kolonizasyon oranları daha yüksek görülür. Bireylerdeki *S. aureus* taşıyıcılığı veya kolonizasyonu üç şekilde sınıflandırılabilir. Bireylerin yaklaşık %20'sinde (%12-30) kalıcı kolonizasyon, %30'unda (%16-70) aralıklı kolonizasyon görülürken, %50'sinde (%16-69) hiç kolonizasyon gözlenmez. Bu durumlardan en önemlisi, daha fazla *S. aureus* yükü içerdiğinden kalıcı kolonizasyondur. Kalıcı kolonizasyonu olan bireyler *S. aureus* enfeksiyonu için daha yüksek riske sahiptirler (18, 30).

Stafilokoklar insanlara birçok yolla bulaşabilir. Bunlar arasında enfekte kişiler ile doğrudan temas, asemptomatik taşıyıcılarla temas, havayolu yayılımı ve kontamine eşyalarla teması sayabiliriz. Stafilokokların yayılmasında bu mekanizmalardan en önemli olanı stafilokok lezyonu olan hastalar ile temas durumudur. Dışarıya açık lezyonu olan hastalar organizmayı hem çevreye hem de diğer kişilere bulaştırırlar. Bundan dolayı özellikle hastane ortamlarında böyle hastalara hizmet veren sağlık çalışanlarının özellikle dikkat etmesi gerekir. Hasta temaslari arasında el yıkama stafilokokların nozokomiyal yayılımını azaltmada kuraldır. Eşyalar yoluyla yayılım nadirdir (19).

Yukarıda belirtilen *S. aureus* taşıyıcılığı yanında *S. aureus* enfeksiyonları için erkek cinsiyetin, çok küçük ve yaşlı bireylerin artmış risk altında oldukları bildirilmiştir. En önemli risk grubunun diyaliz ihtiyacı olan hastalar olduğu gösterilmiştir. Nadir olmakla birlikte lökosit kemotaksi ve fagositoz sistemindeki kalıtsal veya kazanılmış defektlerin de *S. aureus* enfeksiyonlarına yatkınlık oluşturduğu görülmektedir (18).

2.5. Patogenez

Staphylococcus aureus yukarıda da bahsedilen çok çeşitli virülans faktörleri ile donatılmıştır. Bunlar etkin bir apse oluşumundan, opsonizasyon veya fagositoz gibi birçok düzeyde konakçı bağışık sisteminden kaçmaya ve yoğun bir sitokin salınımı ile sepsis sendromuna yol açacak bir süreci ortaya çıkartmaya elverişlidir (31). Neredeyse tüm suşları salgıladıkları çeşitli enzim ve sitotoksinlerle konakçı dokunun bakteri için uygun bir besiyeri ortamına dönüşmesine sebep olmaktadır (32).

Staphylococcus aureus enfeksiyonlarının patogeneğinde; kolonizasyon, lokal enfeksiyon, sistemik yayılma ve/veya sepsis, metastatik enfeksiyon ve toksik şok olmak üzere beş farklı evreden bahsedebiliriz. Burada daha önce de ifade edildiği gibi enfeksiyonun başlaması, bakteri ile konağın kolonize olmasından geçer. Kolonizasyon sonrası bakteri doğrudan bulunduğu bölgedeki cilt içerisine inoküle olarak doku hasarına ve apseye neden olabilir. Etken lokal olarak yayılabileceği gibi dolaşıma geçerek uzak organlarda osteomyelit, endokardit, artrit gibi spesifik enfeksiyonlara da yol açabilir. Ayrıca salgıladıkları süperantijen özelliği gösteren toksinler aracılığıyla hem lokal hem de sistemik etki ile *haşlanmış deri sendromu*, *toksik şok sendromu* ve *besin zehirlenmeleri* gibi spesifik sendromlara sebebiyet verebilir. Patojen olarak bu kadar başarılı olması, insanlarda hastalık yapan diğer mikroorganizmalarda olmayan çok sayıda ve değişik virülans faktörlerine sahip olmasından ileri gelir (31).

2.6. *S. aureus* enfeksiyon tipleri

Son yıllarda hastaneye yatırılmadan veya kısa süreli yatış yapılan veya altta yatan hastalığa bağlı olarak sık aralıklarla sağlık bakım hizmeti gereksinimi olan veya damar içi veya periton içi cihaz gibi çeşitli tıbbi aletlere maruz kalan hastalarda enfeksiyonun kaynağının toplum mu yoksa hastane mi olduğu konusunda karışıklıklar ortaya çıkmıştır. Ayrıca MRSA gibi bazı etkenlerin başlangıçta nozokomiyal etken olarak ortaya çıkması ve zamanla daha hastaneye kabul sırasında bu etkenlerin yüksek oranda saptanması hastane kökenli veya toplum kökenli enfeksiyonları tanımlamalarda yeniden yapılanmaya gidilmesine yol açmıştır.

Moleküler tekniklerdeki gelişmeler etkenlerin filogenetik kökenlerinin saptanmasına izin vermiştir. Mesela MRSA için toplum kökenli olanlar, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili MRSA suşlarından farklı bir antimikrobiyal duyarlılık paterni (genelde beta-laktam olmayan antibiyotiklere duyarlıdırlar) sergilerler, farklı SCCmec elementlerine sahiptir, “pulsed field” jel elektroforezinde farklı tipler olarak izlenir ve multilokus sekans tipleri farklı saptanır (33).

2.6.1. Toplum kökenli enfeksiyonlar

Toplum kökenli enfeksiyonlar, hastanın hastaneye kabulünde var olan veya kabulünden sonraki 48-72 saat içerisinde ortaya çıkan ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili risk faktörleri bulunmayan hastalarda görülen enfeksiyonlar olarak kabul edilir (34, 35).

2.6.2. Hastane kökenli (sağlık bakım hizmeti ilişkili) enfeksiyon

Hastaneye kabulünde enfeksiyonun inkübasyon döneminde olmayan, hastaneye yatırıldıktan 48 veya 72 saat sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar sağlık bakım hizmeti ile ilişkili (SBHİ) enfeksiyonlar olarak değerlendirilir (36). Ayrıca son bir yıl içerisinde hastaneye yatışı yapılmış, cerrahi müdahale geçirmiş, uzun süreli bakım hizmeti veren kurumlarda ikamet etmiş, en az üç ay olmak üzere sıklıkla hastane ziyaretleri gerçekleştirmesine yol açan altta yatan hastalık varlığı, diyalize giren veya kültür alındığında damar içi kateteri olan veya perkutan tıbbi cihazı bulunan hastalarda gerçekleşen enfeksiyonlar da sağlık bakımı hizmeti ile ilişkili enfeksiyon kapsamında ele alınır (37, 38).

2.7. Klinik bulgular

Staphylococcus aureus'un neden olduğu enfeksiyonları cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, invaziv enfeksiyonlar, tıbbi araç ile ilişkili enfeksiyonlar ve toksin ile ilişkili enfeksiyonlar olarak dört grup altında toplayabiliriz. Ancak bu klinik durumlar arasında geçişlerin olabileceği unutulmamalıdır. Basit bir deri enfeksiyonu bakteriyemi veya osteomyelit ile sonuçlanabilir. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Aşağıda pratikte sıklıkla karşılaşılan, *S. aureus*'a özgü olan veya ciddi seyreden enfeksiyonlardan bahsedilmiştir.

Tablo 1. *S. aureus* 'un neden olduğu enfeksiyonlar

Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları	İnvaziv enfeksiyonlar	Kas eklem sistemi enfeksiyonları	Toksin ile ilişkili enfeksiyonlar
-İmpetigo -Folikülit -Fronkül -Karbonkül -Süpüratif hidradenit -Yara yeri enfeksiyonları -Apse -Erizipel -Sellülit -Nekrotizan fasiit -Pyomiyozit	-Bakteriyemi -Endokardit -Perikardit -Septik şok -Menenjit -Beyin apsesi -Pnömoni -Ampiyem	-Osteomyelit -Septik artrit	-Toksik şok sendromu -Haşlanmış deri sendromu -Besin zehirlenmeleri
		Kateter ilişkili enfeksiyonlar	Ventrikuloperitoneal şant enfeksiyonları

2.7.1. Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları

Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, cilt ve cilt altı tabakaların enfeksiyonu olup, tutulan düzeye göre anatomik olarak dört grupta sınıflandırılabilir (18).

- Epidermis enfeksiyonları: impetigo örnek verilebilir.
- Yüzeyel dermis enfeksiyonları: follikülitler örnek verilebilir.
- Derin dermis enfeksiyonları: furonkül, karbonkül ve süpüratif hidradenit örnek verilebilir.
- Cilt altı hücresel dokuların enfeksiyonları: erizipel, sellülit, fasiit ve pyomiyozit örnek verilebilir.

Tanı sıklıkla klinik olarak konur. Yüzeyel enfeksiyonlar lokal bakım, cerrahi drenaj, nadiren sistemik antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyarken, derin enfeksiyonlar sıklıkla hastaneye yatışı ve parenteral antibiyotik kullanımını gerektirir (18).

2.7.1.1.İmpetigo. Yüzeyel bir enfeksiyon olan impetigo özellikle yüz ve ekstremiteler olmak üzere vücudun dışı açık kalan bölümlerinde ve sıklıkla 2-5 yaş arası çocuklarda görülür. Etken %80-90 oranında *S. aureus* olmakla birlikte, hastaların %20'sinde tek başına veya *S. aureus* ile birlikte *S. pyogenes* de bulunur. Cinsiyet ve ırk seçiciliği gözükmez. Kuzey yarım kürede yaz aylarında daha sık görülür (18, 39).

Sağlam bir ciltte kolonize olan etken, sıyrık, küçük travma veya böcek ısırıkları ile cilt bütünlüğünün bozulmasını fırsat bilerek cilt içerisine inoküle olur ve hastalık sürecini başlatır. Hastalık genellikle küçük kırmızı bir makül olarak başlar, eritemli bir zeminde içerisinde seroanginoz bir sıvı içeren veziküle dönüşür. Sıvı içeriği bulanıklaşarak püstül gelişir, sonrasında bunun rüptüre olması ile 4-6 gün içerisinde kalın karakteristik kabuk yapı gelişir. Aynı anda farklı safhalar görülmekle birlikte kabuklar etrafında bir santimetreyi aşan çapta bir eritem gözlenir (18, 21, 39).

Nonbüllöz impetigo görülebileceği gibi yüzeyel cilt tabakalarında ayrılmaya yol açan toksin oluşturan *S. aureus* suşları tarafından büllöz impetigo da oluşturulabilir. Hastalık komşu cilt bölgelerine sekonder olarak yayılabildiği gibi, diğer çocuklar da etkili bir tedavinin uygulanmasına kadar risk altındadırlar (18, 39).

Sistemik semptomlar görülmezken, lokal inflamatuvar lenf nodların saptanması kuraldır. Ayırıcı tanıda herpes simpleks ve suçiçeği akla gelmelidir. Lezyonların yerinde iyileşme sonrasında depigmente alanlar gözlenebilir (18, 39).

Tedavide klorheksidin bazlı sabunlar ile dezenfeksiyon ile birlikte sınırlı sayıdaki lezyonlar için basitrasin veya daha geniş alandaki lezyonlar için fusidik asit kombinasyonu kullanılır. Genellikle bu kombine tedavi yeterli olurken daha yaygın lezyonlarda oral antibiyotik gerekebilir (18).

İmpetigo hastalığında unutulmaması gereken taşıyıcılığın olup olmamasının araştırılmasıdır. Genelde bu hastalarda burun taşıyıcılığı mevcuttur. Taşıyıcı olan hastalar aynı zamanda burun için de müpirosin ile tedavi edilmelidirler.

2.7.1.2.Folikülit. Kıl foliküllerinin ciltten çıktığı alanlara sınırlı, küçük, kırmızı ağrılı piyojenik enfeksiyonlardır. Sistemik semptomlar yoktur. Lokal antiseptik önlemler tedavi için yeterlidir (18, 21).

2.7.1.3.Fronkül. Tutulan kıl folikülü enfeksiyonunun cilt altı doku içerisinde dermise doğru yayılması ile oluşan sıcak, ağrılı, 1-2 cm çapında endüre lezyonların görüldüğü küçük apse formlarıdır. Rüptür olduğunda merkezde ölü nekrotik dokuların olduğu pürülan bir akıntı görülür. Otoinokülasyon sonucu sekonder odaklar görülebilir. Kıl folliküllerinin olduğu herhangi bir yerde ortaya çıkabilir. Genellikle lokal tedavi yeterlidir. Ancak büyük fronküller insizyon ve drenaj gerektirir (18, 21, 39).

Fronküllerde toplumdan kazanılmış MRSA önemli bir sorundur. Lezyonlar apseye veya selülite ilerleyebilir. Burun ve üst dudak çevresinde olduklarında yaşamı tehdit eden kafa içi septik tromboflebitlere neden olabilir (18, 21).

2.7.1.4.Karbonkül. Birkaç kıl folikülünün tutulduğu ve cilt altı dokuların daha derinine ilerleyebilen enfeksiyonlardır. Genelde boyun bölgesinde görülür. Ateş, titreme gibi sistemik semptomlar eşlik edebilir. Bakteriyemiye yol açabilir. Tüm karbonküller insizyon ve drenaj gerektirir. Parenteral antibiyotik tedavisi gerekli olabilir (18, 39).

2.7.1.5.Apse. Apse dermis ve daha derin cilt altı dokularda irin birikmesi ile oluşur. Genellikle ağrılı, hassas ve fluktuasyon veren, üzerinde bir püstülün görüldüğü etrafı kırmızı şişliklerdir. Cilt apseleri tipik olarak polimikrobiyal olmakla birlikte *S. aureus* tüm cilt apselerinin %25'inde tek bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır (39).

İnfanlarda meme apsесinin önde gelen sebebidir. Sıklıkla fizyolojik olarak memelerin büyük olduğu yaşamın ilk üç haftasında ortaya çıkar. Apse genellikle tek taraflıdır. Bazen ateş, lökositoz ve bakteriyemi gelişebilir (30).

Apse için lokal bakım ve insize edilerek drenasyonun sağlanması temel yaklaşımdır. Bazen 5 cm'den küçük apseler sistemik antibiyotik tedavisi verilmeden sadece bu yöntemle bile düzelebilir. Ayrıca, yenidoğanda ve süt çocuklarındaki meme apseleri, sistemik semptomların veya beraberinde hızla selülitin geliştiği hastalar, bağışıklık sistemi baskılananlar, ciddi ve geniş bir alanda apsesi olanlar veya drenajı mümkün olmayan hastalar sistemik antibiyotik ile tedavi edilmelidir (30).

2.7.1.6.Yara yeri enfeksiyonları. Cerrahi veya travma sonrası birkaç gün içerisinde ilerleyici şişlik, eritem ve yara etrafında ciddi ağrı ile karakterize enfeksiyondur. Hastane önleme merkezi (CDC)'nin verilerinde operasyon geçiren hastaların %2,6'sında cerrahi yara yeri enfeksiyonları bildirilmiştir. Ancak bu oran surveyans sistemindeki yetersizliklerden dolayı gerçekte var olandan çok daha azdır. *S. aureus* ile burun taşıyıcılığı operasyon geçiren bireylerde önemli bir risk faktörüdür. Yine operasyon bölgesinin yetersiz kan dolaşımına sahip olması veya kan dolaşımını etkileyen komorbid durumların olması riski arttıran etmenler arasındadır (18, 30).

Basit, derine ilerlemiş cerrahi yara yeri enfeksiyonlarında lokal bakım, kontrol amaçlı bir cerrahi değerlendirme ve 7-10 günlük bir antibiyotik tedavisi yeterli olmaktadır. Ancak enfeksiyonun derine ilerlemesi veya yara bölgesinde daha önceden yerleştirilmiş bir yabancı cisim (protez) varlığı ve bunun da enfekte olma durumu söz konusu ise bu enfekte materyallerin çıkartılması yanında en az 4-6 haftalık parenteral tedavi gereklidir (18, 21).

2.7.1.7.Erizipel ve selülit. Bu hastalıklar, cilt apsesi, nekrotizan fasiit, septik artrit ve osteomyelit gibi altta yatan süpüratif odağın eşlik ettiği enfeksiyonların dışında diffuz yayılan cilt enfeksiyonlarını tanımlamak için kullanılır. Ayırımı zor iki hastalıktır. Bazıları tarafından erizipel yüzeysel lenfatikler de dâhil olmak üzere dermisin daha üst tabakasının tutulumu, selülit ise cilt altı yağ dokusu da dâhil dermisin daha alt tabakasının tutulumu olarak değerlendirilir.

Klinik olarak erizipeli cildin diğer enfeksiyonlarından ayıran başlıca iki özellik vardır. Erizipelde lezyonlu alan çevresindeki cilt seviyesinin üzerine çıkar ve etkilenen ile etkilenmeyen doku arasında açık bir şekilde demarkasyon hattı görülür. Erizipel daha sıklıkla süt çocukları, küçük çocuklar ve daha büyük erişkinlerde görülür ve genellikle beta hemolitik streptokoklar tarafından oluşturulur. *S. aureus*'a bağlı erizipel çok sık değildir. Bazen impetigoda ki gibi karışık bir enfeksiyon görülebilir (18, 39).

Selülitte erizipelde gözlenen tipik cilt tutulumu yoktur. Cildin nonspesifik lezyonlarıyla daha sık karışır. Ağrı ve ateş önemli bulgulardır. Beraberinde osteomyelitten şüpheleniliyorsa bilgisayarlı tomografi veya nekrotizan fasiit ile

ayırımı yapılmak isteniyorsa manyetik rezonans görüntüleme yapılması gerekebilir. *S. aureus* daha az sıklıkta selülite neden olur, hastalarda sıklıkla öncesinde penetran bir travma öyküsü veya yasa dışı ilaç kullanımına bağlı enjeksiyon yerleri mevcuttur (18, 39).

Her ikisine de ağrı ve ateşin eşlik ettiği sistemik bulgular eşlik edebilir. Hastaların %5'inden azında kan kültürü pozitifliği saptanır. Bildirilen serilerde inflame ciltten alınan kültürlerde üreme %5 ile %40 arasında değişir. Erken tanı ve tedavi ile prognoz çok iyidir. Klinik ciddiyete göre birinci kuşak sefalosporin veya penisilinaz dirençli beta-laktam antibiyotikler tedavide kullanılabilir. Etkilenen bölgenin yüksekte tutulması, yerçekimi etkisiyle ödem ve inflamatuvar maddelerin daha hızlı çözülmesi açısından önemli olan ve bir o kadar da ihmal edilen bir durumdur (18, 39).

2.7.2. Toksik şok sendromu

Stafilokok kızılı ismi ile 1927 yılından itibaren sporadik olarak bildirilen toksik şok sendromu ilk kez 1978 yılında Todd ve ark. (40) tarafından yüksek ateş, baş ağrısı, konfüzyon, konjunktival hiperemi, hipotansiyon, kızıl benzeri döküntü, kusma, sulu ishal, böbrek yetmezliği, hepatik anormallik, yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğu ve ciddi uzamış şok belirti ve bulguları olan yedi çocukta bildirilmiştir. Hastaların beşinde mukozal yüzeylerden toksin üreten *S. aureus* izole edilmiştir (40). 1980'lerin başında ise özellikle adet döneminde yüksek emici tampon kullanan genç bayanlar arasında hastalıkta belirgin bir artış görülmüş, bu dönemden sonra hastalığa TŞST-1 salgılayan *S. aureus* suşlarının neden olduğu gösterilmiştir (18).

Toksik şok sendromunun menstrual ve nonmenstrual TŞS olmak üzere iki klinik formu açıklanmıştır. Menstrual TŞS'da özellikle yüksek emici tampon kullanan bayanlarda âdetin başlangıcını takiben iki gün içinde veya bitiminde yüksek ateş, hipotansiyon ve döküntünün eşlik ettiği çoklu organ yetmezliğine gidebilen bir klinik durum ile karşılaşılabilir. Toksin lokal olarak oluşmakta ve kana karışıp sistemik etkilerini göstermektedir (18, 30).

Non-menstrual TŞS ise cerrahi yara yerleri, akciğer, mukoza, cilt ve periton diyalizine giren hastalardaki diyaliz kateteri gibi herhangi bir yerde kolonize olan *S. aureus* suşları tarafından üretilen TŞST-1 ile meydana gelir. Ayrıca enterotoksin B ve C toksinleri de bu hastalığa neden olabilir. Günümüzde yüksek emici tampon kullanımının azalması ile non-menstrual TŞS yaklaşık olarak hastaların yarısını oluşturmaya başlamıştır (18, 30).

Hastalıkta görülen döküntü başlangıçta kızıl benzeri bir görünümde olsa da, klasik olarak diffüz eritroderma veya güneş yanığı şeklinde tanımlanır. Tipik olarak hastalığın başlangıcından 1-2 hafta sonra özellikle avuç içi ve ayak tabanında görülen soyulma ile iyileşir. Konjunktival hiperemi, çilek dili ve et kırmızı renginde orofarengeal membranların eşlik ettiği mukozal membranların tutulumu da görülür (30).

Menstrual TŞS’da vajinal kültürün %85’inde, non-menstrual TŞS’da ise nazofarengeal veya yara yerinde etken izole edilebilir. Tipik olarak kan kültürlerinde etken üretilmez (18, 30).

Hastalığın tedavisi etkenin eliminasyonunu sağlayacak ve özellikle toksin üretimini de engelleyecek antibiyotik ve intravenöz sıvı ve gerekli olduğunda vazopressör ilaçların kullanıldığı destek tedavisinden ibarettir. Ayrıca enfeksiyon odağı olabilecek apse gibi oluşumların drene edilmesi, yabancı cisimlerin uzaklaştırılması etkenin ortadan kaldırılması için gerekebilir. Bu müdahalelere cevap vermeyen ve ciddi seyreden hastalarda intravenöz immunglobulin de kullanılabilir (18, 30, 41).

2.7.3. Haşlanmış deri sendromu

İlk olarak 1878 yılında 297 bebekte Ritter Von Rittershain tarafından tanımlandığından Ritter hastalığı olarak da bilinir. Mukoza veya ciltte kolonize ET-A ve ET-B oluşturan *S. aureus* tarafından meydana gelir (17, 18).

Klinik olarak lokalize ve jeneralize olmak üzere iki formda görülebilir. Ciltte yaygın bir eritem sonrasında hızla kabarcık ve bül oluşumu gözlenir. Jeneralize formda görülen kabarcıklar içerisinde bulunan sıvıda bakteri ve lökosit bulunmaz. Cilt çok hassas ve kırılabilir olduğundan yumuşak dokunmalar bile kolaylıkla

soyulmalara neden olur (Nikolsky belirtisi). Toksinin yaygın hematojen yayılımı ateşe neden olur. Genellikle 1 yaş altı çocuklar ve yenidoğanlar etkilenir (41).

Lokelize form bullöz impetigo olarak da adlandırılabilir. Genelde etkenin kolonize olduğu cilt etrafında büller görülür. Daha büyük çocuklarda görülür. Hastalarda toksine karşı koruyucu antikorların var olmasından dolayı toksinin daha uzak bölgelerde etkili olmadığı kabul edilir. Bu formda kabarcıklar içerisinde bakteri ve lökosit görülebilir (18, 41).

Toksin doğrudan epidermis içerisinde stratum granulosum tabakasında yer alan GM4 adı verilen hücre membran gangliyositlerini etkiler. GM4, sadece küçük çocuklar ve özel deri hastalıkları olan yetişkinlerde görülmektedir. Bu durum hastalığın daha çok küçük yaş gruplarında görülmesini açıklamaktadır. Mukoza kesinlikle tutulmaz. Mukozanın tutulmaması ile toksik epidermal nekrolizden ayrılır. Bakteriemi eşlik edebilir ancak nadirdir. Yine süperenfeksiyonlar gözlenebilir (18).

Tedavi antiseptik yara bakımı, antibiyotik tedavisi ve sıvı elektrolit desteğinden ibarettir. İyi bir müdahale ile mortalite %5'den daha azdır (18, 30).

2.7.4. Besin zehirlenmeleri

Gıda kaynaklı gastrointestinal hastalıkların üçte birine yakınında stafilokokkal besin zehirlenmeleri sorumludur. En sık enterotoksin A olmak üzere SET-B ve SET-C besin zehirlenmelerinden sıklıkla sorumlu toksinlerdir (18, 30).

Hastalık bakterilerden ziyade önceden toksin ile kontamine olan besinlerin alınması ile ortaya çıkar ve ortalama 2 ile 4 saat gibi kısa bir inkübasyon süresine sahiptir. En sık saptanan kontamine gıdalar proteinden zengin jambon ve tavuk gibi et ürünleri, süt ürünleri, hamur işleri, muhallebi, yumurta ve patates salatasıdır. Toksin ısı stabil olduğundan pişirme ile inaktive olmaz (18, 30, 41).

Hastalık ani ve bazen çok şiddetli başlayan bulantı, kusma, karın ağrısı ve sıklıkla ishalin eşlik etmesiyle karakterize bir tablodur. Ateş genellikle eşlik etmez (41).

Dışkı ve kusmuk örneklerinde enterotoksinlerin gösterilmesi ile tanı konulabilir. Bir iki gün içinde kendiliğinden iyileşen hastalarda destek tedavisi

uygulanır. Aşırı sıvı kayıpları ciddi dehidratasyona neden olup hastaneye yatışı gerektirebilir. Ancak prognoz mükemmeldir. Antibiyotik tedavisi gerekmez (18, 30, 41).

2.7.5. Bakteriyemi ve endokardit

Bakteriyemi, ateş veya hipotansiyon varlığında kanda bakterilerin tespit edilmesi durumudur. *S. aureus* bakteriyemisi özellikle infektif endokardit gibi çok ciddi komplikasyonlara neden olması açısından önemlidir. Genelde önceden zarar görmüş doğal kalp kapakları endokarditine neden olsa da endotelyumu ve kapakları normal olan bireylerde de endokardite yol açabilir. Yüksek hızlı kan akımına neden olan kardiyak lezyonlu çocuklar ve prostetik kalp kapağı bulananlar *S. aureus* endokarditi için artmış risk altındadırlar (30).

Staphylococcus aureus endokarditinin patogeneğinde mikroorganizmanın yüzey adezin molekülleri ile hasarlı veya inflamasyonlu kapak üzerinde birikmiş olan fibrin, trombosit ve çok sayıda matriks protein ağı arasındaki ilişki rol oynamaktadır. Vejetasyondan kopan mikrotrombüsler ile dolaşımda uzak dokulara taşınmakta ve endokarditte görülen komplikasyonlar oluşturmaktadır. Özellikle sol kalp endokarditlerinde uzak organlara metastatik yayılımın fazlalığı nedeniyle mortalite çok artmaktadır. Sağ kalp endokarditlerinde görülen akciğere septik emboliler dispneye yol açabilmektedir (18).

İnfektif endokardit için tanı ekokardiyografide vejetasyon veya apse formasyonunun gösterilmesi ile konur ancak görülmemesi tanıyı dışlamaz. Tanı için modifiye Duke kriterleri getirilmiştir (30).

İnfektif endokarditli hastalara yaklaşımda 4-6 hafta süren kombine antibiyotik tedavileri yanında bazen cerrahi müdahale de gerekebilir (18, 30).

2.7.6. Kateter ilişkili kan akım enfeksiyonu

Stafilokoklar kateter ilişkili enfeksiyonlar içinde en sık tespit edilen mikroorganizmalardır. Özellikle periferel venöz kateterler için *S. aureus*, santral venöz kateterler için koagülaz negatif stafilokoklar daha sık saptanır. Kateterin cilde

giriş yerindeki kolonizasyon enfeksiyon için kaynak oluşturur. *S. aureus*'un etken olduğu kateter ilişkili kan akım enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisi yanında kateterin çıkartılması önerilir. Ayrıca bu enfeksiyonlarda yoğun bir etkene maruziyet, bakterinin endokardiyum, karın içi organlar, beyin, başka dokulara da yayılmasına zemin hazırlar. Kateter ilişkili kan akım enfeksiyonu saptanan hastaların tedavi planlamasında metastatik odaklar açısından da değerlendirilmesi gerekmektedir (30, 42).

2.7.7. Osteomiyelit

S. aureus, akut hematogen osteomiyelitin en sık nedenidir ve yaklaşık hastaların %50 ile %70'inde etkindir. Sıklıkla uzun tübüler kemiklerin metafizleri etkilenir. Klinik olarak ani olarak yüksek ateş ve etkilenen kemik bölgesinde ağrı ile karakterizedir. İnflamasyonun lokal bulguları şiddetli olmayabilir. Vakaların yaklaşık yarısında kan kültürü pozitifdir. Tipik radyografik görüntü hastalığın başlangıcından 2-3 hafta sonrasına kadar elde edilemeyebilir. Hızlı tanı ve doğru tedavi ile *S. aureus* osteomiyelitinin prognozu oldukça iyidir. Tedavi en az 4-6 hafta sürdürülür (18, 30).

2.7.8. Septik artrit

Çocuklarda septik artritin en sık sebebi *S. aureus*'tur. Etkilenen eklem üzerinde ağrı, ısı artışı ve şişlik tipiktir. Eklem hareketlerinde kısıtlılık vardır. Birkaç gün içinde hem bakterinin kendisi hem de konak dokunun inflamatuvar cevabı eklemden destrüksiyona neden olduğundan acil müdahale edilmesi ve antibiyotik tedavisine başlanması gerekir. Antibiyotik tedavisi en az 3 hafta sürdürülür (18, 30).

2.8. Antibiyotik tedavisi ve direnç gelişme mekanizmaları

Eski uygarlıklarda yaraları tedavi etmek için kullanılan malakit ve krizol gibi bakır tuzlarının, bal ve reçinenin *in vitro* ortamda stafilokoklara etkili olduğu gösterilmiştir (11). Ancak, ilk kez 1929 yılında *Penicillium notatum* küfö ile kontamine agar plaklarında *S. aureus*'un üremediğinin bakteriyolog Sir Alexander

Fleming tarafından gözlenmesiyle modern tedavi yaklaşımlarının kıvılcımları atılmıştır (43). Yine de penisilin saflaştırılıp tedavi olarak kullanımı için bir 10 yıl geçmesi gerekmiştir.

Penisilinlerin 1940 yılında tedavide kullanılmaya başlanması ile ölüm oranı yaklaşık %80 olan *S. aureus* enfeksiyonlarında çok başarılı sonuçlar alınmıştır. Ancak iki yıl sonra, 1942 yılında ilk penisiline dirençli *S. aureus* suşu, bir hastanede izole edilmiş, ardından toplumdan kazanılan *S. aureus* suşlarında da saptanmıştır. 1960'lı yıllarda tüm *S. aureus* suşlarının yaklaşık %80'i penisiline direnç geliştirmiştir (30, 44). Danimarka'da 1957 ile 1990 yılları arasında *S. aureus* bakteriyemisinin epidemiyolojisi ile ilgili yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada da penisilin direncinin 1980'lerden itibaren %90'larda bir plato çizdiği görülmüştür (45).

Staphylococcus aureus klinik pratikte kullanılan tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirme yeteneğinde olan, hatta günümüzde birçoğuna karşı da direnç geliştirmiş bir etkindir. Direnç gelişiminde hedef modifikasyonu, ilaç inaktivasyonu ve azalmış ilaç birikimi gibi mekanizmalar rol oynamaktadır. Bunların bir kısmı kazanılmış, bir kısmı intrensek olarak mevcut patojenite adaları veya kaset kromozom geni üzerinde kodlanmaktadır (18).

2.8.1. Beta-laktam antibiyotiklerin etki mekanizması

Staphylococcus aureus için hücre duvarı sadece bakteriye şekil vermekle kalmaz. Bakteriye ozmotik lizisten korur, bakterinin büyümesi ve üremesi için gereklidir. Hücre duvarının önemli bir yapı taşı peptidoglikandır. Peptidoglikan sentezi değişik basamaklardan oluşur, son safhalarda sitoplazmada oluşan peptidoglikan zincirleri arasındaki çapraz bağlanmalardan penisilin bağlayan proteinler sorumlu olup, bunlar aslında transpeptidaz ve karboksipeptidaz yapısındadır. Peptidoglikanın sentezi sırasında penisilin bağlayan proteinler üzerinden etkili olan beta-laktam antibiyotikler bakterinin şeklini ve bölünme özelliğini kaybetmesine ve ozmotik lizis ile ölmesine yol açar. Bu antibiyotikler penisilin bağlayan proteinlere geri dönüşümsüz olarak bağlanıp, transpeptidazların görevini yerine getirmesine izin vermezler (46).

2.8.2. Beta-laktamaz direnci ve direnç varlığında uygulanan tedavi

Staphylococcus aureus beta-laktam antibiyotiklere karşı en sık penisilinaz oluşturarak direnç geliştirir. Penisilinaz üretimi *blaZ* geni tarafından kodlanır ve bu gen genellikle plazmid üzerinde taşınır. Hücre dışına salınan bu enzim, penisilinleri hidrolize ederek inaktif penisiloid aside parçalar. Penisilinlerin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bakteri tarafından geliştirilen bu enzim günümüzde *S. aureus* suşlarının çok büyük bölümü tarafından oluşturulmaktadır (18).

blaZ geninin, antirepresör olan *blaR1* ve represör olan *blaI* olmak üzere iki regülatör determinantı bulunmaktadır. Transmembran bir protein olan *blaR1*, penisilin varlığında ona bağlanır ve hücre dışından hücre içine sinyal iletimini sağlayarak intrastoplazmik parçanın otokatalitik ayrılmasını tetikler. Açığa çıkan peptid bir metalloproteinaz gibi davranır, bir represör olan *blaI*'yı ayrıştırarak gen ekspresyonu üzerindeki baskıyı kaldırır ve beta-laktamaz sentezi gerçekleşir (47).

Penisillinaza dirençli antibiyotikler olan sefalosporinler ve metisilin, nafsilin ve oksasilin gibi semi-sentetik antistafilokoksik penisilinler ilk kez 1950'li yılların sonlarına doğru kullanıma girmiştir (18). Sefalosporinler, antistafilokoksik penisilinlere göre intravenöz infüzyon sırasında venlere daha az iritan özellik gösterirler. Sefalosporinler içerisinde *S. aureus*'a en etkili olan birinci kuşak sefalosporinlerdir. Penisilin alerjisi durumunda sefalosporinler tercih edilebilmekle birlikte çapraz reaksiyonlarından dolayı dikkatli kullanılmalıdır. Böyle durumlarda sefazolin parenteral kullanım için bir seçenek olabilir. İyi tolere edilen ilaç antistafilokoksik penisilinlere göre daha az kemik iliği baskılanmasına yol açar (19).

Antistafilokoksik penisilinler içerisinde ilk üretilen ve kullanılan antibiyotik olan metisilin, ciddi interstisyel nefrit yapma yan etkisinden dolayı kullanımdan çekilmiştir. Ancak diğerleri kullanılmaktadır. Metisilin klinik kullanıma girmesinden sadece iki yıl sonra direnç gelişimi bildirilmeye başlanmıştır (11).

2.8.3. Metisilin direnci ve *mecA* varlığı

Staphylococcus aureus'taki metisilin direnci, diğer semi-sentetik penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler de dâhil hücre duvar sentezinde görev alan tüm

beta laktam antibiyotikleri etkiler. Metisilin direnci gösteren *S. aureus* (MRSA) hücre duvar sentezini, tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı afinitesi düşük olan PBP 2a isminde farklı bir protein üzerinden sürdürür. Bu protein *mecA* adı verilen bir gen tarafından kodlanır (11, 48).

mecA geni 2,1 kb uzunluğunda stafilokokal kaset kromozom *mec* (SCC*mec*) olarak bilinen hareketli bir gen parçası üzerinde taşınır. Bu gen parçası beta laktam dışı antibiyotik direncinden sorumlu *Tn554*, *pUB110*, and *pT181* gibi genetik yapıları da ihtiva edebilir (48).

SCC*mec* kaseti, kromozom üzerinde taşınan, büyüklüğü 20 kb ile 70 kb arasında olan mobil bir gen parçası olup üzerinde kaset kromozom rekombinaz özelliğindeki *ccr* (*ccrAB* veya *ccrC*) ve *mecA* gen kompleksleri gibi genetik parçalar bulundurur. SCC*mec* kaseti, bu genlerde görülen yapısal değişikliklere göre sınıflandırılır. Günümüzde tanımlanmış 11 alt tipi (Tip I-XI) bulunmaktadır. 1990'lı yıllarda hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonlarının yanı sıra toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları görülmeye başlanmış, günümüze kadar artan sıklıkta devam eden bu enfeksiyonlar önemli sorun olarak yerini almıştır. TK-MRSA'ların moleküler mikrobiyolojisi HK-MRSA'lardan oldukça farklılık göstermektedir. SCC*mec* tip I, II ve III hastanede kazanılmış MRSA (HK-MRSA) klonları, tip IV, V ve VI ise toplumda kazanılmış MRSA (TK-MRSA) klonlarında tanımlanmıştır. Bunlar arasında sadece SCC*mec* tip II ve III taşıyan HK-MRSA izolatlarında çoklu antibiyotik direncine yol açan plazmid ve transpozonlar taşındığından metisilinin yanı sıra kanamisin, tobramisin, makrolid, klindamisin, streptogramin B ve tetrasiklin direnci de görülürken; TK-MRSA izolatları sıklıkla klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, tetrasiklin, gentamisin, florokinolonlar ve kloramfenikole karşı duyarlıdır (19, 49, 50).

MRSA'nın tam olarak keşfinden itibaren *mecA* geninin kaynağı önemli bir araştırma konusu olmuştur. Erken dönemde yapılan çalışmalarda *mecA* geninin insanlarda çok sık bulunmayan koagülaz negatif *Staphylococcus sciuri* grubundaki *mec* geni ile önemli bir homolojiye sahip olduğu gösterilmişti. Ancak bu bakterinin *mecA* geni taşımasına rağmen, metisiline duyarlı olması genin eksprese olmasında sorun olduğunu düşündürmüştü. Yakın zamanda başka bir araştırmacının *Staphylococcus fleurettii*'nin sahip olduğu *mec* geni ile günümüzdeki N315 MRSA

suşundaki *mecA* geni arasında %99,8 oranında homolojinin varlığını in-vitro olarak tespit etmesi, *mecA* kaynağı olarak bu bakteri üzerine odaklanılmasına yol açtı. Burada ilginç olan bakterideki *mecA* geninin kromozom üzerinde bulunan SCC ile değil de, büyüme ile ilgili yapı taşı olan genlerle yakın ilişkide olmasıydı. Araştırmacı bu durumu evrimleşme sürecinde beta-laktam antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı çevrede bakterinin doğal seleksiyon sonucu *mecA_{sf}* genini geliştirmesi olarak speküle etmiştir. Sonuçta, *mecA*'nın nihai kaynağı olarak bu bakterinin bulunmasının şüphe ile karşılanmasına yol açsa da, bu durum bazı diğer önemli hususları ortaya çıkartmıştır. Araştırmacı, insan ve hayvanlarda beta-laktam antibiyotiklerin kullanıldığı durumlar altında *S. fleurettii*'den gelen *mecA* geninin MSSA'nın eş türlerinde SCC*mec* gen parçası ile muhtemelen kombine edilip, diğer insan suşlarına kolaylıkla transfer edildiğini, beta-laktam baskısının olmadığı bir ortamda organizmaya avantaj sağlamayacağından dolayı evrimsel temelde bu genlerin bakteriden kaybolabileceğini speküle etmiştir (11, 51).

mecA geni IS431*mec-mecA-mecR1-mecI* sıralı gen kompleksinden oluşur. *mecA* geni, transkripsiyonunu düzenleyen bir proteini kodlayan *mecI* ve membrana bağlı bir sinyal taşıyıcı proteini kodlayan *mecRI* tarafından kontrol edilir. Beta laktam bir antibiyotik yokluğunda, baskılayıcı *mecI*, hem *mecA*'nın hem de *mecRI-mecI*'nin transkripsiyonunu engeller. Beta laktam bir antibiyotik varlığında *mecRI* kendiliğinden parçalanır ve *mecRI*'nin sitoplazmik kısmında yer alan metalloproteaz parça aktif hale gelir. Metalloproteaz *mecA*'nın operator bölgesine bağlı *mecI*'yi ayırır ve *mecA*'nın transkripsiyonuna izin vererek, sonrasında PBP2a'nın üretimine yol açmış olur (52).

mecA düzenleyicileri, beta-laktamaz üretiminden sorumlu *blaZ* düzenleyiciler (*blaI* ve *blaR1*) ile dizi analizi ve fonksiyon açısından da benzerlik gösterir. Bu benzerlikten dolayı, *BlaI*, *mecA-mecR1* promoter operatör sekanslarına bağlanıp, bunların transkripsiyonlarını kontrol edebilir. Beta-laktam grubunda yer alan bir antibiyotik ile indüksiyon yapıldığında, *blaR1-blaI* sisteminde meydana gelen indüklenme, *mecR1-mecI* sisteminden daha hızlı olmaktadır (süre, beta-laktamaz ekspresyonu için 15 dakika iken, PBP2a sentezi için 48 saate kadar uzayabilmektedir). Yine, *mecR1-mecI* sistemi ile kıyaslama yapıldığında, *mecA* geninin baskılanması, *blaR1-blaI* sistemine göre daha zayıf olmaktadır. Bunun

nedeni, *mecI*'nin *mecA* transkripsiyonunun sıkı bir regülatörü olması ve çoğu beta-laktam antibiyotiklerin *mecR1*'i etkin bir biçimde aktive edememeleridir. Bunun sonucunda, bakteri *mecA* geni taşıyor olsa da *mecI*'nin *mecA* üzerindeki baskılayıcı gen işlevini etkili olarak yapabilmesinden dolayı fenotipik olarak metisiline duyarlıdır (53-57).

Metisiline dirençli olan tüm stafilokok izolatlarında *mecA* geni bulunurken, metisilin direncinin fenotipik olarak görülmesi bakteriler arasında değişkenlik gösterir. Metisilin direncinin *mecA*'ya bağlı fenotipik olarak ifade edilmesi homojen ya da heterojen olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (56).

2.8.3.1.Homojen direnç. Koloniyi oluşturan tüm bakteriler dirençlidir. Metisilin direncinin fenotipik olarak ortaya konmasında homojen direnç daha az görülür. Klinik suşların az bir kısmı homojen direnç gösterir.

2.8.3.2.Heterojen direnç. Koloniyi oluşturan tüm bakteriler *mecA* genini taşımalarına rağmen, belirli bölümünde (10^{-3} - 10^{-8} bakteriden birinde) direnç ortaya çıkar. Bu toplulukta hücrelerin çoğunluğu düşük metisilin konsantrasyonlarına duyarlı iken, bir kısmı yüksek metisilin konsantrasyonlarına direnç gösterir (56, 58).

Hem homojen hem de heterojen direnç gösteren suşlarda PBP2a yapımı devam etmektedir. Burada direncin ortaya çıkmasına yol açacak olası bazı faktörlerin olduğu ve bunların otolitik yolak vasıtasıyla etkisini gösterdiği düşünülmektedir. Homojen direnç gösteren suşlarda daha az otolitik aktivite olduğu bulunmuştur (59). Direncin ortaya çıkmasına yol açan belli koşulların da hücre otolizindeki değişikliklerle ilişkili olduğu görülmüştür. NaCl eklenmesi veya düşük sıcaklıklarda inkübasyon bakterilerde antibiyotik ile tetiklenmiş otolizi inhibe eder. Bu etki ile direncin arttığı görülür (59).

Yapısal ya da indüklenebilir PBP2a miktarı ile ortaya çıkan metisilin direnç fenotipi arasında bir ilişki gösterilememiştir. Bu durumda metisilin direncinin ortaya konulmasını etkileyen diğer olası faktörlerin varlığı ortaya çıkmıştır. Transpozonlar aracılığıyla inaktive edilen metisiline dirençli suşlardan duyarlı suşlar elde edilmesi, *mec* dışındaki genlerin tanımlanmasını sağlamıştır (60). *mec* bölgesi dışında, “auxiliary” veya “factors essential for the expression of methicillin resistance” ya da

kısaca “*fem*” genleri olarak tanımlanmış genler bulunur. *fem* faktörleri, *mecA* geninden farklı olarak hem duyarlı hem de dirençli suşlarda bulunmaktadır. Bu genlerde meydana gelen değişiklikler direnç düzeyini duyarlı seviyesine kadar düşürebilir. PBP2a yapımı ise bu durumdan etkilenmez (61).

Bazen *mecA* geni taşımayan ancak farklı mekanizmalar yoluyla çeşitli düzeylerde metisilin direncine sahip suşlar ile de karşılaşılabilir.

Sınırdaki (borderline) metisilin direnci aşırı miktarda beta-laktamaz salgılanması ile ortaya çıkmaktadır. Bir çalışmada, metisiline direnç gelişimine bakterinin aşırı miktarda beta-laktamaz üretiminin de neden olabileceği gösterilmiştir. Penisilin dirençli olan semisentetik penisilinler normalde bu enzimin hidrolizine dayanıklıdır. Ancak ortamda aşırı miktarda penisilinaz üretimi, bu tür antibiyotiklerin yavaş bir şekilde ancak önemli düzeyde parçalanmasına neden olur. Bu suşlar BORSA (Borderline resistant *S. aureus*) olarak isimlendirilir. Bunlar PBP2a oluşturmazlar ve direnç gelişimi plazmid aracılığıyla kontrol edilir (54, 59).

“Intermediate” metisilin direnci olarak tanımlanan orta düzeyde metisilin direncinden PBP’lerdeki yapısal değişiklikler sorumludur. Bu MRSA suşları beta-laktamaz üretemezler ve *mecA* geni taşımazlar. Ancak metisiline dirençlidirler. Son yıllarda beta-laktamaz negatif olup, *mecA* geni taşımadıkları halde, metisiline dirençli suşlar saptanmıştır. Bu suşlarda mevcut PBP’lerin mutasyonlar sonucu yapısal değişikliğe uğradıkları ve beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösterdikleri görülmüştür. Bunun sonucu olarak bu tip dirençli suşlara MODSA (Modified resistant *S. aureus*) adı verilmektedir (59, 62).

Sonuç olarak, antibiyotik duyarlılık testlerinde doğru olmayan bir şekilde metisiline duyarlı gözüken MRSA suşları saptanabilir. Bu yalancı negatiflik MRSA’lardaki direnç fenotipinin heterojen olmasından ibarettir. Bundan ötürü özellikle MRSA’ları tespit etmek için; kültür vasatlarının daha düşük sıcaklıklarda (30-35°C) inkübe edilmesi, rutinde kullanılan tuz yoğunluğundan daha yüksek tuz yoğunluklarının sağlanması, daha yavaş ürediklerinden dolayı daha uzun süre inkübe edilmesi, heterorezistan kolonilerin olmasından dolayı duyarlılık testlerinde daha yoğun bakteri süspansiyonlarının kullanılması, antibiyogramda diğer beta-laktam antibiyotiklere direnç saptanması durumunda metisilin duyarlı bulunuyorsa testin tekrar edilmesi gibi önlemlerin alınması katkı sağlayabilir (58).

Stafilokoklarda metisilin direncinin ortaya çıkması ve giderek artması özellikle vankomisin olmak üzere glikopeptid antibiyotiklerin klinik pratikte çok yaygın kullanımına yol açmıştır. Yine MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde linezolid, daptomisin, kinupristin-dalfopristin, son zamanlarda özellikle yetişkin hastalarda kullanılmaya başlanan tigesiklin ve henüz daha ülkemizde piyasaya sürülmemiş 5. kuşak sefalosporin olan seftobiprol gibi antibiyotikler kullanılmaktadır.

2.8.4. Vankomisin direnci

Vankomisin yıllardır MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir. Ancak İlk kez 1996 yılında Japonya'dan Hiramatsu ve ark. (63) vankomisine azalmış duyarlılık gösteren MRSA suşlarını bildirmiştir. Bu ilk bildirinin ardından Amerika'dan iki ve Fransa'dan bir hastada olmak üzere vankomisine azalmış duyarlılık gösteren diğer *S. aureus* suşları tespit edilmiştir. Bu suşların vankomisin MİK değeri, mikrodilüsyon yöntemi ile 8 µg/mL olarak tespit edilmiş ve vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus* olarak tanımlanmıştır (63-65). Stafilokoklarda gözlenen bu azalmış duyarlılığı takiben ilk kez 2002 yılında Michigan'da bir diyaliz hastasında vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) izolatu tanımlanmıştır. Takip eden yıllarda dokuzu Amerika'dan, ikisi İran ve Hindistan'dan olmak üzere toplam 11 *S. aureus* suşunda da VRSA saptanmıştır. Bu hastaların hepsinde PCR ile *vanA* geni gösterilmiştir. Bu genin vankomisine dirençli enterokoklardan *S. aureus*'lara aktarıldığı düşünülmektedir (66).

Vankomisin hücre duvarına etkili bir antibiyotiktir. Hücre duvarının temel yapı taşı olan peptidoglikanın sentezi sırasında D-alanin-D-alanin ucuna bağlanarak transpeptidasyon basamağını inhibe eder. *vanA* geni varlığında ise D-alanin-D-alanin yerine vankomisinin afinitesinin çok düşük olduğu D-alanin-D-laktat sentezlenir. Böylece sentezlenen yeni moleküllere vankomisin bağlanamaz ve hücre duvar sentezi inhibe edilemez (55).

2.9. *S. aureus* tiplendirilmesinde moleküler yöntemler

Epidemiyolojik analiz, izolatlar arasındaki ilişkiyi değerlendirerek, organizmaların aynı atadan köken olup olmadığının ortaya çıkartılmasına imkân sağlar. Bu amaçla fenotipik ve genotipik (moleküler) tiplendirme yöntemleri kullanılır. DNA bazlı tiplendirme yöntemleri kullanılarak, aynı tür içinde bulunan suşlar arasındaki klonal ilişkinin incelenmesine moleküler tiplendirme denir. Genotipik yöntemler izolatların genetik özelliklerini gösterir. Kromozomal ve ekstrakromozomal genetik eleman farklılığını temel alır. Bu yöntemlerde DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimi veya nükleik asit amplikasyonu gerçekleştirilir.

2.9.1. “Pulsed Field” Jel Elektroforezi (PFGE)

Bakteriyel kromozom megabaz büyüklüğünde bir moleküldür. Standart elektroforez teknikleri ile 40-50 kilobaz (kb) üzerindeki DNA moleküllerinin ayırımı yapılmamaktadır. Schwartz ve Cantor tarafından 1984'te geliştirilmiş olan PFGE yöntemi ile mega baz büyüklüğündeki DNA parçalarının ayırımını yapmak mümkün hale gelmiştir. Bu ayırım farklı yönlerden belli sürelerde verilen bir elektriksel akım yani “pulse” ile sağlanır (67).

PFGE, yüksek tekrarlanabilirlik, yüksek ayırım gücü gibi faktörler nedeniyle çoğu laboratuvar da stafilokokların tiplendirilmesinde tercih edilen bir sistem haline gelmiştir ve günümüzde moleküler epidemiyolojik analizler arasında “altın standart” olarak kabul edilmektedir (67). Özellikle salgın araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu yöntemde sağlam DNA gereklidir. Geleneksel DNA izolasyon yöntemleri DNA'da kırılmalara yol açtığından farklı teknikler kullanılır. Mikroorganizma önce “plug” adı verilen düşük erime sıcaklığına sahip agaroz bloklar içine gömülür, daha sonra enzimatik lizis ile bakteri duvarı parçalanır ve hücrel proteinler sindirilir. Böylece DNA'nın fiziksel ve kimyasal etkiler nedeniyle kırılması önlenmiş olur. Ortamda bulunan protein ve karbonhidrat gibi kontaminantların uzaklaştırılması için çeşitli solusyonlar ile belli sıcaklıkta yıkamaya tabi tutulur. Agaroz içerisinde saf ve

bir bütün halinde kalan kromozomal DNA yine bloklar içerisinde restriksiyon enzimleriyle kesilir. Epidemiyolojik ilişkinin gösterilmesi için DNA kabul edilebilir sayı ve büyüklükte kesilmelidir. Bundan dolayı belli uzunlukta ve çok sık olmayan, hatırlatma dizilerini tanıyan özel restriksiyon enzimleri kullanılır. Yaklaşık 2800 kb büyüklükte olan stafilokok kromozomu *SmaI* kesim (restriksiyon) enzimiyle (CCCGGG tanıma dizisi) kesildiğinde, büyüklüğü 10 ile 800 kb arasında 15-20 adet DNA parçasından oluşan bir restriksiyon profili ortaya çıkar. Kesme işleminden sonra benzer büyüklükte elde edilen agaroz dilimi hazırlanan jelin kuyucuklarına yerleştirilir. Jel ile daha iyi temas etmesi için üzeri erimiş agaroz ile kaplanır. Böylelikle hem kırılma riski en aza iner, hem de sıkı bir ilişki sağlanmış olur. Neticede daha keskin bant paternleri elde edilmiş olur (67).

Bir salgından elde edilen epidemiyolojik olarak ilişkili izolatların tanımlanmasında PFGE'nin yüksek etkinlik ve yüksek ayırım gücüne sahip olduğu bilinmektedir. PFGE yönteminde değerlendirme oluşan bant sayısına göre yapılır. PFGE'de sayı ve büyüklükleri aynı olan bant paternlerini sergileyen bakterilerin genetik olarak “aynı” ve epidemiyolojik olarak ilişkili oldukları kabul edilir. Tek bir nokta mutasyonu, insersiyon veya delesyon oluşması nedeniyle aralarında en fazla üç bant farkı oluşan izolatlar yakın ilişkili olarak sınıflanır ve epidemiyolojik olarak salgının bir parçası oldukları kabul edilir. Restriksiyon bölgelerinin kazanımı veya kaybı gibi iki bağımsız genetik değişiklik meydana geldiğinde 4-6 bant farkı olan izolatlar saptanır, bu tür izolatlar “muhtemelen” ilişkili izolatlar olarak değerlendirilir. Çok sayıda hastanın kullanıldığı uzun bir süreyi kapsayan çalışmalarda sık görülür. Bunların epidemiyolojik olarak ilişkili olma olasılıkları daha düşüktür. DNA'sında meydana gelen üç ya da daha fazla genetik değişiklikten dolayı yedi ya da daha fazla bant farkı sergileyen bakteriler epidemiyolojik olarak “ilişkisiz” izolatlar olarak kabul edilir (68).

PFGE ‘de saptanan profillerin yorumlanması Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. PFGE’de saptanan paternlerin yorumlanması.

Kategori	Salgın suşlarıyla karşılaştırıldığında genetik farklılıklar	Salgın suşlarıyla karşılaştırıldığında bant farkları	Epidemiyolojik yorumlama
Ayırt edilemez	0	0	Salgının parçası
Yakın ilişkili	1	2-3	Salgının kuvvetle olası parçası
Muhtemelen ilişkili	2	4-6	Salgının muhtemelen parçası
Farklı	≥ 3	≥ 7	Salgının parçası değil

2.9.2. Multilokus sekans tiplendirmesi (MLST)

PFGE gibi moleküler tekniklerle bakteriyel izolatlar için DNA fragman paternlerinin laboratuvarlar arasında karşılaştırılması zor olmaktadır. Bu tekniklerle salgınların incelenmesi (lokal epidemiyoloji) mükemmel iken, farklı zamanlarda farklı ülkelerden elde edilen izolatların ilişkisinin sorgulandığı global epidemiyoloji çalışmalarında çok başarı elde edilememektedir. Temel metabolik fonksiyonları kodlayan genler olarak isimlendirilen “house keeping” genlerindeki dizi değişimleri seçici olarak nötr veya nötre yakın olup, bu genlerin kökenleri iyi bilinmektedir. Yedi “house keeping” genin yaklaşık 450-500 baz çiftlik iç fragmanlarının DNA dizi analizleri yapılmıştır. Her bir loküs için her farklı dizilim, farklı bir allel numarası ile sınıflandırılır. Böylece suşa ait bir “tanımlayıcı” veya “allelık profil” ortaya çıkar. Tanımlanan allelik profiller, dizi tipi (sequence type-ST) olarak ifade edilmektedir. Belirlenen allelik profiller, MLST veri bankasındaki (<http://www.mlst.net>) bilinen allellerle kıyaslanarak, tespit edilen allel profilinin diğer ülkelerdeki yaygınlık derecesi hakkında bilgi edinmek mümkün olabilmektedir. Verilerin elektronik ortamda saklanabilir olması MLST’nin en önemli avantajlarından birisidir. Bu sayede yeni izolatlar önceden saptananlarla kolaylıkla karşılaştırılabilmekte ve verilerin laboratuvarlar arası daha kolay paylaşımı mümkün olabilmektedir. Klinik uygulamalarda araştırmacılar için bu verilerin önemi giderek

artan kullanım alanlarına girmesidir. Mevcut verilere www.mlst.net adresinden internet yolu ile hızlıca ulaşılabilir (67, 69, 70).

Staphylococcus aureus için house keeping genler ve kodladığı proteinler; karbamat kinaz (*arcC*), shikimate dehidrogenase (*aroE*), gliserol kinaz (*glp*), guanilat kinaz (*gmk*), fosfat asetiltransferaz (*pta*), triosephosphate isomerase (*tpi*), asetil koenzim A asetiltransferaz (*yqiL*)'dır (71).

Bir MLST analizinin tamamlanması için öncelikle kültür veya numunenin hazırlanması gerekmektedir. Sonra sırası ile DNA izolasyonu, MLST genlerinin PCR ile amplifikasyonu, PCR ürünlerinin saflaştırılması, DNA dizi analizi ve sonuçların bilgisayar ortamında sorgulanması gerekmektedir (72).

3. ARAŞTIRMANIN AMACI

1. Çocuklarda toplum kökenli enfeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek.
2. Çocuklarda hastane kökenli enfeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek.
3. Çocuklarda toplum ve hastane kökenli enfeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını karşılaştırmak ve virülans derecesi ile ilişkisi olan enterotoksinleri, Panton-Valentine lökositini saptamak, *agr* tiplerini, *SCCmec* gen ve sekans tiplerini ve PFGE profillerini tespit etmek ve karşılaştırmak
4. Elde edilecek veriler ile ülkemizde çocuk yaş grubunda enfeksiyon etkeni olan toplum ve hastane ortamında yayılım gösteren *S. aureus* suşlarının epidemiyolojisine katkı sağlamak ve bunlarla ortaya çıkan enfeksiyonların ampirik tedavisinde klinisyenlere yol göstermek amaçlandı.

4. MATERYAL VE METOD

Kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

Kültür için kullanılan kanlı agar

Dehidrate besiyeri (Himedia laboratories, Hindistan) 40 g/L konsantrasyonunda olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. 50-55°C’ye soğutulup, %5 oranında defibrine koyun kanı ilave edildi, karıştırılıp petri plaklarına döküldü.

Gliserollü buyyon

İzolatların saklanması için %5 gliserollü buyyon kullanıldı

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) için kullanılan tamponlar

TE tamponu: 10 mM TrisHCl + 1 mM EDTA (pH: 8)

Hazırlanışı: 1,57 gr TrisHCl + 0,37 gr EDTA + 1000 mL

PCR tamponu

Pulsed Field Jel Elektroforezinde kullanılan tampon ve agarozlar

TE tampon: 10 mM TrisHCl + 1 mM EDTA (Ph:8)

Hazırlanışı: 1,57 gr TrisHCl + 0,37 gr EDTA + 1000 mL

Lysis Buffer: 6 mM TrisHCl + 1M NaCl + 100 mM EDTA (Ph:8) + %0,2 Na deoksikolat + %0,5 Na lauroylsarcosine

Hazırlanışı: 0,95 g TrisHCl + 58,44 g NaCl + 37,24 g EDTA + 2 g Na deoksikolat + 5 g Na lauroylsarcosine + 1000 mL

Proteinaz K (PK) tamponu: 250 mM EDTA + %1 sarkosyl (Ph:9)

Hazırlanışı: 93,06 g EDTA + 10,00 g Sarkosyl + 1000 ml

%2’lik LMP (low melt point) agaroz: 2 g LMP + 100 mL TE tamponu

10X TBE (pH:7-9): 0,89M Tris + 0,89M Borik asit + 0,02M EDTA

Hazırlanışı: 108 gr Tris + 55 gr Borik Asit + 40 ml EDTA

%1’lik PFGE agaroz: 1 g PFGE agaroz + 100 mL 0.5XTBE

PCR için kullanılan primerler:

luk-PV1 (5’ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCC A3’)

luk-PV2 (5’GCA TCA AST GTA TTG GAT AGC AAA AGC3’)

sea1a (GCA GGGAAC AGC TTT AGG C)

sea1b (GTT CTG TAG AAG TAT GAA ACA CG)
 seb-sec1a (ATG TAA TTT TGA TAT TCG CAG TG)
 seb-sec1b (TGC AGG CAT CAT ATC ATA CCA)
 sec1a (CTT GTA TGT ATG GAG GAA TAA CAA)
 sec1b (TGC AGG CAT CAT ATC ATA CCA)
 sed1a (GTG GTG AAA TAG ATA GGA CTG C)
 sed1b (ATA TGA AGG TGC TCT GTG G)
 see1a (TAC CAA TTA ACT TGT GGA TAG AC)
 see1b (CTC TTT GCA CCT TAC CGC)
 seg1a (CGT CTC CAC CTG TTG AAG G)
 seg1b (CCA AGT GAT TGT CTA TTG TCG)
 seh1a (CAA CTG CTG ATT TAG CTC AG)
 seh1b (GTC GAA TGA GTA ATC TCT AGG)
 sei1a (CAA CTC GAA TTT TCA ACA GGT AC)
 sei1b (CAG GCA GTC CAT CTC CTG)
 sej1a (CAT CAG AAC TGT TGT TCC GCT AG)
 sej1b (CTG AAT TTT ACC ATC AAA GGT AC)
 tst1a (GCT TGC GAC AAC TGC TAC AG)
 tst1b (TGG ATC CGT CAT TCA TTG TTA A)
 16S rRNA1a (GTA GGT GGC AAG CGT TAT CC)
 16S rRNA1b (CGC ACA TCA GCG TCA G)
 agr tip1 (GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT)
 agr tip 2 (TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC)
 agr tip 3 (GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAA TAC CCA G)
 agr tip 4 (CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG)
 panR (ATG CAC ATG GTG CAC ATG C)
 mecA1 (5'GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A3')
 mecA2 5'-CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A3')
 CIF2F2 (TTC GAG TTG CTG ATG AAG AAG G)
 CIF2R2 (ATT TAC CAC AAG GAC TAC CAG C)
 MECIP2 (ATC AAG ACT TGC ATT CAG GC)
 MECIP3 (GCG GTT TCA ATT CAC TTG TC)

RIF5F10 (TTC TTA AGT ACA CGC TGA ATC G)
 RIF5R13 (GTC ACA GTA ATT CCA TCA ATG C)
 ccrB2F2 (AGT TTC TCA GAA TTC GAA CG)
 ccrB2R2 (CCG ATA TAG AAW GGG TTA GC)
 DCSF2 (CAT CCT ATG ATA GCT TGG TC)
 DCSR1 (CTA AAT CAT AGC CAT GAC CG)
 MECAP4 (TCC AGA TTA CAA CTT CAC CAG G)
 MECAP7 (CCA CTT CAT ATC TTG TAA CG)
 ccrCF2 (GTA CTC GTT ACA ATG TTT GG)
 ccrCR2 (ATA ATG GCT TCA TGC TTA CC)
 KDPF1 (AAT CAT CTG CCA TTG GTG ATG C)
 KDPR1 (CGA ATG AAG TGA AAG AAA GTG G)
 SCC*mec*III J1F (CAT TTG TGA AAC ACA GTA CG)
 SCC*mec*IIIJ1R (GTT ATT GAG ACT CCT AAA GC)
 SCC*mec*VJ1F (TTC TCC ATT CTT GTT CAT CC)
 SCC*mec*VJ1R (AGA GAC TAC TGA CTT AAG TGG)
 arcC up (TTGbATT CAC CAG CGC GTA TTG TC)
 arc C down (AGGTATCTGCTTCAATCAGCG)
 aro E up (ATCGGAAATCCTATTTACATTTC)
 aroE down (GGTGTTGTATTAATAACGATATC)
 glpF up (CTAGGAAGTCAATCTTAATCC)
 glp F down (TGGTAAAATCGCATGTCCAATTTC)
 gmk-Up (ATCGTTTTATCGGGACCATC)
 gmk-Dn (TCATTAAGTACAACGTAATCGTA)
 pta-Up (GTTAAAATCGTATTACCTGAAGG)
 pta-Dn (GACCCTTTTGTTGAAAAGCTTAA)
 tpi-Up (TCGTTCATTCTGAACGTCGTGAA)
 tpi-Dn (TTTGACCTTCTAACAATTGTAC)
 yqiL-Up (CAGCATACAGGACACCTATTGGC)
 yqiL-Dn (CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC)

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Ocak 2011 ile Aralık 2012 tarihleri arasında ayaktan veya yatırılarak tedavi edilen çocuk hastalardan, enfeksiyon etkeni olarak üretilen 150 adet *S. aureus* suşu üzerinde prospektif olarak yürütüldü.

Araştırmanın yapılabilmesi için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) Etik Kurulu'na başvurularak etik kurul onayı alındı (13.06.2011/32-265).

Araştırma, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 12B3330002 proje numarası ile desteklendi.

Hasta Grupları

Araştırmaya 18 yaşından küçük olup, *S. aureus* enfeksiyonu saptanan hastalar dâhil edildi. Hastalardaki enfeksiyon; CDC'nın 2000 yılında yapmış olduğu tanımlama çerçevesinde toplum kökenli veya sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyon olarak iki gruba ayrıldı. Böylelikle tespit edilen toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyon etkeni *S. aureus* suşlarının özellikleri karşılaştırıldı.

Toplum kökenli 70 hasta ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili 80 hastada tespit edilen *S. aureus* suşu incelemeye alındı.

Kültürlerin alınması ve taşınması

Çocuklarda apse drenaj materyali (n=43), lezyon ve kesi sürüntü yeri (n=41), kan (n=17), kateter ve kateter ucu (n=13), konjunktiva akıntısı (n=12), kulak akıntısı (n=7), idrar (n=4), beyin omurilik sıvısı (n=4), yara yeri (n=2), trakeal aspirat örneği (n=2), eklem sıvısı (n=2), plevra sıvısı (n=1), periton sıvısı (n=1) ve kemik doku (n=1) gibi enfeksiyonun olduğu düşünülen bölgelerden örnekler uygun yöntemle alındı. Alınan kulak akıntısı, konjunktiva akıntısı, apse drenaj materyali, lezyon ve kesi sürüntü yeri ve yara yeri örnekleri Stuart (Orbak, Türkiye) taşıma besiyerinde, idrar, BOS, eklem sıvısı, plevra sıvısı ve periton sıvısı gibi steril bölgelerden alınan örnekler steril kaplar içerisinde 20 dakikada ulaşacak şekilde AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na götürüldü.

Kültürlerin ekilmesi ve değerlendirilmesi

Kültürlerin ekilmesi ve değerlendirilmesi AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Alınan kültürler %5 koyun kanlı agar plaklarına ekildi. Agar plakları 37°C’de 24 saat normal atmosfer şartlarında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası incelenen agar plaklarında koloni morfolojisi stafilokok ile uyumlu olan ve yapılan Gram boyamada gram pozitif kok morfolojisinde görülen suşlara katalaz testi uygulandı. Katalaz pozitif olan suşlar stafilokok olarak kabul edildi. Stafilokok suşlarında *S. aureus* identifikasyonu için lamda koagülaz testi uygulandı.

Katalaz testi

Bir lam üzerinde koloni ile bir damla hidrojen peroksit karıştırıldığında, O₂ gazı oluşumuna bağlı olarak hava kabarcıklarının olduğu görülür. Bu durumda katalaz testi pozitif kabul edilir.

Koagülaz testi

Lamda koagülaz testinde, temiz bir lam üzerinde bir damla serum fizyolojik içerisinde süspanse edilen koloni üzerine bir damla EDTA’lı tavşan plazması damlatıldığında saniyeler içerisinde pıhtılardan oluşan kümelenmelerin görülmesi durumunda lamda koagülaz testi pozitif kabul edildi.

Kirby-Bauer Disk difüzyon yöntemi ile *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının saptanması

Antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon testi uygulandı (73). *S. aureus* izolatlarının 0,5 McFarland bulanıklık standardına uygun olarak ($1,5 \times 10^8$ bakteri/mL) steril serum fizyolojik içinde çözeltileri hazırlanarak, %4 NaCl içeren Müeller-Hinton agar (BD, Amerika) üzerine üç yönde ekimleri yapıldı. Metisilin direncinin belirlenmesi için 1 µg oksasilin diski (Bioanalyse, Türkiye) ile 30 µg sefoksitin diski (Bioanalyse, Türkiye) kullanıldı. 18-24 saatlik inkübasyondan sonrasında oksasilin ve sefoksitin inhibisyon zon çapları sırasıyla <11 ve/veya <22 mm olanlar MRSA kabul edildi. İzolatların diğer antibiyotiklere duyarlılığın araştırılmasında penisilin, ampisilin-sulbaktam, eritromisin, klindamisin, rifampisin, gentamisin, netilmisin, siprofloksasin, tetrasiklin, trimetoprim-sulfometoksazol

(TMP-SMX), teikoplanin, linezolid diskleri (Bioanalyse, Türkiye) kullanılarak sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (Tablo 3).

Tablo 3. *S. aureus* suşlarında CLSI tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon duyarlılık sınırları.

ANTİBİYOTİKLER	ZON ÇAPI (mm)		
	DUYARLI	ORTA DUYARLI	DİRENÇLİ
Penisilin	≥29	-	≤28
Ampisilin-sulbaktam	≥15	12-14	≤11
Sefoksitin	≥22	-	≤21
Oksasilin	≥13	11-12	≤10
Eritromisin	≥23	14-22	≤13
Klindamisin	≥21	15-20	≤14
Rifampisin	≥20	17-19	≤16
Siprofloksasin	≥21	16-20	≤15
Tetrasiklin	≥19	15-18	≤14
TMP-SMX	≥16	11-15	≤10
Netilmisin	≥15	13-14	≤12
Gentamisin	≥15	13-14	≤12
Teikoplanin	≥14	11-13	≤10
Linezolid	≥21	-	≤20

Etkenlerin saklanması

Moleküler analizin başlayacağı zamana kadar izole edilen *S. aureus* suşları %5'lik gliserol ihtiva eden 1 mL buyyon içerisinde -20°C'de saklandı.

Moleküler analiz için etkenlerin tekrardan üretilmesi

Gliserollü buyyon içerisindeki *S. aureus* izolatları oda sıcaklığına getirildikten sonra %5 koyun kanlı agar tek koloni düşürecek şekilde ekildi. Ekim sonrası 37°C'de 24 saat normal atmosfer şartlarında inkübe edildi. Inkübasyon sonrası steril öze ile alınan tek bir koloni 6 mL'lik buyyona pasajlandı ve 37°C de 24 saat normal atmosfer şartlarında inkübe edildi.

Moleküler analizler AÜTF Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Moleküler Tanı ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) için DNA ekstraksiyonu

S. aureus üretilen buyyon nazıkçe vortekslenip süspansiyon homojen hale getirildikten sonra 1 mL bakteri içeren buyyon temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alındı. Beş dakika süreyle 15.000xg'de santrifüjlendi. Santrifüj sonrası süpernatant döküldü.

Pellet üzerine 200 µL TE tamponu koyuldu. 2 dakika vortekslendi. Karışımın üzerine 10 µL lizostafin (10 mg/mL) eklenerek 37°C’de 2 saat inkübe edildi. Inkübasyon sonrası 95°C kuru ısıtıcıda 10 dakika kaynatıldı ve 2 dakika vortekslendi. Karışım 15.000 xg’de 5 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alınarak kit ile kullanılmayacak yaklaşık 100 µL kısım -20°C’de dondurularak saklandı. Geriye kalan 100 µL’lik kısımda GeneMATRİX bakteriyel genomik DNA ekstraksiyon kiti (EUR_x, Polonya) ile üreticinin önerileri doğrultusunda aşağıda belirtildiği şekilde DNA ekstraksiyonuna devam edildi. 100 µL DNA ekstraktı 200 µL ‘‘Lyse BG Buffer’’ ile karıştırıldı. Üzerine 50 µL ‘‘buffer BL’’ ve 2 µL RNAase A eklenerek 3 saniye vortekslendi. Karışım 37°C’de 15 dakika inkübe edildi. Sonrasında 15 µL proteinaz K (20 mg/mL) eklendi. 3 saniye vortekslendikten sonra 55°C’de 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında 350 µL ‘‘sol BG’’ eklenerek 3 saniye vortekslendi. Karışım tekrar 55°C’de 5 dakika inkübe edildi. 15 saniye vortekslendikten sonra 11.000xg’de 2 dakika santrifüjlendi. Süpernatant ‘‘spin kolon’’a alınıp 11.000xg’de 1 dakika daha santrifüjlendi. Spin kolon çıkartılıp, süpernatant döküldükten sonra spin kolon aynı tüpe tekrar takıldı ve üzerine 600 µL ‘‘Wash B6X buffer’’ eklendi. Karışım 11.000xg’de 1 dakika santrifüjlendi. Spin kolon çıkartılıp süpernatant döküldükten sonra spin kolon aynı tüpe tekrar takıldı ve tekrar 300 µL ‘‘Wash B6X buffer’’ eklendi. Karışım 11.000 xg’de 2 dakika santrifüjlendikten sonra spin kolon temiz bir mikrosantrifüj tüpüne takıldı. Üzerine önceden 80°C’ye ısıtılmış 100 µL ‘‘Elution buffer’’ kolonun tam ortasına olacak şekilde pipetlendi. İki dakika oda sıcaklığında beklendikten sonra 11.000xg’de 2 dakika santrifüjlendi ve elde edilen DNA %1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek görüntülendi. DNA örnekleri PCR yapılana kadar -20°C’de saklandı.

***mecA* tayini**

mecA tayini *mecA1* ve *mecA2* primerleri kullanılarak literatürde belirtildiği şekilde PCR yöntemi ile yapıldı. (74). Amplifikasyon sonucunda elde edilen 310 bp’lik bölge pozitif kabul edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyon karışımı 20 µL toplam hacim içerisinde 2,5 µL DNA örneği, 1X PCR tamponu, 200 µM dNTP, 2 mM MgCl₂, 15 pmol *mecA1*, 15 pmol *mecA2*, 1U Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde hazırlandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon şartları şu şekilde uygulandı: 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyonu takiben 35 siklus olacak şekilde, 94°C’de 60 sn denatürasyon, 57°C’de 60 sn bağlanma ve 72°C’de 45 saniye uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C’de 7 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %2’lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi. Pozitif kontrol olarak GRE14 suşu kullanıldı.

PVL genlerinin varlığının gösterilmesi

Elde edilen DNA örneği, luk-PV1 ve luk-PV2 oligonükleotid primerleri kullanılarak, literatürde belirtildiği şekilde PCR yöntemi ile amplifiye edildi (7). Amplifikasyon sonucunda elde edilen 433 bp’lik bölge, *lukS-PV* geninin son bölgesini ve *lukF-PV* geninin başlangıcını içerdiğinden iki genin de varlığını gösterdi. İnternal kontrol olarak giraz enzimini kodlayan 280 bp’lik bölgede yer alan *gyrAF* ve *gyrAR* primerleri kullanılarak amplifiye edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyon karışımı 25 µL toplam hacim içerisinde 2 µL DNA örneği, 1x PCR tamponu, 200 µM dNTP, 2,5 mM MgCl₂, 10 pmol *lukF-PV1*, 10 pmol *lukF-PV2*, 10 pmol *gyrAF*, 10 pmol *gyrAR*, 1U Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde hazırlandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon şartları şu şekilde uygulandı: 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyonu takiben 30 siklus olacak şekilde, 94°C’de 30 sn denatürasyon, 55°C’de 30 sn bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C’de 5 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %2’lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi. GRE14 suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

SCCmec tayini

SCCmec tiplerinin tayini literatürde belirtildiği şekilde multipleks PCR yöntemi ile yapıldı (75). CIF2F2 (20 pmol/µL), CIF2R2 (20 pmol/µL), MECIP2 (40 pmol/µL), MECIP3 (40 pmol/µL), RIF5F10 (20 pmol/µL), RIF5R13 (20 pmol/µL), ccrB2F2 (40 pmol/µL), ccrB2R2 (40 pmol/µL), DCSF2 (40 pmol/µL), DCSR1 (40 pmol/µL), MECAP4 (40 pmol/µL), MECAP7 (40 pmol/µL), ccrCF2 (40 pmol/µL), ccrCR2 (40 pmol/µL), KDPF1 (10 pmol/µL), KDPR1 (10 pmol/µL), SCCmecIII J1F (20 pmol/µL), SCCmecIIIJ1R (20 pmol/µL), SCCmecVJ1F (20 pmol/µL), SCCmecVJ1R (20 pmol/µL) primerlerinin her birinden 30µL içerecek şekilde stok

primer solüsyonu hazırlandı. Stok primer solüsyonundan örnek başına 20 µL olacak şekilde kullanıldı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon karışımı 50 µL toplam hacim içerisinde 20 µL primer karışımı 5 µL DNA örneği, 1XPCR tamponu, 200 µM her bir dNTP, 3,2 mM MgCl₂ ve 2,5U Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde hazırlandı.

PCR şartları şu şekilde uygulandı: 94°C'de 4 dakika ilk denatürasyonu takiben 30 siklus olacak şekilde, 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 53°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C'de 4 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %3'lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi. Pozitif kontrol olarak GRE14 (tip IV), HPV107 (tipbIA), BK2464 (tipbII), HUSA304 (tip III), HDE 288 (tip IV), HSJ 216 (tip IIIA) suşları kullanıldı.

Tip I için 495 bç, 342 bç ve 162 bç (mec kontrolü); Tip II için 342 bç, 311 bç, 284 bç, 209 bç ve 162 bç (mec kontrolü); Tip III için 414 bç, 243 bç, 209 bç ve 162 bç (mec kontrolü); Tip IV için 342 bç, 311 bç ve 162 bç (mec kontrolü); Tip V için 449 bç, 377 bç ve 162 bç (mec kontrolü) ve Tip VI için 342 bç ve 162 bç (mec kontrolü) bölgelerinde bantlar elde edilerek tiplendirme yapıldı.

***agr* tip tayini**

agr tiplendirimi literatürde belirtildiği şekilde multipleks PCR yöntemi ile yapıldı (23). *agr* tip 1 için 441 bç, *agr* tip 2 için 575 bç, *agr* tip 3 için 323 bç, *agr* tip 4 için 659 bç bölgelerinde bant elde edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyon karışımı 25 µL toplam hacim içerisinde 2 µL DNA örneği, 1X PCR tamponu, 200 µM dNTP, 5 mM MgCl₂, 7,5 pmol *agr*1, 7,5 pmol *agr*2, 7,5 pmol *agr*3, 7,5 pmol *agr*4, 30 pmol *PanR* primerleri ve 1,5U Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde hazırlandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon şartları şu şekilde uygulandı: 94°C'de 4 dakika ilk denatürasyonu takiben 26 siklus olacak şekilde, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 48°C'de 30 sn bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C'de 10 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %2'lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi.

Enterotoksin genlerinin tayini

Enterotoksin genlerinin tayini literatürde belirtildiği şekilde gruba özgül multipleks PCR yöntemi ile saptandı (76). Enterotoksin A için 520 bç, enterotoksin B-C için 643 bç, enterotoksin C için 283 bç, enterotoksin D için 384 bç, enterotoksin E için 170 bç, enterotoksin G için 327 bç, enterotoksin H için 320 bç, enterotoksin İ için 465 bç, enterotoksin J için 142 bç, Toksik Şok Toksini için 559 bç, 16 s rRNA için 228 bç bölgelerinde pozitif sinyal verenler o enterotoksin geni için pozitif kabul edildi.

Enterotoksinler için primer karışımının oluşturulması:

sea1a, sea1b, seb-sec1a, seb-sec1b, sec1a, sec1b, sed1a, sed1b, see1a, see1b, seg1a, seg1b, seh1a, seh1b, sei1a, sei1b, sej1a, sej1b, tst1a, tst1b, 16S rRNA1a, 16S rRNA1b primerlerinin her birinden 30 pmol/μL içerecek şekilde stok solüsyonları hazırlandı. Stok primer solüsyonundan örnek başına 0,5 μL olacak şekilde primer karışımı oluşturuldu.

Polimeraz Zincir Reaksiyon karışımı 50 μL toplam hacim içerisinde 22 μL primer karışımı, 5 μL DNA örneği, 1X PCR tamponu, 400 μM dNTP, 4 mM MgCl₂, ve 5U Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde hazırlandı.

PCR şartları şu şekilde uygulandı: 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyonu takiben 15 siklus olacak şekilde, 95°C’de 60 sn denatürasyon, 68°C’de 45 sn bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Bunu takiben ikinci kez 16 siklus olacak şekilde 95°C’de 60 sn denatürasyon, 64°C’de 45 sn bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C’de 10 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %2’lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi.

PFGE (Pulsed Field Gel Elektroforezi)

Bu amaçla Kanada PFGE protokolü modifiye edilerek kullanıldı (77).

Plug hazırlanması

Bir koloni *S. aureus* 6 mL’lik buyyon içerisinde 37°C de 24 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonrası her bir etkenin ürettiği buyyon 610 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Tüm örneklerin absorbansları 0,9-1,1 arasında olacak şekilde ayarlandıktan sonra 200 μL kültür süspansiyonu 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne alındı ve 18.000xg’de 3 dakika santrifüjlendi. Süpernatant

döküldü. Pellet üzerine 150 µL TE tamponu eklendi. Karışım 37°C su banyosunda 10 dakika bekletildi. Bu sırada plug tutucu ve %2'lik LMP agaroz hazırlandı. Her bir örnek üzerine 4 µL lizostafin (10 mg/mL) ve %2'lik LMP agaroz eklendi. Plug tutucuya hava kabarcığı kalmayacak şekilde yaklaşık 100 µL dolduruldu. Pluglar oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika, +4°C'de 5 dakika tutularak katılaşmaya bırakıldı. Pluglar, plug tutucudan dikkatle çıkartılarak 3 mL "Lysis Buffer" içeren tüplere alındı. En az 4 saat süreyle 37 °C'de çalkalanarak inkübe edildi. Sonrasında tampon uzaklaştırıldı. Plugların üzerine 1000 µL PK tamponu ve 10 µL proteinaz K (20 mg/ml) enzimi eklendi. Karışım 50°C'de en az 2 saat süreyle inkübe edildi. Sonrasında tampon uzaklaştırıldı. Plugların üzerine en az 4 mL olacak şekilde TE tamponu eklendi. Çalkalayıcıda 30 dakika yıkandı. Bu yıkama işlemi her defasında TE tamponu değiştirilerek 5 kez tekrarlandı. Pluglar 2 mL TE tamponu içerisine alınarak enzimle kesimleri yapılmaya kadar +4°C'de saklandı.

DNA'nın restriksiyon enzimi ile kesimi

Plugların yarısı kesilerek 1000 µL distile su içeren tüpe alındı ve 20 dakika çalkanarak yıkandı. Distile su uzaklaştırıldıktan sonra plug üzerine örnek başına 200 µL 1X kesim tamponu (20 µL tampon + 180 µL distile su) eklendi. Oda sıcaklığında 30-45 dakika çalkalanarak inkübe edildi. Sonrasında tampon uzaklaştırıldı. Üzerine enzim-tampon ve distile su karışımı (177 µL distile su + 20 µL tampon + 30 µL *Sma*I) eklendi. 25°C'de 4 saat inkübe edildi. Kesim öğleden sonraya kaldıysa inkübasyon gece boyunca devam ettirildi. Sonrasında tampon uzaklaştırıldı. Plug önce 20 dakika süreyle 1000 µL distile su içerisinde yıkandı, daha sonra 1000 µL 0.5X TBE tamponu eklenerek 30-60 dakika oda sıcaklığında çalkalandı.

Elektroforez jelinin hazırlanması

PFGE agaroz kullanılarak (BioRad Laboratories, Fransa) %1'lik jel hazırlandı. 15 dişli tarağın dişlerinin uç kısmına pluglardan 2 mm kalınlığında parçalar kesilerek yerleştirildi. Agaroz kalıplarının etrafında kalan ıslaklık kurutma kağıdı ile uzaklaştırıldı. Beş dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra tarakların altı tablaya degecek şekilde yerleştirildi. Elli beş dereceye soğuyan jel hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek kasete döküldü. Katılaşması için yaklaşık 30 dakika beklendi. Tarak dikkatle çıkartıldı. Tarakların açtığı boşluklar önceden ayrılan %1'lik PFGE jel ile dolduruldu. Ortadaki kuyucuğa moleküler büyüklük belirteci

(lambda ladder, marka, ülke) yerleştirildi. Tabla üzerindeki agaroz içerisinde 2000 ml 0,5XTBE tamponu bulunan PFGE tankına yerleştirildi. Kromozomal DNA bantları; CHEF DR II (Bio-Rad Hercules, ABD) PFGE cihazında başlangıç ve final zamanları 5,3 sn ve 34,9 sn olacak şekilde 6V/cm akım, 14°C sıcaklıkta 20 saat yürütülerek ayrıldı.

Sonuçların gözlenmesi ve analizi

Elektroforez sonrasında jel 10 mg/mL etidyum bromür içeren 500 mL distile su ile 20-30 dakika boyandı. Ultra viyole (UV) transillüminatör altında fotoğrafı çekildikten sonra distile su ile 10. ve 20. dakikalarda suyu değiştirilerek 90 dakika yıkandı. Böylelikle DNA'ya bağlanmamış olan boya uzaklaştırıldı. UV transillüminatör altında fotoğrafı çekilip, kaydedildi.

PFGE sonrasında oluşan DNA paternleri hem gözle hem de 'Gene Directory Programme (Syngene, UK)' ile değerlendirildi. Benzerlik indeksi 'Dice' katsayısı kullanılarak %1,5 tolerans değerinde oluşturuldu. İzolatlar arası kümelenme ilişkisi UPGMA (unweighted pair group method of arithmetic averages) yöntemi kullanılarak gösterildi. İzolatlar arası genotipik ilişkinin göz ile değerlendirilmesinde Tenover ve ark. (53) tarafından belirlenen ilkeler benimsendi.

MLST (Multilokus sekans tiplendirmesi)

Sekansı yapılacak örnekler, temelde PFGE ile saptanan aynı klonal gruba ait izolatlardan bir tanesi ile geriye kalan izolatlar arasından toplum ve hastane kökenli olmaları dikkate alınarak seçildi.

MLST analizinde Enright ve ark. nın (71) belirttikleri yöntem uygulandı. Sekans analizini saptamada 7 farklı yapısal gen (*arcC*, *aroE*, *yqil*, *gmk*, *glp*, *pta*, *tpi*) için yaklaşık 400-500 bp'lik PCR ürünü elde edildi. Elde edilen PCR ürünlerinin sekans analizleri yapılmak üzere Refgen Laboaratuvarına (Ankara) gönderildi. Elde edilen dendogramlar göz ile değerlendirildikten sonra diziler MLST web sayfasına (<http://www.mlst.net>) girilerek allel numaraları saptandı. Yedi yapısal gen için ayrı ayrı saptanan allel numaralarına karşılık gelen sekans tipi elde edildi.

Yapısal genlerin amplifikasyonu için PCR karışımı 50 µL toplam hacim içerisinde 2,5 µL DNA örneği, 1x PCR tamponu, 200 µM dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 10 pmol primerF, 10 pmol primerR ve 1U Taq polimeraz içerecek şekilde hazırlandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon şartları şu şekilde uygulandı: 94°C’de 4 dakika ilk denatürasyonu takiben 30 siklus olacak şekilde, 94°C’de 30 sn denatürasyon, 48°C’de 30 sn bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Son olarak 72°C’de 10 dakika son uzamayı takiben elde edilen PCR ürünleri 3 saat süreyle %2’lik agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyanan jel UV altında görüntülendi.

İstatistiksel İnceleme

İstatistiksel analiz Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı’nda yapıldı. İstatistiksel analiz için SPSS 17.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler dağılımı normal olan değişkenler için ortalama±standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için median (minimum-maksimum), nominal değerler için hasta sayısı ve (%) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünde farkın önemliliği student’s t testi ile ortanca testler yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ile araştırıldı. Kategorik değişkenlikler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde ki kare testi ve Fisher’s kesin ki kare testleri kullanıldı. Bağımız iki oranın karşılaştırılması amacıyla evren oranı hipotez testi kullanıldı. p değeri<0,05 bulunması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmamıza 2011 ve 2012 yılları içerisinde 18 yaşından küçük, toplum veya sağlık bakım hizmeti ile ilişkili *S. aureus* enfeksiyonu saptanan 150 çocuk dâhil edildi. Çalışmanın yürütüldüğü iki yıl içinde toplum kökenli 70 hasta, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili 80 hasta saptandı. Hastaların 88 (%58,7)'si erkek, 62 (%41,3)'ü kız cinsiyet olup, ortalama yaş 19,5 ay (3 gün - 18 yaş) idi.

Hastaların gruplara ve yıllara göre dağılımı

Yıllara göre baktığımızda 2011 yılında toplam 54 hasta, 2012 yılında ise toplam 96 hasta dahil edildi. Toplum kökenli enfeksiyonların %57,1'i, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların %60'ı erkek cinsiyette görüldü.

Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların cinsiyete göre dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların cinsiyete göre dağılımı.

CİNSİYET	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	P değeri
Erkek	40	48	88	0.725
Kız	30	32	62	
TOPLAM	70	80	150	

Hastalarda oluşturulan gruplara göre saptanan enfeksiyonlar

Çalışmamıza dahil olan hastalarda cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları (apse, yara yeri enfeksiyonu, cerrahi yara yeri enfeksiyonu, impetigo, omfalit, fronkül, sellülit, nekrotizan fasiit, damar yolu giriş yeri enfeksiyonu), göz ve kulak enfeksiyonları (konjunktivit, perfore otit, eksternal otit), bakteriyemi, endokardit, sepsis, kateter ilişkili enfeksiyonlar (periton ve perkutan gastrostomi kateteri de dahil kateter çıkış yeri enfeksiyonları, kateter tünel enfeksiyonları, kateter ilişkili kan akım enfeksiyonları), kemik ve eklem enfeksiyonları (septik artrit, osteomyelit), menenjit (ventriküloperitoneal şant enfeksiyonu da dahil), idrar yolu enfeksiyonu (İYE), ventilatör ilişkili pnömoni (VAP), peritonit ve pnömoni-ampiyem tespit edildi. Bu enfeksiyonların gruplara göre dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir

Tablo 5. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların dağılımı

TANI	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	P değeri
Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu	45 (%64,2)	32(%40)	77 (%51,3)	-
Göz ve kulak enfeksiyonu	16 (%22,8)	3 (%3,7)	19 (%12,6)	0.949
Bakteriyemi-endokardit-sepsis	4 (%5,7)	14 (%17,5)	18 (%12)	0.449
Kateter ilişkili enfeksiyonu	-	17 (%21,2)	17 (%11,3)	0.837
Kemik ve eklem enfeksiyonu	2 (%2,8)	3 (%3,7)	5 (%3,3)	-
Menenjit	-	4 (%5)	4 (%2,6)	-
Üriner sistem enfeksiyonu	2 (%2,8)	2 (%2,5)	4 (%2,6)	-
Ventilatör ilişkili pnömoni	-	2 (%2,5)	2 (%1,3)	-
Peritonit	-	2 (%2,5)	2 (%1,3)	-
Pnömoni-ampiyem	1 (%1,4)	1 (%1,2)	2 (%1,3)	-
TOPLAM	70	80	150	-

Hastalarda uygulanan tedavilerin özellikleri

Çalışmamıza dahil olan hastalarda lokal tedavi (antibiyotikli merhem, antibiyotikli göz ve kulak damlaları, pansuman), cerrahi tedavi (apse drenajı, pansuman, gümüş nitrat ile yakma, debridman, kateter çekilmesi, şant çıkartılması, göğüs tüpü takılması, dren yerleştirilmesi, kemik içine antibiyotikli çimento uygulanması, eklem aspirasyonu), oral veya yatırırlarak parenteral antibiyotik tedavisi uygulandı. Bazı hastalarda bu tedavi şekilleri birlikte kullanıldı. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarında uygulanan tedavi özellikleri Tablo 6a ve 6b’de gösterilmiştir.

Tablo 6a. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda uygulanan tedavi özellikleri

TEDAVİ ÖZELLİKLERİ	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	P değeri
Ayaktan tedavi	48	18	66	<0.001
Yatırırlarak tedavi	22	62	84	

Tablo 6b. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda uygulanan tedavi ozellikleri

TEDAVİ ÖZELLİKLERİ	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	P değeri
Lokal tedavi uygulanımı	57	44	101	<0.001
Cerrahi tedavi gereksinimi	33	49	82	0.083
Parenteral tedavi gereksinimi	22	62	84	<0.001

Yatırılarak tedavi edilen hastaların yatış oranları

Çalışmamıza dâhil olan hastaların hastanede yatırılarak tedavi edildikleri gün sayısı Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Hastaların hastanede yatırılarak tedavi edildikleri gün sayısı

Yatış günü sayısı	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	P değeri
Ortalama $\pm$ SD sapma (gün)	7,23 ($\pm$ 5,21)	16 ($\pm$ 13,55)	13,7 ($\pm$ 12,52)	0.006
Ortanca (min-maks) (gün)	6 (2-21)	11,5 (3-66)	9 (2-66)	

Hastalarda *S. aureus* suşlarının saptandığı yerler

Çalışmaya dahil edilen hastalarda enfeksiyon etkeni uygun yöntemle alınan apse drenaj materyali (n=43), lezyon ve kesi yeri (n=41), kulak akıntısı (n=7), konjunktiva akıntısı (n=12), yara yeri (n=2), kan (n=17), kateter (n=8) ve kateter ucu (n=5), BOS (n=4), periton (n=1), plevra (n=1) ve eklem sıvısı (n=2), idrar (n=4), trakeal aspirat (n=2) ve kemik dokudan (n=1) elde edilen örneklerde üretildi. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının üretildiğı yerler Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının üretildiği yerler

ÖRNEK ALINMA YERİ	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM
Lezyon, yara ve kesi yeri	24	19	43
Apse drenaj materyali	22	21	43
Kan	5	12	17
Konjunktiva akıntısı	12	-	12
Kulak akıntısı	4	3	7
Kateter ve kateter ucu	-	13	13
Beyin omurilik sıvısı	-	4	4
Periton sıvısı	-	1	1
Plevra sıvısı	-	1	1
Eklem sıvısı	1	1	2
İdrar	2	2	4
Trakeal aspirat	-	2	2
Kemik doku	-	1	1
TOPLAM	70	80	150

***Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranları ve MRSA suşlarının diğer antibiyotiklere karşı direnç durumu**

Çalışmamızda enfeksiyon etkeni olarak dahil edilen *S. aureus* suşlarının %93,8'i penisiline, %6,5'i ampisilin-sulbaktama, %6'sı sefoksitine, %6,9'u eritromisine, %2,8'i rifampisine, %5,5'i klindamisine, %0,7'si aminoglikozidlere (gentamisin veya netilmisin), %2,8'i siprofloksasine, %3,3' TMP-SMX'e ve %7,2'si tetrasikline direnç göstermekteydi. Sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda saptanan *S. aureus* etkenlerinde tetrasiklin direnci istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). Diğer antibiyotikler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. *S. aureus* etkenlerinin hepsi vankomisine, linezolide, kinupristin/dalfopristine, daptomisine ve fusidik aside duyarlı idi. *S. aureus* etkenlerinde fenotipik olarak metisilin direnci oksasilin ve/veya sefoksitin disk difüzyon yöntemi ile tespit edilen direnç varlığında kabul edildi. Toplum kökenli beş, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda dört olmak

üzere toplamda dokuz hastada fenotipik olarak metisiline dirençli *S. aureus* (fMRSA) tespit edildi.

Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının yüzdesi Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranları

ANTİBİYOTİK DİRENCİ	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	p değeri
Penisilin	%91,2 (62/68 D)	%96,2(76/79 D)	%93,8 (137/146 D)	0.303
Ampisilin-sulbaktam	%7,5 (5/66 D) %1,5 (1/66 OD)	%5,4 (4/73 D)	%6,5 (9/138 D) %0,7 (1/138 OD)	0.610
Sefoksitin	%7,1 (5/70 D)	%5,1 (4/78 D)	% 6 (9/148 D)	0.735
Eritromisin	%7,2 (5/69 D) %10,1 (7/69 OD)	%6,7 (5/74 D) %1,3 (1/74 OD)	%6,9 (10/143 D) %5,5 (8/143 OD)	0.735
Rifampisin	%0 (-/69 D)	%5,2 (4/76 D)	%2,8(4/145 D)	0.122
Klindamisin	%5,8 (4/68 D) %8,8 (6/68 OD)	%5,3 (4/75 D)	%5,5 (8/143 D) %4,1 (6/143 OD)	1.00
Gentamisin*	%0 (-/65 D)	%1,5 (1/63D) %1,5 (1/63 OD)	% 0,7 (1/128 D) % 0,7 (1/128 OD)	1.00
Siprofloksasin	%0 (-/65 D) %4,6 (3/65 OD)	%7,1 (4/76 D) % 7,8 (6/76 OD)	%2,8 (4/141 D) %6,3 (9/141 OD)	0.138
TMP-SMX	%1,4 (1/70 D)	%5 (4/80 D) %1,2 (1/80 OD)	% 3,3 (5/150 D) %0,6 (1/150OD)	0.372
Tetrasiklin	%1,5 (1/65 D) %1,5 (1/65 OD)	%12,3 (9/73 D)	%7,2 (10/137 D) %0,7 (1/137 OD)	0.019

D: Dirençli, **OD:** Orta düzeyde duyarlı, *2012 yılında netilmisin kullanılmıştır.

PCR ile *mecA* geni varlığı araştırılması sonucunda ise dokuz suшта genotipik olarak MRSA tespit edildi. Toplum kökenli dört suшта, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili beş suшта MRSA saptandı. Fenotipik olarak MRSA saptanan bir toplum kökenli suшта *mecA* geni bulunmazken, *mecA* geni taşıyan bir suş fenotipik olarak metisiline duyarlı tespit edildi. Metisilin direnci saptanan *S. aureus* suşlarının diğer antibiyotiklere olan direnç durumu Tablo 10’da gösterilmiştir.

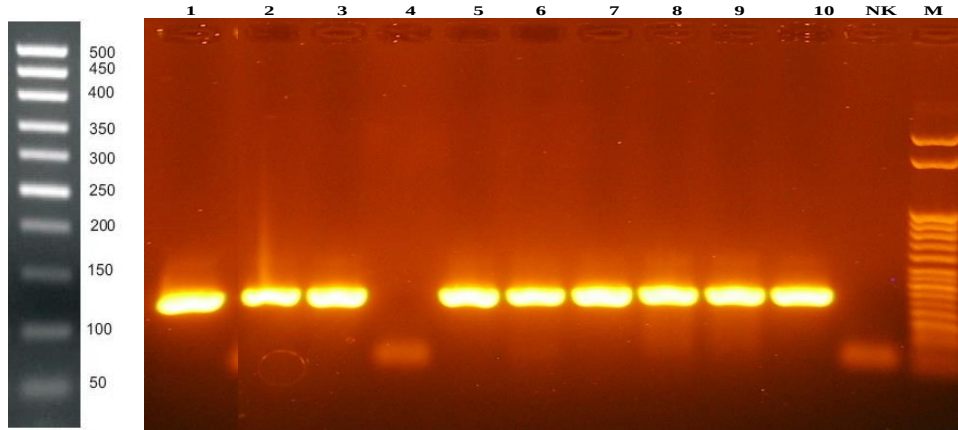
Tablo 10. Metisilin direnci saptanan *S. aureus* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç durumu

ANTİBİYOTİKLER	TOPLUM	HASTANE
Eritromisin	-	%20 D
Rifampisin	-	%40 D
Klindamisin	-	%20 D
Siprofloksasin	-	%25 D, %25 OD
TMP-SMX	%25 D	%40 D
Tetrasiklin	-	%75 D

D: Dirençli, **OD:** Orta düzeyde duyarlı

***Staphylococcus aureus* suşlarında *mecA* varlığının saptanması**

Tüm *S. aureus* suşlarının %6'sında *mecA* pozitifliği tespit edildi. Fenotipik olarak MRSA tespit edilen *S. aureus* suşundan bir tanesinde *mecA* negatifliği saptanırken, *mecA* pozitif saptanan bir suшта ise fenotipik olarak MRSA saptanmadı (Resim 1).



Resim 1. *S. aureus* suşlarında *mecA* pozitifliğinin görülmesi (marker dizilimi ve 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nolu örneklerde 310 bp'lik bölgede bant görünümü)

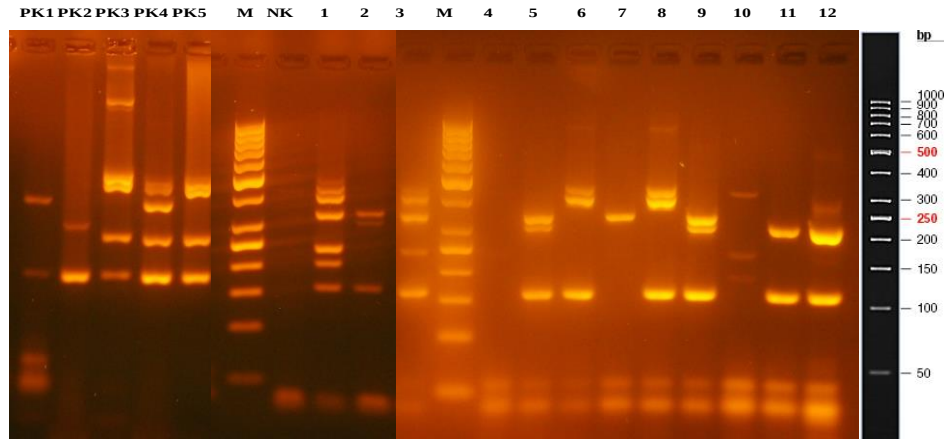
Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarında saptanan *mecA* pozitifliğinin dağılımı Tablo 11'de gösterildi.

Tablo 11. *S. aureus* suşlarındaki *mecA* pozitifliğinin gruplara göre dağılımı

<i>mecA</i> pozitifliği	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	p değeri
fMSSA	-	1	1	1.00
fMRSA	4	4	8	
TOPLAM	4	5	9	

***Staphylococcus aureus* suşlarında SCCmec tiplerinin belirlenmesi**

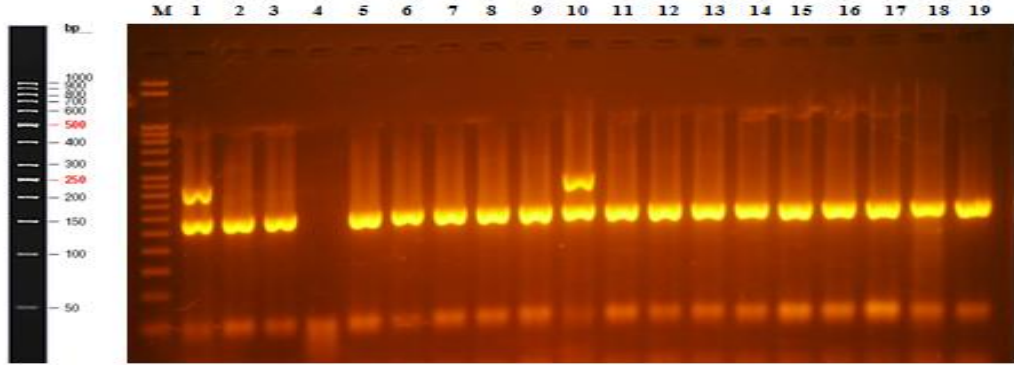
Çalışmamızda SCCmec tipi *mecA* pozitif saptanan dokuz MRSA suşunda araştırıldı. Buna göre, beş SBHİ MRSA suşundan ikisinde tip III, iki tanesinde tip IV ve bir tanesinde tip V bulunurken, toplum kökenli üç suşta tip IV ve bir suşta tip V saptandı. PCR sonuçlarının görüntüleri Resim 1’de gösterildi.



Resim 2. SCCmec tiplendirilmesinde elde edilen PCR görüntüleri [PK1 (HPV107 tip IA), PK2 (BK2464 tip II), PK3 (HUSA304 tip III), PK4 (HDE288 tip IV), PK5 (HSJ216 tip IIIA), M, NK, 1 (tip III), 2 (tip IV), 3 (tip III), M, 5 (tip IV), 6 (tip V), 8 (tip V), 9 (tip IV), 11 (tip IV), 12 (tip IV) ve marker dizilimi]

***Staphylococcus aureus* suşlarındaki PVL varlığının saptanması**

Tüm *S. aureus* suşlarının %8,7’sinde PVL pozitifliği tespit edildi.



Resim 3. *S. aureus* suşlarında *PVL* pozitifliğinin görülmesi (marker dizilimi ve 1 ve 10 nolu örneklerde 433 bp'lik bölgede bant görünümü)

Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarında saptanan *PVL* pozitifliğinin dağılımı Tablo 12'de gösterildi.

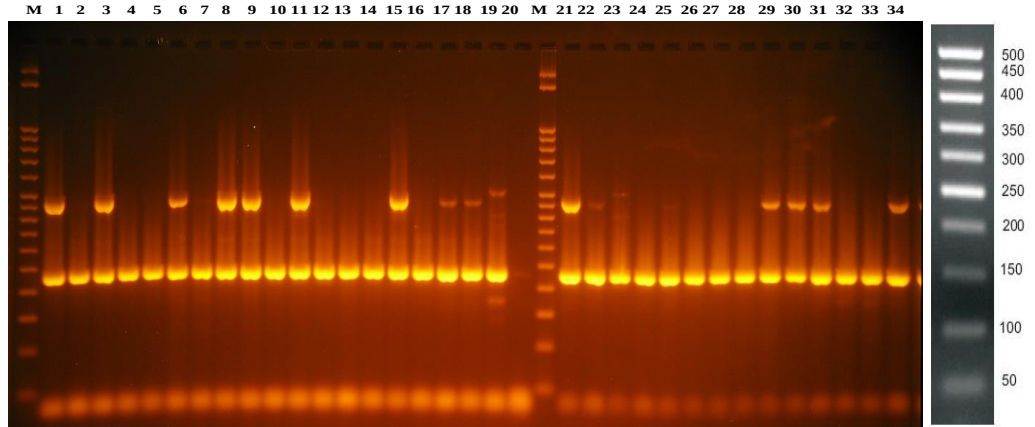
Tablo 12. *S. aureus* suşlarında saptanan *PVL* pozitifliğinin gruplara göre dağılımı

<i>PVL</i> pozitifliği	TOPLUM	HASTANE	TOPLAM	p değeri
MSSA	9	4	13	0.088
MRSA	-	-	0	
TOPLAM	9	4	13	

***Staphylococcus aureus* suşlarında enterotoksinlerin varlığı**

Enterotoksin B-C, D, H ve TŞST toksinleri hiçbir *S. aureus* suşunda saptanmadı. Bazı suşlarda birkaç enterotoksin birlikte saptandı. En sık saptanan enterotoksinler, SET-İ ve SET-G idi. Bir tane sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşunda SET-J tespit edildi. Altmış iki *S. aureus* suşunda herhangi bir enterotoksin geni saptanmadı (Resim 4).

Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının enterotoksin gen dağılımı Tablo 13'de gösterildi.



Resim 4. *S. aureus* suşlarında enterotoksin pozitifliğinin görülmesi (1, 3, 6, 8, 9, 11, 15, 17, 18, 21, 22, 25, 29, 30, 31, 34 nolu örneklerde enterotoksin İ geni, 19 nolu örnekte enterotoksin A ve E geni ve 23 nolu örnekte enterotoksin A geni ve 50 bç'lik marker dizilimi görülmektedir).

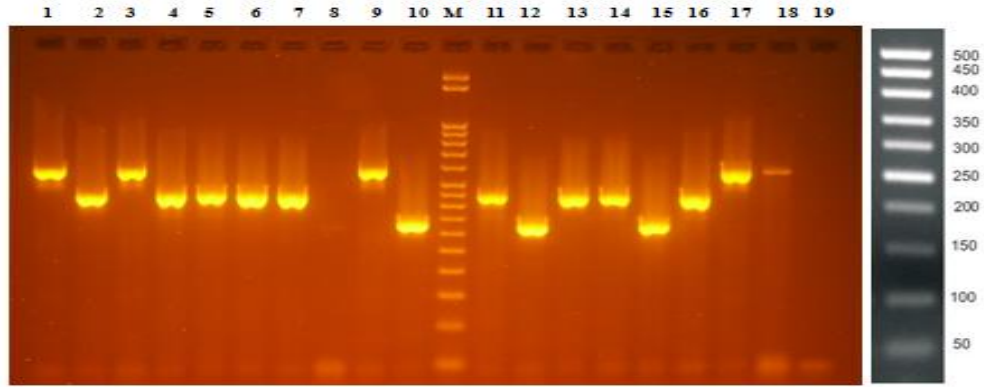
Tablo 13. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının enterotoksin gen dağılımı

	SET-A	SET-C	SET-E	SET-G	SET-İ	SET-J	Toplam
Toplum	1	4	1	20	37	-	63
Hastane	6	2	5	17	40	1	71
p değeri	0.122	0.418	0.216	0.345	0.628	1.00	-
Toplam	7	6	6	37	77	1	134

***S. aureus* suşlarında agr varlığı**

Toplum kökenli enfeksiyonlarda *agr* tip1 30, *agr* tip2 10, *agr* tip3 20, *agr* tip4 8 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda saptandı. Sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *agr* tip1 46, *agr* tip2 14, *agr* tip3 14, *agr* tip4 4 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda bulundu (Resim 5).

S. aureus suşlarında saptanan *agr* tiplerinin ayrıntılı dağılımı Tablo 14'de gösterildi.



Resim 5. *S. aureus* suşlarında *agr* tiplerinin görülmesi (1, 3, 9, 17, 18 nolu örnekler tip 2; 2, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 16 nolu örnekler tip 1; 8, 10, 12 ve 15 nolu örnekler tip 3, 19 nolu örnek NK ve 50 bç'lik marker dizilimi).

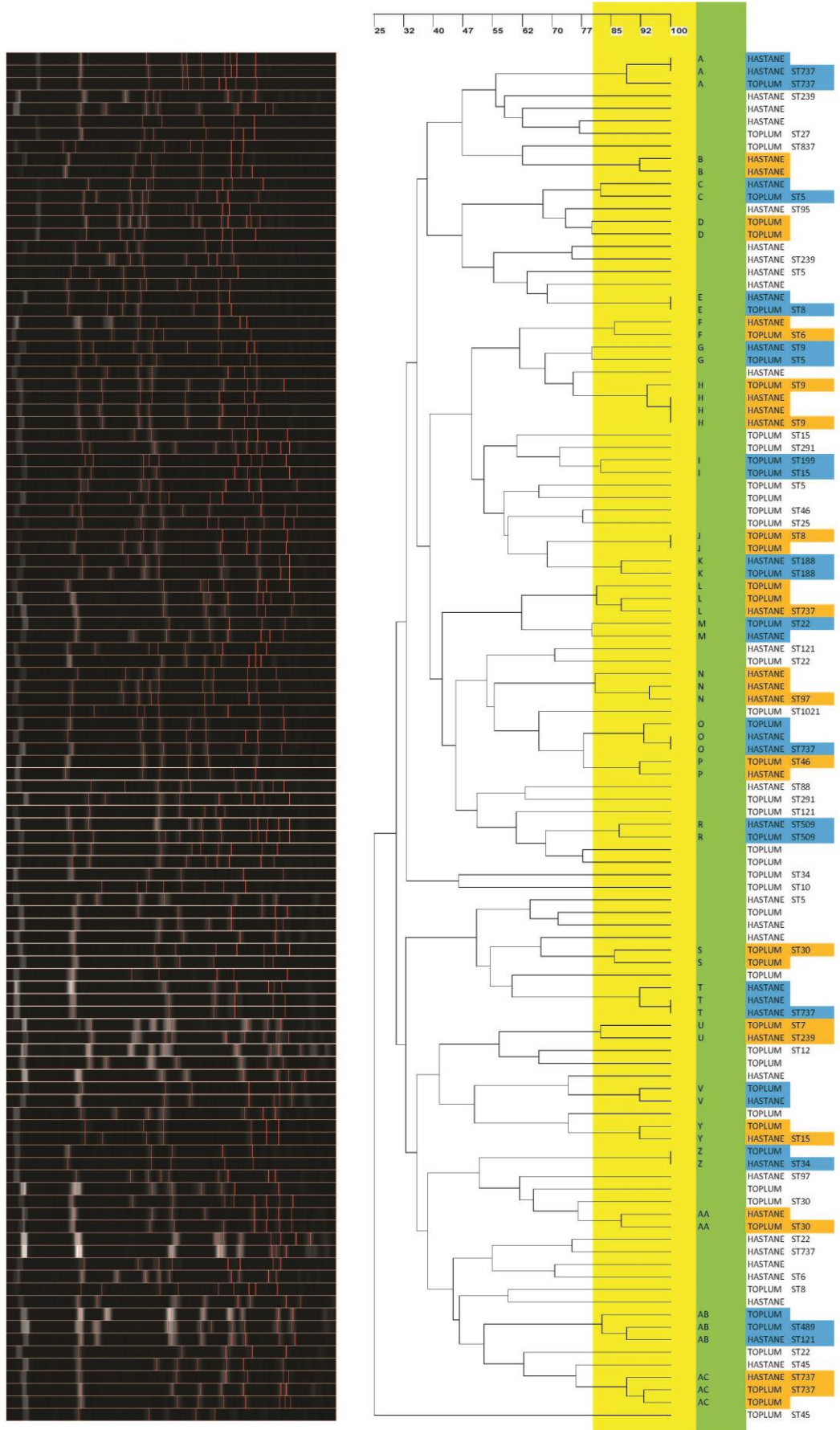
Tablo 14. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının *agr* tip dağılımı

	<i>agr</i> tip1	<i>agr</i> tip2	<i>agr</i> tip3	<i>agr</i> tip4	<i>agr</i> tip0	Toplam
Toplum	30	10	20	8	2	70
Hastane	46	14	14	4	2	80
P değeri	0,137	0,95	0,925	0,98	0,99	-
Toplam	76	24	34	12	4	150

***Staphylococcus aureus* suşlarının PFGE ile tiplendirilmesi**

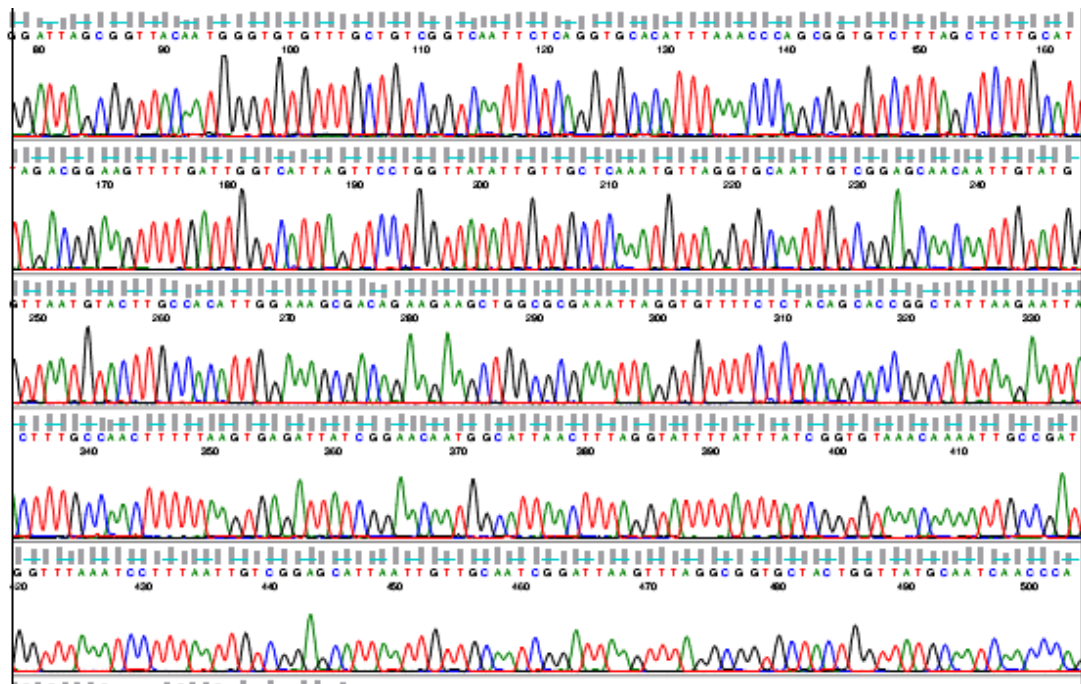
Çalışmamıza dâhil edilen tüm *S. aureus* suşlarına PFGE uygulandı. Ancak 109 izolatın jel elektroforezinde düzgün bant görünümü elde edildi. Bu 109 *S. aureus* suşunun dendogramında %80 ve üstü yakın ilişki olarak dikkate alındığında 74 farklı genotip tespit edildi. Bu genotiplerden 61 tanesinin kendi içerisinde bir grup oluşturabileceği saptandı. Altmış bir *S. aureus* suşu en az iki en fazla dört suş içeren 26 farklı gruba ayrıldı. PFGE ile gruplara ayrılan ve sekansları yapılan *S. aureus* suşlarının dendogramı ve özellikleri Şekil 1'de gösterildi.

Şekil 1. PFGE ile gruplara ayırma



***Staphylococcus aureus* suşlarının multilokus dizi analizi sonucu sekans tiplerinin belirlenmesi**

PFGE analizi ile ayrı gruplardan seçilen 100 ayrı *S. aureus* suşunda multilokus sekans analizi ile sekans tiplendirilmesi yapıldı. Bu 100 farklı suş, PFGE sonucunda elde edilen birden fazla izolatu olan gruplardan rastgele seçilen bir suş ile tek izolat içeren ve bir gruba dâhil edilemeyen suşlardan oluştu. Sekans analiz örneği resim 6’da gösterilmiştir.



Resim 6. *glp* için elde edilen DNA dizi analizinden bir kesit görülmekte (allel no 1)

Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının ancak 85’inde sekans tipi belirlenebildi. Bunda göre en fazla sekans tipi ST737 on bir, ardından ST22 sekiz, ST15 yedi, ST121 ise altı *S. aureus* suşunda tespit edildi. Toplum kökenli 48 *S. aureus* suşunda, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili 37 *S. aureus* suşunda 29 farklı sekans tipi saptandı.

S. aureus suşlarının sekans tiplerinin gruplara göre ayrıntılı dağılımı Tablo 15’de gösterildi.

Tablo 15. *S. aureus* suşlarının sekans tiplerinin gruplara göre ayrıntılı dağılımı

SEKANS TİPLERİ	TOPLUM		HASTANE		TOPLAM	PVL	<i>mecA</i>
	MSSA	MRSA	MSSA	MRSA			
ST5	3	-	2	-	5		-
ST6	1		1	-	2		-
ST7	1	-	-	-	1		-
ST8	3		1	-	4		-
ST9	1	-	2	-	3		-
ST10	1	-	-	-	1		-
ST12	1	-	-	-	1		-
ST15	3	-	4	-	7	2	-
ST22	5	1	2	-	8	2	1
ST25	2	-	-	-	2		-
ST27	1	-	-	-	1		-
ST30	4	-	1	-	5	2	-
ST34	-	-	3	-	3	1	-
ST45	-	-	2	-	2		-
ST46	2	-	-	-	2		-
ST88	-	-	1	-	1	1	-
ST97	-	-	4	-	4		-
ST121	4	-	2	-	6	3	-
ST188	1	-	2	-	3		-
ST199	-	-	1	-	1		-
ST239	-	-	1	2	3		2
ST291	2	-	-	-	2		-
ST398	1	-	-	-	1		-
ST489	1	-	-	-	1		-
ST509	-	1	1	-	2		1
ST737	4	2	4	1	11		3
ST837	1	-	-	-	1		-
ST1021	1	-	-	-	1		-
ST1708	1	-	-	-	1	1	-

6. BULGULARIN ÖZETİ

1. Çalışmamıza 2011 yılında 54, 2012 yılında 96 olmak üzere toplam 150 hasta dâhil edildi. Hastaların 70'i toplum kökenli, 80'i sağlık hizmetleri ile ilişkili *S. aureus* enfeksiyonuna sahipti. Hastaların %58,7'si erkek olup, ortalama yaş 19,5 ay (3 gün-18 yaş) idi.

2. Her iki grupta da en sık cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları tespit edildi. Toplum kökenli enfeksiyonlarda göz ve kulak enfeksiyonları, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonu olanlarda kateter ilişkili enfeksiyonlar ikinci sıklıkta görüldü. Toplum kökenli enfeksiyonların %68,5'i, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların (SBHİ) %22,5'u ayaktan tedavi edildi. Toplum kökenli enfeksiyonlarının %47,1'inde, SBHİ enfeksiyonlarının %61,2'sinde cerrahi tedavi gerekli oldu. Ortalama yatış günleri toplum kökenli enfeksiyonlarda 7,23 gün, SBHİ enfeksiyonlarda 16 gün idi. Etkenin en sık saptandığı yerler apse ve sürüntü örnekleri idi.

3. Antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilebilen *S. aureus* suşlarının %93,8'i penisiline, %7,2'si tetrasikline, %6,9'u eritromisine, %6,5'i ampisilin-sulbaktama, %5,5'i klindamisine, %3,3'ü TMP-SMX'a %2,8'i rifampisin ve siprofloksasine dirençliydi.

4. Tüm *S. aureus* suşlarının %6'sında *mecA* pozitifliği tespit edildi. Fenotipik olarak MRSA tespit edilen *S. aureus* suşlarının bir tanesinde *mecA* saptanmadı. Genotipik olarak MRSA saptanan *S. aureus* suşlarının bir tanesinde ise fenotipik olarak metisilin direnci tespit edilmedi. Genotipik olarak MRSA tespit edilen *S. aureus* suşlarının iki tanesinde SCCmec tip III, iki tanesinde SCCmec tip V, beş tanesinde SCCmec tip IV tespit edildi.

5. Tüm *S. aureus* suşlarının %8,7'sinde *PVL* pozitifliği bulundu.

6. En sık saptanan enterotoksinler, SET-İ ve SET-G idi. Bir tane SBHİ enfeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşunda SET-J tespit edildi. Altmış iki *S. aureus* suşunda herhangi bir enterotoksin geni saptanmadı.

7. Toplum kökenli enfeksiyonlarda *agr* tip1 30, *agr* tip 2 10, *agr* tip 3 20, *agr* tip 4 8 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda saptandı. Sağlık bakım hizmeti

ile ilişkili enfeksiyonlarda *agr* tip1 46, *agr* tip2 14, *agr* tip3 14, *agr* tip4 4 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda bulundu.

8. PFGE sonucunda elde edilen 109 izolatın jel elektroforezinde düzgün bant görünümü elde edildi. Bu 109 *S. aureus* suşunun dendogramında %80 ve üstü yakın ilişki olarak dikkate alındığında 74 farklı genotip tespit edildi. Bu genotiplerden 61 tanesinin kendi içerisinde bir grup oluşturabileceği saptandı. Altmış bir *S. aureus* suşu en az iki en fazla dört suş içeren 26 farklı gruba ayrıldı.

9. Toplum ve SBHİ enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının ancak 85'inde sekans tipi belirlenebildi. Buna göre en fazla sekans tipi ST737 on bir, ardından ST22 sekiz, ST15 yedi, ST121 ise altı *S. aureus* suşunda tespit edildi. Toplum kökenli 48 *S. aureus* suşunda, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili 37 *S. aureus* suşunda 29 farklı sekans tipi saptandı.

7. TARTIŞMA

Staphylococcus aureus kuruluk veya yüksek konsantrasyonda sodyum klorid varlığı gibi elverişsiz koşullara dirençli olması, çok sayıda virülans faktörü ihtiva etmesi ve cilt ve nazal mukozada geçici veya kalıcı kolonizasyona yol açması nedeniyle insanlarda hastalık oluşturabilen en önemli patojenlerden biridir.

Bin dokuz yüz kırkların başında penisilinin klinik kullanıma girmesiyle, %80'lerde ölümcül seyreden *S. aureus* enfeksiyonlarının mortalitesinde dramatik bir azalma meydana gelmiş ancak iki yıl gibi kısa bir süre içerisinde penisilinaz üreten penisilin dirençli *S. aureus* suşlarının ortaya çıkması bu başarıyı gölgelemiş ve yıllar içerisinde penisilin direncinde hızlı bir artış gözlenmiştir. Penisillinaza dirençli penisilin olan metisilin ve türevlerinin 1961 yılında klinik kullanıma girmesi sorunun çözüldüğü izlenimini verse de sadece bir yıl sonra ilk kez İngiltere'de MRSA suşunun hastane ortamında saptanması aslında bu bakteri ile mücadelenin yeni ve farklı bir boyut kazanacağını habercisi olmuştur. Bakteri, 1960'ların ikinci yarısından itibaren çoklu dirençli MRSA suşlarının tanımlanması ile hastane ortamında giderek artan sıklıkta nozokomiyal patojen olarak ön sıralarda yerini almaya başlamıştır. Avrupa'da bu dönemde ortaya çıkan hastane salgınlarında bu bakteri "archaic klonu" olarak adlandırılmış ve daha sonrasında bu klonun ST250 tipinde sekansa sahip olduğu bildirilmiştir. Zamanla bu klonun görülme sıklığı azalmış ve yerini başka klonlar almıştır (37). Bakterinin epidemiyolojisinde diğer önemli bir tarih 1982 yılında Amerika'dan bildirilen toplum ilişkili ancak ilaç bağımlılarında ortaya çıkan MRSA enfeksiyonları olmuştur. 1990'ların ortalarına kadar büyük oranda SBHİ olarak birtakım risk faktörlerine sahip kişilerde MRSA enfeksiyonları görülmüş ve bu dönem içerisinde sıklığı giderek artış göstermeye başlamıştır. Amerika'da 1975 yılında MRSA sıklığı %2,4 iken 1991 yılında %29'a çıkmıştır (37). 1993 yılı itibarıyla yeni MRSA klonlarının gözlenmesi ile klinik ve epidemiyolojik ayırım yanında moleküler belirteçlerin de kullanımına olanak sağlamış, ancak 1999 yılında, öncesinde sağlıklı olan dört çocukta ölümcül MRSA enfeksiyonlarının saptanması ve hiçbir risk faktörüne sahip olmayan kişiler arasında enfeksiyonun toplumdan kazanılması moleküler belirteçler yanında epidemiyolojik olarak da yeni tanımlamaların ortaya çıkmasına yol açmıştır. CDC, 2000 yılında

toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) için hasta tanımlaması yapmış; bu hastaları, poliklinik koşullarında veya hastaneye yatırıldıktan sonraki ilk 48 saat içerisinde MRSA enfeksiyonu tanımlanan ve SBHİ açısından daha önce belirtilen herhangi bir risk faktörüne sahip olmayan hastalar olarak tanımlamıştır (35, 78). TK-MRSA tanımlanmasında daha sonra moleküler kriterler de devreye girmiştir. Taşıdığı SCCmec tipi, multilokus sekans tipi, PVL pozitifliği, protein A gen tipi, PFGE paterni ile birlikte moleküler tiplendirilmelerine ve antibiyotik duyarlılık profillerine göre TK-MRSA'ların kendilerine özgü bir tanımlanması sağlanmıştır (37). Sonuç olarak geçtiğimiz on yıl içerisinde TK-MRSA suşlarının hastane ortamında salgınlara yol açması bu tanımlamalarda kafa karışıklıklarına yol açmıştır. Biz çalışmamızda 2000 yılında CDC'nin önerdiği tanımlama çerçevesinde epidemiyolojik olarak *S. aureus* suşlarını toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili olarak iki gruba ayırdık. Toplum ve hastane kaynaklı izolatları virülans faktörleri, *agr* tipleri, PFGE profilleri, taşıdıkları SCCmec tipleri ve sekans tipleri açısından karşılaştırmayı amaçladık.

Genel olarak TK-MRSA daha çok cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, nekrotizan pnömoni ve sepsise neden olur. TK-MRSA için; gençler, evsizler, atletler, askerler, bazı etnik kökende olanlar (aborjinler gibi) risk gruplarını oluştururken, yakın fiziksel temas, ciltte küçük çiziklere yol açan travmalar, kötü kişisel hijyen gibi risk faktörleri de tanımlanmıştır. Bulaşma kişiden kişiye yayılma veya ortak eşyaların (havlu vb) kullanımı gibi çevreden kişiye yayılma şeklinde olabilir. Beta-laktam dışında çoğu antibiyotiğe duyarlı olması önemli bir özelliği olan TK-MRSA suşlarında sıklıkla SCCmec tip IV, V, VII taşınır ve genellikle PVL pozitifliği görülür (79).

HK-MRSA ise pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, kan akım enfeksiyonu ve cerrahi yara yeri enfeksiyonlarına neden olur. HK-MRSA için yaşlı insanlar, uzun süreli hospitalize edilen veya bakım kuruluşlarında kalanlar risk grubunu oluştururken, damar içi kateter veya şant varlığı, gastrostomi kateteri gibi tıbbi araç bulunması, hemodiyaliz uygulanması, uzun süre hastanede yatış, uzun süreli antibiyotik kullanımı ve HK-MRSA ile kolonize kimselerle yakın temas risk faktörlerini oluşturur. Kişiden kişiye yayılmada özellikle sağlık çalışanları önemli rol üstlenir, hastane malzemeleri veya ekipmanları ile çevreden kişiye de bulaş olabilir. Beta-laktam antibiyotiklere ek olarak sıklıkla çoklu antimikrobiyal direnç gösteren

HK-MRSA suşları genellikle SCCmec tip I, II, III taşır ve genellikle PVL negatifliği görülür (79).

Bir *S. aureus* suşunda metisilin direncinden bahsetmek için *mecA* genini saptamak gerekir. TK-MRSA'da SCCmec'in orjini konusunda farklı hipotezler ortaya atılmıştır. Bunlardan en fazla üzerinde durulanı toplumda saptanan MSSA suşlarında bulunan genoma SCCmec'in eklenmesidir. Bu teoriyi destekleyen görüş 1960'larda PVL üreten MSSA'ların varlığını gösteren çalışmaların olmasıyla, PVL üreten MSSA suşlarındaki genoma SCCmec tip IV'ün eklendiğinin düşünülmesidir (sonrasında ST30-MRSA-IV suşunun ortaya çıkmasına neden olmuştur). Ayrıca bu teori PVL oluşturan *S. aureus* genomu içerisine SCCmec'in entegre olduğunun gösterilmesi ile desteklenmiştir (79). Bundan dolayı TK-MRSA'nın yaygınlığının izlenmesi yanında, şu anda dolaşan MSSA suşları hakkında da kesin bir bilgiye ihtiyacımız vardır.

TK-MRSA suşlarının oluşturduğu klinik bulgular TK-MSSA suşlarının oluşturdukları ile benzese de, TK-MRSA enfeksiyonları, daha ciddi ve muhtemelen daha dissemine olma eğilimindedir. Amerika'nın çoğu eyaletinde TK-MRSA suşlarının neden olduğu cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının MSSA suşlarının sebep oldukları enfeksiyonları geçtiği bildirilmektedir. Ayrıca dünyanın diğer bölgelerinde de TK-MRSA sıklığı giderek artmaktadır (38). Amerika'da yayınlanan bir çalışmada 1.761.991 *S. aureus* suşu analiz edilmiş, yıllık MRSA prevalansı 1998'de %32,7 iken 2007 yılında %53,8 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada TK-MRSA suşları dikkate alındığında 1998 yılında sıklığı %22,3 iken 2007 yılında sıklığın %66,1'e yükseldiği görülmüştür. Çocuklar arasında 2007 yılı itibarıyla TK-MRSA suşlarının tüm MRSA suşlarının %81,5'ünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durum Amerika'da *S. aureus* epidemiyolojisinde TK-MRSA'ya doğru bir kaymanın olduğunu açık bir şekilde göstermektedir (80). Buna karşın dünyanın her yerinde bu kadar yüksek sıklık görülmemektedir. Avustralya'dan yapılan bir çalışmada ise TK-MRSA sıklığı %19,3, TK-MSSA ise %80,7 olarak tespit edilmiştir (38). MSSA suşlarının %95,1'inin, MRSA suşlarının %88,1'inin cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu oluşturduğu saptanmıştır. Bu enfeksiyonlar içerisinde apse oluşumu ile MRSA arasında güçlü bir ilişki gözlenirken, MRSA enfeksiyonlarının daha yüksek

olasılıkla invaziv olma eğiliminde olduğu bulunmuştur (38). Bu çalışmada bildirilen MRSA ile apse oluşumu arasındaki güçlü ilişki başka çalışmalarda da gösterilmiştir.

Çin'den bildirilen bir çalışmada TK-MRSA ve MSSA suşlarının neden olduğu cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve moleküler özellikleri ve TK-MRSA ile TK-MSSA arasındaki genetik ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada %31,8 oranında cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu saptanmış ve bunların içerisinde 14 hasta (%4) TK-MRSA olarak değerlendirilmiştir. Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları en sık bir yaşından küçük infantlarda görülürken, tüm *S. aureus* enfeksiyonları en sık 6-14 yaş arasında saptanmıştır. Toplum kökenli enfeksiyonlar içinde apse (%33,9), paronişi (%26,5), omfalit (%17,4), yara enfeksiyonları (%14), impetigo (%4) tespit edilirken, TK-MRSA suşlarının %71,4'ü, MSSA suşlarının %4,17'sinin PVL pozitif olduğu bulunmuştur. PVL pozitif olanların daha sıklıkla apseye yol açtığı gözlenmiştir (81).

Kanada da 2007-2009 yılları arasında yapılan ve tüm *S. aureus* enfeksiyonlarının toplandığı başka bir çalışmada genotipik olarak TK-MRSA sıklığı %25,2, HK-MRSA sıklığı %72,4 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada TK-MRSA'nın yıllar içinde anlamlı olarak arttığı gözlenirken, HK-MRSA prevalansının azaldığı bulunmuştur. İzlenen üç yıl içerisinde TK-MRSA sıklığı %19,5'dan %31,9'a yükselirken hastaların demografik özellikleri açısından anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. HK-MRSA suşların %60,6'sı, TK-MRSA suşların %55,8'i erkek cinsiyetten olup, TK-MRSA suşlarında hastaların daha genç olduğu saptanmıştır. HK-MRSA suşlarında kan akım enfeksiyonları ve solunum yolu enfeksiyonları daha fazla iken, TK-MRSA suşlarında yara yeri enfeksiyonları daha sık saptanmıştır. TK-MRSA suşlarının %89,7'sinde PVL pozitifliği saptanırken, HK-MRSA suşlarının %99,5'u PVL negatif olarak tespit edilmiştir. Çoğu HK-MRSA suşu SCCmec tip II olarak bulunmuştur (82).

Amerika'dan bildirilen ve 2000-2005 yılları arasında 11554 MRSA enfeksiyonunun incelendiği başka bir çalışmada, TK-MRSA oranı tüm MRSA suşları içerisinde %20 olarak saptanmıştır. Ancak yıllara göre dağılım incelendiğinde 2000 yılında sıklık %11 iken yıllar içerisinde artma eğilimi göstererek 2005 yılında %33 olarak tespit edilmiştir. Tüm MRSA enfeksiyonlarının %82'sini cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları oluştururken, TK-MRSA'nın neden olduğu cilt ve yumuşak

doku enfeksiyonlarına bakıldığında 2000 yılında sıklığı %75 iken, 2005 yılında %87 saptanmış, fark istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Suşların PFGE paternleri irdelendiğinde 2000 yılında %6 oranında saptanan USA300 klonu, 2005 yılında %68'e yükselmiştir. USA400 paterni ise 2000 yılında %63 iken 2005 yılında %11'e gerilemiş ve USA400 ile USA300 arasında bir yer değiştirmenin olduğu sonucuna varılmıştır (83).

Bu çalışmalar ve benzeri birçok çalışmada son yıllarda TK-MRSA sıklığının arttığı, TK-MRSA'nın daha genç kişilerde saptandığı, TK-MRSA ile PVL pozitifliği ve invaziv cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları arasında daha yakın bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu durum MRSA suşlarının hızla yayıldığı ve cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi çoğunlukla ayaktan tedavilerin mümkün olduğu toplum içerisinde tespit edilen hastalarda, başlangıç ampirik antibiyotik tedavisinin önemli bir sorun haline gelmesine neden olmuştur.

Birçok ülkede yapılmış olan çalışmaların sonucunda klinik izolatlardan elde edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç durumu, klinisyenlerin ampirik antibiyotik tedavide seçecekleri ilaç için yol gösterici olmuştur. 1997-1999 yılları arasında farklı bölgelerdeki hastanelerden elde edilen *S. aureus* suşlarının antimikrobiyallere duyarlılıklarının saptandığı geniş kapsamlı çok uluslu bir çalışma yayınlanmıştır (84). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar tablo 16'da gösterilmiştir (84).

Tablo 16. Farklı bölgelerden elde edilen *S. aureus* suşlarında antimikrobiyal direnç durumu (%)

	USA		Latin Amerika		Kanada		Avrupa		Batı Pasifik	
	MRSA	MSSA	MRSA	MSSA	MRSA	MSSA	MRSA	MSSA	MRSA	MSSA
Ampisilin-sulbaktam	100	1,1	100	0,6	100	1,1	100	-	100	0
Eritromisin	92,7	22,4	93	16,1	75,3	12,4	82,6	15,7	94,7	14,7
Klindamisin	79,2	3,3	88	1,7	63	1,9	73,5	5,9	79,3	3,5
TMP-SMX	26	2,6	65,4	1,4	16	1,2	23	2,1	35,8	2,2
Siprofloksasin	88,6	3,9	89,6	1,2	60,5	2	89,5	8,4	88,1	1
Tetrasiklin	15,6	4,8	63,8	9,3	14,8	4,1	57,2	10,3	82	8,7
Rifampisin	7,7	0,6	23,4	1,3	4,9	0,5	44,4	2,2	10,5	0,8

Yakın dönemde Avustralya'dan yapılan bir çalışmada, MRSA suşlarında TMP-SMX ve eritromisin direnci sırasıyla %12,2 ve % 15,9 bulunurken, MSSA

suşlarında bu antibiyotiklere direnç sırasıyla %6 ve %12,9 oranında saptanmıştır (38). Kanada'dan yayınlanan başka bir çalışmada TK-MRSA suşlarının tamamı (%100) TMP-SMX duyarlılığı göstermiş, HK-MRSA suşlarında bu oran %86,5 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmalar MRSA suşlarına bağlı cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarında ampirik tedavi için halen ilk seçeneğin TMP-SMX olmaya devam edeceğini göstermiştir (82). Tayvan'dan 2005 yılında bildirilen bir çalışmada bunu desteklemiştir (85). Ancak dünyanın her yeri için bu durumun böyle olmadığını gösteren başka bölgesel çalışmalar da mevcuttur. Çin'den bildirilen bir çalışmada TK-MRSA suşlarında klindamisin ve ertiromisin direnci %85,7, TMP-SMX direnci %63,4 olarak saptanırken, MSSA suşları arasında direnç oranları klindamisin %60, eritromisin %67,5, TMP-SMX %53,3 ve tetrasiklin %24,2 olarak tespit edilmiştir (81).

Ülkemizdeki duruma baktığımızda aslında çocuk hasta gruplarında yapılmış çok geniş kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Dünyanın farklı bölgelerinden verilerin toplandığı uluslar arası bir çalışma da 1997-1998 yılları arasında Türkiye'den toplanan *S. aureus* suşlarında %37,5 oranında MRSA olduğu bildirilmiştir (84). Ülkemizde 2000'li yılların başlarında yapılan yayınlarda genellikle %30'un üzerinde MRSA oranları bildirilmiştir (86). Toplumdan kazanılmış MRSA ile ilgili çalışmalarda 2003-2004 yıllarında bu oranın İstanbul'da %20 olarak tespit edildiği görülmektedir (87). Hastanede yatan hastalardan 2003-2004 yılları arasında izole edilen suşlarda antimikrobiyal direnç durumunun değerlendirildiği bir çalışmada Türkiye genelinde MRSA sıklığının %52 olduğu ve eritromisine %60, TMP-SMX'e %28, siprofloksasine %57, klindamisine %50, rifampisine %56 oranında dirençli olduğu saptanmıştır (88). Son dönemlerde ise bölgeden bölgeye, hatta aynı bölgedeki hastaneler arasında bile MRSA oranları farklı bulunmaktadır.

Çalışmamızda toplum kökenli enfeksiyon sıklığı %46,7, sağlık bakım hizmeti ilişkili enfeksiyon sıklığı %53,3 olarak bulundu. Toplum kökenli enfeksiyonların %57,1'i erkek olup ortanca yaş 13 ay iken SBHİ enfeksiyonların %60'ı erkek olup ortanca yaş 45 ay idi. Hem toplum kökenli hem de SBHİ enfeksiyonlarda ilk sırayı cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları alırken, toplum kökenlilerde bunu göz ve kulak enfeksiyonları, SBHİ enfeksiyonlarda kateter ile ilişkili enfeksiyonlar ve

bakteriyemi-sepsis gibi invaziv enfeksiyonlar takip etti. MRSA saptanan hastalara baktığımızda toplum kökenli olanlarda cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları (apse, impetigo ve omfalit) ve konjunktivit saptanırken, SBHİ olanlarda endokardit, sepsis, postoperatif menenjit, cerrahi yara yeri enfeksiyonu ve idrar yolu enfeksiyonu olarak tespit edildi. TK-MRSA hastalarının % 75'i kız olup hastaların ortalama yaşı 32 ay idi. HK-MRSA hastalarının %60'ı erkek olup, hastaların ortalama yaşı 85,6 ay idi. Toplum kökenli MRSA suşlarının hepsi siprofloksasin, rifampisin, eritromisin, klindamisin ve tetrasikline duyarlı iken, TMP-SMX'e %25 oranında dirençliydi. Sağlık bakım hizmeti ile ilişkili olan MRSA suşlarında %75 oranında tetrasiklin, %40 oranında rifampisin, %40 oranında TMP-SMX, %25 oranında siprofloksasin ve %20 oranında eritromisin ve klindamisin direnci gözlemlendi.

Toplum kökenli ve SBHİ MRSA suşlarının ayırımında moleküler düzeyde yapılan çalışmalardan da yararlanılmaktadır. Bunlar içerisinde en önemlilerinden biri de SCCmec tip tayinidir. Metisilin dirençli *S. aureus* suşlarında direnç gelişimini sağlayan PBP2a'nın kodlanması *mecA* geni tarafından sağlanır. *mecA* geni hareketli bir genomik eleman olan SCCmec üzerinde taşınmaktadır. SCCmec, *ccr* ve *mecA* gen komplekslerindeki yapısal değişikliklere bağlı olarak tiplere ayrılır. Günümüzde 11 tipi tanımlanmıştır. Bazı tiplerinin beta-laktam antibiyotik dışı antibiyotiklere karşı direnç genlerini taşıması ve bazılarının özellikle HK-MRSA suşlarında saptanması, MRSA suşlarının moleküler olarak ayrılmasına olanak vermiştir. Genel olarak SCCmec tip I, II, III HK-MRSA suşlarında izlenirken, tip IV, V ve VII TK-MRSA suşlarında tespit edilmektedir. Bazı yayınlarda TK-MRSA suşlarının tip I, II ve III taşıdıkları, yine HK-MRSA suşlarının SCCmec tip IV taşıdıklarının gösterilmesi bunun değişmez bir kural olmadığını da göstermektedir (89-91). Çin'de yapılan bir çalışmada 14 TK-MRSA suşunun altısında SCCmec tip IV bulunmuş, geri kalanlarda ise tip V, tip III ve tip I tespit edilmiştir (81).

MRSA suşlarının SCCmec tipleri PVL pozitifliği ile de ilişkilidir. SCCmec tip I-III'e sahip MRSA suşlarında %5'in altında PVL pozitifliği bulunurken, SCCmec tip IV'e sahip MRSA suşlarının %40-90'ında PVL pozitifliği gösterilmiştir (92). Çalışmamızda genotipik olarak MRSA saptanan suşlara SCCmec tiplendirilmesi yapıldı. SBHİ olanlardan ikisi tip III, iki tanesi tip IV ve bir tanesi tip V SCCmec genini taşıırken, toplum kökenli olanların üç tanesi SCCmec tip IV ve bir

tanesi SCCmec tip V genini taşıdığı bulundu. Bu sonuç çalışmamızda değerlendirilen *S. aureus* suşları arasında neden beta-laktam dışı antibiyotik direncinin çok fazla saptanmadığını da açıklamaktadır. Hiçbir MRSA suşunda PVL pozitifliği saptanmadı. Suşların yedi tanesinin SCCmec tip IV ve tip V olması en az üç tanesinde PVL pozitifliğinin olacağını düşündürülebilir. Amerika’da ST8, Avrupa’da ST80, Asya’da ST30 ve Singapur’da ST59 PVL pozitif TK-MRSA suşlarında başlıca saptanmış sekans tipleriydi. Çalışmamızda toplum kökenli MRSA saptanan suşların sekans tiplendirmesinde ST737, ST509 ve ST22 bulunurken, HK-MRSA saptanan suşların sekans tiplendirilmesinde ST239 ve ST737 tespit edildi. Özellikle TK-MRSA suşlarındaki PVL negatifliği sekans tipleriyle açıklanabilirken, hastane kökenli MRSA suşlarının ikisinde SCCmec tip III saptanması da bu suşlardaki PVL negatifliğinin sebebini ortaya koyabilir.

Staphylococcus aureus’ta metisilin direncinin saptanmasında altın standart, moleküler tekniklerin gelişmesi ile birlikte *mecA* geninin varlığının ortaya konulmasıdır. Ancak her laboratuvar ortamında bakılamaması, pahalı ve zahmetli oluşu nedeniyle bugün için halen MRSA suşları en sık disk difüzyon yöntemi ile fenotipik olarak tespit edilmektedir. Bununla birlikte *mecA* geninin varlığı her zaman yeterli olmamakta, *mecA* geninin ekspresyonunu etkileyen veya PBP2a’nın aktivitesi ile etkileşebilecek faktörlerin olması da metisilin direncinin ortaya çıkmasını etkilemektedir (55). Metisilin direncinin heterojen olarak ortaya çıkması, uygunsuz saklanmış beta-laktam antibiyotik tozlarının kullanımı, inkübasyon derecesinin 37°C olması veya inkübasyon süresinin kısa tutulması, inokulum miktarının az olması, besiyerinin içeriği, düşük tuz konsantrasyonu gibi etmenler rutinde laboratuvar ortamında yanlış negatif sonuçların alınmasına yol açabilmektedir (56). Metisilin direncinin saptanmasında rutin laboratuvar ortamında oksasilin disk difüzyonu en sık kullanılan yöntemdir. Ancak yine de disk difüzyon yönteminde oksasilin ile birlikte sefoksitin disk difüzyon yönteminin birlikte değerlendirilmesi tercih edilmektedir. Yapılan bir çalışmada *mecA* saptanan 210 MRSA suşunda oksasilin disk difüzyon yönteminin %100 duyarlılıkta ancak %89 özgüllükte olduğu, sefoksitin disk difüzyon yönteminin ise %99,5 duyarlılıkta ve %100 özgüllükte olduğu bulunmuştur (74). Başka bir çalışmada sefoksitin disk difüzyon yöntemi ile %100 özgüllük, %96,5 duyarlılık, oksasilin disk difüzyon yöntemi ile %99 özgüllük, %90,4

duyarlılık bulunmuştur (93). Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada PCR ile *mecA* geni pozitif saptanan MRSA suşlarında, oksasilin disk difüzyon testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %91 bulunmuştur (94). Çalışmamızda ise hem *mecA* varlığı hem de disk difüzyon yöntemi ile MRSA belirlendi. Toplam dokuz hastada fenotipik olarak MRSA tespit edildi. Bunlardan beşi toplum kökenli, dördü SBHİ idi. Fenotipik olarak toplum kökenlilerin oranı %7,1, SBHİ olanların oranı %5 olarak saptandı. Ancak PCR ile *mecA* varlığı araştırıldığında toplumda %5,7, SBHİ enfeksiyonlarda ise %6,2 olarak tespit edildi. Fenotipik olarak MRSA saptanan bir suşta *mecA* pozitifliği tespit edilmezken, genotipik olarak MRSA saptanan bir suşta ise fenotipik olarak metisilin direnci bulunmadı. Bu durum literatürler eşliğinde değerlendirildiğinde beklenenin dışında bir bulgu olarak görülmedi. *mecA* geninin eksprese olamadığı (ekspresyonunu engelleyecek *fem* faktörlerinin varlığı) veya yukarıda bahsettiğimiz uygun çevre koşullarının sağlanamadığı durumlarda fenotipik olarak MRSA saptanamayabilir. Burada bizim için daha önemli olan tanıda altın standart olarak kabul edilen *mecA* negatif fenotipik MRSA varlığıydı. Literatürlere baktığımızda *mecA* negatif olduğu halde MRSA olan suşlardan sıklıkla bahsedilmektedir (95-98). Bu grup suşlar BORSA olarak sınıflandırılmakta ve olası birkaç direnç mekanizması üzerinde durulmaktadır. Aşırı miktarda penisillinaz üretimi olabildiği gibi metisilinin bağlandığı PBP'lerde gerçekleşen nokta mutasyonların metisilinin bağlanma afinitesinde azalmaya neden olması da MRSA suşlarının ortaya çıkmasına yol açmaktadır (95, 97). Son yıllarda sığırcı kaynaklı *S.aureus* izolatlarında tespit edilen ve insanda enfeksiyonlara yol açan etkenlerde de metisiline direnç gelişiminden sorumlu olabildiği gösterilen bir *mecA* geni analogu olan *mecA_{ALGA}* varlığında da rutin *mecA* analizleri negatif sonuç verirken, fenotipik olarak bu suşlar metisiline dirençli bulundukları bildirilmiştir (98).

Yapılan çalışmalarda *agr* tiplerinin sıklığı farklı olarak görülse de genel olarak en sık *agr* tip 1'e rastlanmaktadır (99, 100). *agr* tipleri sıklığının; etkenin elde edildiği örneğe, neden olduğu hastalığa, direnç durumuna, toplum ve hastane kökenli olmasına, hastalığa mı yoksa kolonizasyona mı yol açtığına göre değiştiği çeşitli çalışmalarda gözlenmektedir. Tayvan'dan bildirilen ve 10 farklı merkezden 1000 adet nozokomiyal MRSA etkeninin toplandığı bir çalışmada *agr* tip 1 %91,9, *agr* tip 2 %7,8, *agr* tip 3 %0,2 ve *agr* tip 4 %0,1 olarak bulunmuştur. Örneklerin elde edildiği

yerler ile *agr* tipleri arasında ilişki tespit edilememiştir (101). Çeşitli klinik örneklerden toplanan 57 MRSA suşunun incelendiği başka bir çalışmada *agr* tip 1 %15,7, *agr* tip 2 %3,5, *agr* tip 3 %40,3 olarak tespit edilmiş, geriye kalan örneklerde *agr* tiplendirilmesi yapılamamıştır. *agr* tip 3 invaziv olmayan hastalıklarla ilişkili iken, *agr* tip 1 bakteriyemi gibi invaziv hastalıklarla ilişkili görülmüştür (102). Japonya'dan bildirilen ve hastane kökenli olan MRSA izolatlarının biyofilm formasyonu üzerinde *agr*'nin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; *agr* tip 1'e sahip *S. aureus* suşlarında biyofilm indeksi, *agr* tip 2'ye ve *agr* tip 3'e sahip *S. aureus*'lara göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. *agr* tip 1 %8,8, *agr* tip 2 %90,1 ve *agr* tip 3 %1,1 olarak tespit edilmiştir (103). Başka bir çalışmada glikopeptidlere orta düzeyde duyarlı olan *S. aureus* (GOSA) ve hetero-GOSA izolatlarının *agr* tip 2 grubuna ait olduğu bulunmuştur (104). Yine dünya genelinde 8 bölgeden toplanan 192 MRSA ve MSSA izolatında sadece %6 oranında *agr* grup 2 *S. aureus* varlığı gösterilmiş (105) ancak İngiltere'den yapılan farklı bir çalışmada nozokomiyal MSSA izolatlarının %26'sının *agr* grup 2'yi temsil ettiği gösterilmiştir (106). Tahran'dan bildirilen ve üç farklı eğitim araştırma hastanesinden 182 *S. aureus* suşunun toplandığı başka bir çalışmada, *agr* tip 1 %55,1, *agr* tip 2 %16,9, *agr* tip 3 %16,5 ve *agr* tip 4 %9,4 olarak bulunmuştur (107). Çalışmamızda *agr* tip 1 %50,7, *agr* tip 2 %16, *agr* tip 3 %22,7, *agr* tip 4 % 8 olarak tespit edildi. Toplum ve SBHİ enfeksiyonlarda en sık *agr* tip 1 sırasıyla %42,9 ve %57,5 oranlarında saptandı. *agr* tip 1 ve *agr* tip 2 daha çok SBHİ enfeksiyonlarda görülürken, *agr* tip 3 ve *agr* tip 4 toplum kökenli enfeksiyonlarda bulundu. MRSA suşlarında ise %88,8 oranında *agr* tip 1, %12,2 oranında *agr* tip 3 tespit edildi. Bu durumun çalışmamıza dahil edilen enfeksiyon tipleri ve antibiyotik duyarlılık profilleri dikkate alındığında genel olarak elde edilen verilerden çok da farklı olmadığı görülmektedir.

Jarraud ve ark. (108) tarafından yapılan bir çalışmada *agr* spesifik grupları ile enfeksiyon tipleri arasında bir ilişki bildirilmiştir. Onlar *agr* grup 4 suşlarının yaygın eksfoliyatif sendromlarla ilişkili olduklarını belirtmişlerdir (108). Başka çalışmalarda *agr* tip 3 suşlarının TŞST-1 üretimi ile, endokardite neden olan suşların temelde tip 1 ve tip 2 ile, bakteriyemi gibi invaziv hastalıkların tip 1 ile ilişkisi bulunmuştur (102, 107, 108). Çalışmamızda genelde tüm enfeksiyon alt tiplerinde neredeyse birinci sırada tespit edilen *agr* tip 1, menenjit, bakteriyemi endokardit gibi invaziv

enfeksiyonlarda, kemik-eklem enfeksiyonlarında diğer tiplere göre belirgin olarak daha ön planda saptandı. *agr* tip 4 ise çoğunlukla cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarında bulundu.

Bazı çalışmalarda *agr* defektif *S. aureus* suşları bildirilmiştir. Bu suşların izolasyondan sonra kültür aşamasında çeşitli manuplasyonlar sırasında *in vitro* olarak ortaya çıktığını bildiren yayınlar mevcuttur. Ancak Trabe ve ark. (109) tarafından yapılan bir çalışmada *agr* negatif suşların klinik hastalıklarda ortaya çıktığı sonucu çıkartılmaktadır. Araştırmacılar klinik materyallerde saptanan *agr* defektif mutantların enfeksiyon seyrinde ortaya çıktığını ve sebat ettiğini bildirmişlerdir. Böyle suşların klinik örneklerde saptanmasının, bu suşların enfeksiyonu başlattığı anlamına gelmemektedir. Aslında bu suşların enfeksiyonu başlattıklarının gösterilememesi; bu bağlamda enfeksiyonun daha geç evrelerinde hiç olmasa da zayıf olarak *agr*'nın eksprese edilmesi, enfeksiyonun erken evrelerinde *agr* ekspresyonunun önemli olduğuna işaret etmektedir (25, 109). Başka bir çalışmada *agr* işlevselliğinin insanlarda nazal kolonizasyon için mutlak ön koşul olmadığı bildirilmektedir. Sağlıklı kişilerde *agr* defektif suş taşıyıcılığının yaklaşık %4 olması alışılmadık bir durumdur ve hastane maruziyeti ile ilişkilidir. Öyle ki *agr* defektif suşlarla kolonizasyon için tek önemli risk faktörü önceden hastanede yatmaktır. Bu durum *agr* defektif suşların nozokomiyal olarak bulaştığını gösteriyor olabilir ancak prevelans çalışmaları gerekmektedir. Burada kritik soru kolonize olan hospitalize hastalarda *agr* negatif suşlar arasından mı yoksa *agr* pozitif suşlar arasından mı daha fazla hastalığın ortaya çıktığının bilinmesidir. *S. aureus* enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesi için geliştirilmekte olan “*agr* quorum sensing inhibitörleri”nin potansiyel kullanımı ve *agr* işlevselliğinin klinik enfeksiyon sonuçları üzerine etkileri göz önüne alındığında nozokomiyal *agr* defektif suşların rezervuarı önemli etkilere sahiptir. *agr* mutasyonlarının enfekte hayvan modellerinde ve enfekte hastalarda ortaya çıktığı ve hastalığa neden olan organizmalarda yaygın olarak meydana geldiği gözlenmektedir. Fakat hospitalizasyon yokluğunda izolatların kolonize olmadığı görülmektedir. Bu durumun *agr* defektif mutasyonların ortaya çıkmasının enfeksiyon seyrinde olduğunu destekleyebilir (110-112). Bir çalışmada *agr* defektif *S. aureus* suşları %1,8 oranında tespit edilmiştir (107). Çalışmamızda *agr* yokluğu %2,6 oranında tespit edildi. Hastaların ikisi toplum kökenli diğer ikisi sağlık bakım

hizmeti ile ilişkili enfeksiyona sahip idi. Sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonu olanlarda ventilatör ilişkili pnömoni ve cerrahi yara yeri enfeksiyonu saptandı. Toplum kökenli olanlarda impetigo ve apse tespit edildi. Toplum kökenli olan hastalarda hastane maruziyeti veya sağlık çalışanı kişilerle temas olup olmadığı öğrenilemedi. *agr* saptanmayan *S. aureus* suşlarının hepsi metisiline duyarlı olup, üçünde enterotoksin geni tespit edilemedi. Bir suшта enterotoksin İ ve bir suшта PVL saptandı. Enterotoksin A'nın *agr* tarafından regule edilmediği bilinirken SETİ hakkında yeterli bilgiye sahip değiliz (113). Ancak PVL'nin *agr* tarafından regule edildiği bilinmektedir. Bu hastanın toplum kökenli olması, bu suшта *agr* tespit edilememesinin laboratuvar kaynaklı olabileceğini gösterebilir.

PVL nötrofil membranına etkili olarak hücrenin lizisine yol açan bir toksindir. *S. aureus* enfeksiyonlarının patogeneğinde rolü üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen hastalığın klinik presentasyonuna, ciddiyetine ve sonuçları üzerine etkinliği halen tartışma konusudur. Yine de çoğu çalışmada PVL genleri ile invaziv hastalık arasında ilişki bildirilirken, PVL ciddi enfeksiyonların epidemiyolojik ayırıcı olarak görülmüştür. Bazı ülkelerde tarama ve dekolonizasyon uygulamaları gibi halk sağlığı politikalarına yön vermiştir. Yapılan çalışmalarda PVL üretimi ile pnömoni, bakteriyemi, kas-iskelet sistemi enfeksiyonları ve cilt yumuşak doku enfeksiyonları üzerindeki etkilerine dikkat çekilmiştir. Bunlar içinde, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu olan bireylerin PVL üreten suşlarla daha sık enfekte olduğu görülmektedir (114). Çalışmamızda PVL üreten suşların %77'si cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, %7,7'si kemik ve eklem enfeksiyonu, %7,7'si pnömoni-ampiyem, %7,7'si de kateter ilişkili enfeksiyon saptanan hastalarda tespit edilmiştir. Bir metaanalizde apse veya fronküllü hastalarda PVL pozitif enfeksiyonların oranı diğer *S. aureus* enfeksiyonlardakinden 10 kat daha fazla bulunmuştur.

PVL *S. aureus*'un kolonizasyonu ve pnömoni, kas-iskelet sistemi enfeksiyonları ve bakteriyemi gibi diğer invaziv enfeksiyonlar ile nispeten daha az, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla daha güçlü olarak ilişki içindedir. Erişkinlerde gözlemsel çalışmalardan elde edilen sonuçlarda PVL pozitifliğinin stafilokoklara bağlı pnömoni, bakteriyemi ve kas iskelet sistemi hastalıklarında kötü klinik sonuca neden olmadığı gösterilmiştir. Ancak cilt ve yumuşak doku

enfeksiyonlarının daha fazla cerrahi müdahale gerektirdiği saptanmıştır. Yine PVL pozitifliğinin kas iskelet sistemi enfeksiyonu olan çocuklarda yapılan çalışmalarda cerrahi müdahale, daha uzun sürede hastanede kalma ve kronik osteomyelit gibi komplikasyonların görülmesiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (114). PVL pozitifliğinin ilişkili olduğu hastalıklar özelinde PVL'nin patojeniteye katkısının incelendiği çalışmalara baktığımızda, pnömonili hastalarda yapılan çalışmalarda patojenite üzerinde kesin bir etki bulunmamış, kas-iskelet sistemi enfeksiyonlarında piyomiyosit ve miyositli hastalarda cerrahi müdahale gereksinimini arttırmış, kronik osteomyelit ve derin ven trombozu gibi komplikasyonlarla ilişkili olduğu ve hastanede kalış süresi ve takipteki kür için geçen toplam sürenin uzamasına yol açtığı tespit edilmiş, bakteriyemili hastalarda bir etki gösterilmemiş, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarında ise daha fazla cerrahi gereksinimine ve hastaneye kabul edilmesine yol açmış ancak ilginç olarak daha az hastanede kalış süresi gözlenmiştir (115-120). Çalışmamızda PVL pozitif suşların neden olduğu enfeksiyonların %92'sine cerrahi müdahale gerekti. PVL negatif suşlarda bu oran %51'de kaldı. Hiçbir hastada mortalite görülmedi. Genel olarak suşlarda PVL pozitifliğinin etkileri literatürle uyumlu bulundu.

PVL varlığı MSSA'dan ziyade MRSA izolatlarında daha yaygındır. Çocuklarda kas iskelet sistemi enfeksiyonlarında PVL üreten *S. aureus*'un etkilerini ve sıklığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Dokuz çalışmanın derlendiği bir metaanalizde, çalışmaların çoğu kas iskelet sistemi enfeksiyon etkeni olarak MRSA izolatlarının yaygın olduğu Amerika'dan bildirilmiştir. Bu çalışmalarda verilerin toplandığı bölgeye bağlı olarak MRSA suşlarında %74-100, MSSA suşlarında %9-46 oranında PVL pozitifliği saptanmıştır. Bildirilen tüm PVL üreten *S. aureus* prevalansı bölgelerdeki MRSA yaygınlığına bağlı olarak %37 ile %78 arasında saptanmıştır. Çalışmalarda PVL pozitifliği daha uzun süren ateş, hastanede daha uzun süre kalma, daha yüksek akut faz cevabı (artmış CRP ve sedimentasyon düzeyi) ve pnömoni, apse ve derin ven trombozu gibi daha sık komplikasyon ile ilişkili bulunmuştur. Bir metaanalizde PVL pozitifliğinde hastalara cerrahi müdahale gereksinimin arttığı gösterilirken, üç çalışmada fark bulunmamıştır (121). Çalışmamızda beş hastada kas-iskelet sistemi tutulumu görüldü. Ancak bunların sadece birinde PVL pozitif *S. aureus* saptandı. Bu hastada diğerlerinden daha yüksek

(CRP: 398 mg/L) akut faz cevabı izlendi. Bu hastaya iki kez cerrahi müdahale gerekti ve diğer osteomyelit enfeksiyonlarıyla karşılaştırıldığında bu hastamız daha uzun süre hastanede yatırıldı.

PVL genleri yaygın olarak enfeksiyona yol açan TK-MRSA suşları arasında saptanır. Bazı çalışmalarda TK-MRSA izolatlarının %70-100 oranında PVL pozitifliği göstermektedir. MSSA izolatlarından ziyade MRSA izolatlarında saptanan PVL pozitifliğinin yapılan çalışmalarda MSSA izolatlarında taşınma oranının %12'den %81'e kadar değiştiği görülmektedir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada 71 MSSA klinik izolatu arasında %19,7 oranında PVL pozitifliği bulunmuştur. Bu çalışmada anlamlı olarak ateşin daha uzun süre devam ettiği ve daha yüksek CRP değerleri tespit edilmiştir. Ancak cerrahi gereksinimi, hastanede kalış süresi ve tedavi durumlarında önemli farklılık tespit edilmemiştir (122). PVL pozitifliği ile ilişkili enfeksiyonlar, Avrupa'nın çoğu ülkesinde olduğu gibi ülkemizde de çok yaygın değildir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada 242 cilt ve yumuşak doku etkeni *S. aureus* izolatu PVL varlığı açısından değerlendirilmiş ve %9,1 oranında PVL pozitifliği saptanmıştır. Bunların %63,6'si toplum kökenli % 36,4'ü sağlık bakım hizmeti ile ilişkili *S. aureus* etkenlerinde tespit edilmiştir. MRSA saptanan suşların hiçbirinde PVL pozitifliği saptanmamıştır (123). Ayrıca 2009 yılında sağlıklı çocukların burunlarından izole edilen 143 *S. aureus* suşunun incelendiği üniversitemiz bünyesinde gerçekleştirilen bir çalışmada PVL pozitifliği tespit edilememiştir (124). Ayrıca hem toplum hem hastane kaynaklı ve büyük bölümü MRSA olan 304 *S. aureus* suşunu kapsayan başka bir çalışmada PVL 12 (%3,9) suшта pozitif olarak bulunmuştur. Bu çalışmada PVL pozitif olan suşların %66,6'sı MRSA suşu olup büyük bölümü toplum kökenli olarak tespit edilmiştir (125). Çalışmamızda PVL pozitifliği %8,7 oranında tespit edildi. Bunların tümü MSSA idi. PVL pozitifliği saptanan MRSA suşu bulunmadı. Toplum kökenli MSSA suşlarının %69,2'sinde, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili MSSA suşlarının %30,8'inde PVL pozitif *S. aureus* saptandı.

PVL pozitif TK-MRSA suşlarının antibiyotik duyarlılığı konusunda sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Bu verilerde de genellikle TMP-SMX, fusidik asit, rifampisin ve tetrasiklin duyarlılığı mevcuttur (126). Çalışmamızda PVL pozitif TK-MSSA suşlarının tümü penisiline direnç gösterirken bir suшта (%7,6) terasikline

direnç saptandı. Eritromisin ve klindamisine ise birer suşta orta düzeyde duyarlılık mevcuttu.

MRSA 1990'ların başında toplumda ortaya çıktığında epidemiyolojik olarak toplumdan kazanılmış MRSA tanımı sağlık bakım hizmeti ile ilişkili risk faktörlerinin olmayışı ele alınıyordu. Ancak yıllar içinde toplum suşlarının hastane ortamlarında da saptanır olması tanımlamalarda değişikliklere yol açtı. Kesin ayırmalar yapılamamasına neden oldu. PVL gibi moleküler temelde genotipik tanımlamalar veya spesifik antibiyotik duyarlılıkları ile sağlık bakım hizmeti ile toplum kökenli suşlar arasında ayırma gidildi. Ancak PVL üretiminin son yıllarda SBHİ olarak da saptanmaya başlanması bu ayırımın da ortadan kalkacağını düşündürmektedir (127). Özellikle Avustralya gibi ülkelerde PVL genini taşımayan toplum kökenli MRSA suşları olsa da dünya genelinde PVL toplumda kazanılmış MRSA hastalığıyla ilişkili bulunmuştur. Amerika'da toplum başlangıçlı *S. aureus* enfeksiyonları endemiktir ve bundan temel olarak metisilin direnci ile ilişkili PVL üreten ST8/USA300 klonu sorumludur. 2003 yılına kadar bu suşlar toplumda ortaya çıkıyor iken, sonraları SBHİ enfeksiyonlarda sık olarak görülmeye başlanmıştır. Avrupa da ise USA300 nadir olup toplum başlangıçlı MRSA epidemiyolojik ve klonal olarak çeşitlidir. PVL pozitif suşlarının çoğu metisiline duyarlıdır. En sık toplum başlangıçlı MRSA klonu ST80 tipindedir. Ayrıca PVL pozitif MRSA suşları Avrupa'nın değişik bölgelerinde farklı sıklıkta görülmektedir. Yunanistan'da yaygın iken, İngiltere ve İrlanda'da nadirdir (114). Çalışmamızda 13 PVL pozitif suşun 10'unda sekans analizi yapılabildi. Bunlardan her biri ikişer suşta olmak üzere ST30, ST15, ST22, ST121 saptanırken, birer suşta ST1708 ve ST 34 tespit edildi.

Toksik şok sendromu ve stafilokokkal besin zehirlenmelerine yol açan TŞST-1 ve stafilokokkal enterotoksinler, pirojenik toksin süperantijenler olarak bilinen bir ailenin içerisinde yer alırlar. Bunlar kendilerine özgü toksinler yanında, bu ailenin üyesi olarak pirojenite, süperantijenite ve şoka duyarlılığı artırma yeteneği gibi birkaç yapısal ve biyolojik özellikleri paylaşırlar. Stafilokokkal enterotoksinler, emetik aktivite gösterenler ve emetik aktivite göstermeyen veya henüz test edilmeyen stafilokokkal enterotoksin benzeri (SETI) proteinler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Bugüne kadar stafilokokkal besin zehirlenmelerinden sorumlu tutulan klasik beş major antijenik yapıda SET (SET-A-E) mevcuttur. Bunlar

içerisinde dünyanın değişik bölgelerinde ortaya çıkan besin zehirlenmelerinden en çok sorumlu olan SET-A'dır. Bu beş enterotoksinin dışında yeni tanımlananlar içerisinde SET-H'nin besin zehirlenmeleriyle ilişkisi gösterilmişken, SET-G ve SET-İ enterotoksinlerinin çok küçük rolleri olduğu düşünülmektedir (29, 128, 129).

Stafilokokkal enterotoksinler, emetik aktiviteleri yanında süperantijen özelliği de göstermekte ve *S. aureus*'un virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Önemli derecede besin zehirlenmelerinden sorumlu olan bu toksinler üzerine, besin zehirlenmeleri dışında etkileri ve sıklığı yönünden yapılmış çok fazla çalışma mevcut değildir. Moleküler yöntemlerdeki hızlı ilerlemeler toksinlerin ekspresyonlarına bakmaksızın, bunların oluşumuna neden olan genetik bilgiyi *S. aureus* izolatlarında saptamada alternatif yollar sunmuştur. Almanya'da iyi tanımlanmış kandan ve nazal örneklerden elde edilen *S. aureus* suşlarında yeni tanımlanmış enterotoksinleri de kapsayan pirojenik toksin süperantijenleri kodlayan genlerin sıklığını araştıran çok merkezli bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışma ile ciddi sistemik enfeksiyonlarda ve kolonizasyonda rol alan *S. aureus* suşları arasında toksin gen ekipmanları açısından olası farkları ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu çalışmada kandan izole edilen 219 *S. aureus* suşunun %25,6'sında enterotoksin saptanmazken, en az iki ve daha fazla enterotoksin taşıyan suşların %63,9 oranında olduğu gözlenmiş ve tekli enterotoksinler %10,5 oranında tespit edilmiştir. Stafilokokkal enterotoksin G ile SET-İ ve SET-D ile SET-J birlikteliği sabit olarak sırasıyla %53 ve %10,5 oranında izlenirken, stafilokokkal enterotoksin A ve TŞST-1 sırasıyla %18,3 ile %17,4 oranında tespit edilmiştir. Nazal örneklerle karşılaştırıldığında SET-D ve SET-J birlikteliği anlamlı olarak kan örneklerinde elde edilen *S. aureus* suşlarında daha fazla saptanmış, diğerlerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir. SET-D ile SET-J taşıyan suşların genotiplendirilmesiyle bu suşların farklı klonlara ait olduğu bulunmuştur (129). Başka bir çalışmada SET-J *S. aureus* virülansında bağımsız bir faktör olarak bulunmuştur. Son dönemde yapılan başka bir çalışmada çoğunluğu cilt, yara yeri olmak üzere, solunum yolu, kan kültürleri, kateter, idrar doku ve diğerleri gibi toplamda 200 olmak üzere 100 MSSA ve 100 MRSA suşu üzerinde enterotoksinlerin sıklığı karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada en sık SET-G ve SET-İ bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (MRSA için %77 ve MSSA için %49). Bu çalışmada da her iki toksinin ayrıca SET-

D ve SET-J birlikteliği dikkat çekmiştir (MRSA %17, MSSA %8) (76). Çalışmamızda SET-B, SET-D, SET-H enterotoksinlerine ve TŞST-1'e rastlanmadı. Altmış iki izolatta (%41,3) hiçbir enterotoksin saptanmadı. En az bir, en fazla 3 tane enterotoksin birlikteliği görüldü. En çok SET-İ (%50,6) olmak üzere, SET-G (%24,6), SET-A (%4,6), SET-C (%4), SET-E (%4) ve SET-J (%0,66) saptandı. Çalışmamızda MRSA suşları içerisinde %66,6 SET-İ, %33,3 SET-G, %22,2 SET-A ve %11,1 SET-C bulundu. MRSA suşları içerisinde SET-E, SET-D ve SET-J'ye rastlanmadı. MSSA için bakıldığında %49,6 SET-İ, %24,1 SET-G, %4,2 SET-E, %3,5 SET-A ve SET-C ve %0,7 SET-J bulundu. Stafilokokkal enterotoksinlerin toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili olarak verilerini analiz ettiğimizde; SET-A'ların %85,7'si, SET-E'lerin %83,3'ü, SET-İ'lerin %48,7'si, SET-G'lerin %45,9'u ve SET-C'lerin %33,3'ü sağlık bakım hizmeti ile ilişkili olanlarda tespit edildi. Önceki iki çalışma ile karşılaştırıldığında SET-G ve SET-İ kombinasyonu en sık gözlenendi ancak daima ikili birliktelik mevcut değildi. Önceki çalışmalarda dikkat çeken SET-D ve SET-J birlikteliği saptanmadı. Çalışmamızda toplum ve hastane kökenli *S. aureus* suşlarında yeni tanımlananlarda dâhil olmak üzere enterotoksinlerin sıklığının gösterilmesi önemli bir veri olarak kabul edilmelidir. Özellikle yeni tanımlananlarda dâhil besin zehirlenmesi dışında enterotoksinlerin *S. aureus* enfeksiyonlarının patojenitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çok fazla çalışma yoktur. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ve önceki literatür bilgileri besin zehirlenmesi dışında da saptanan *S. aureus* enfeksiyonlarında enterotoksinlerin rolü üzerine daha çok araştırmaların yapılması ihtiyacını göstermektedir.

Ülkemizde özellikle çocuklardan izole edilen MSSA ve MRSA suşlarının moleküler tiplendirilmesine yönelik yapılan kapsamlı çalışma bulunmamaktadır. Son yıllarda gittikçe toplum ve hastane kökenli *S. aureus* suşlarının iç içe girdiği bir ortamda ülkemizdeki *S. aureus* klonal tiplerinin bilinmesi önemli bir veri tabanı oluşturacaktır. Ülkemizde 2003-2004 yılları arasında muhtemelen hastane kökenli (yatan hastalardan elde edilen kan örneklerinden izole edilen suşlar) 9 MRSA suşunun değerlendirildiği bir çalışmada, PFGE ile bu suşların aynı veya çok benzer klonal özellikler taşıdığı tespit edilmiş ve uygulanan MLST analizinde sekans tipi ST239 olarak bulunmuştur (130). Başka bir çalışma 2009 yılında yayınlanmış ve çok merkezli bir çalışma olarak yürütülmüştür. Toplanan 159 *S. aureus* suşunun 68'i

fenotipik olarak 54'ü genotipik olarak MRSA olarak değerlendirilmiştir. MRSA saptanan suşlar PFGE ile 23 farklı genotip grup içerisinde yakın ilişkili olarak tespit edilmiştir. Beş en baskın PFGE paterni gösteren gruplardan her birinden birer taneye MLST analizi uygulanmış ve hepsinde ST239 sekans saptanmıştır (131). Çalışmamızda hem MSSA hem MRSA suşlarında PFGE ve MLST tiplendirilmesi yapılmıştır. PFGE'ye tabi tutulan yüz dokuz *S. aureus* suşu dendogramda %80 ve üstü baz alınarak 74 farklı gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde 26 tanesinde en az iki en fazla 4 *S. aureus* suşu yer almış, diğerlerinde tek bir *S. aureus* suşu görülmüştür. Bu kadar farklı grupların saptanması, çalışmamızın iki yıl gibi bir süreyi kapsamaması, bu dönem içerisinde hastanemizde salgın ortaya çıkmaması, farklı klinik bölümlerden örneklerin toplanması, toplum kökenli hastalarımızın fazlalılığı gibi birçok etmene bağlanmıştır.

Çalışmamıza dâhil edilen *S. aureus* suşları içerisinde PFGE paterni, toplum ve hastane kökenli olma durumları gibi faktörler dikkate alınarak 100 suşa MLST yapıldı. Bunlardan 87 tanesinde ST tayinini sağlayacak yedi allelik profil tespit edilebildi. Bunlar sonucunda 85 tanesinde sekans tipi belirlendi. En sık ST737, ST22, ST15, ST121, ST30, ST5 olmak üzere 29 farklı sekans tipi belirlendi. Toplum kökenli suşlar arasında en sık ST737, ST22, ST121, ST30 tespit edilirken, hastane kökenlilerde ST737, ST97, ST15, ST239 ve ST34 bulundu. İlginç olarak 2 suşumuzda tüm allelik profil saptanılmasına rağmen veri tabanında herhangi bir sekans tipi ile uyuma tespit edilmedi. Bu iki suş için veri tabanının toplandığı merkez ile temasa geçilerek ileri araştırma yapılması planlanmıştır. Ayrıca iki suşumuzda beş allel tespit edilip veri tabanına girildiğinde tek bir sekans tipi ile uyumlu olma olasılığı gözlemlendi. Bu sekans tipi de ST737 idi. Çalışmamıza dâhil edilen *S. aureus* suşlarda saptanan sekans tiplerinin bazılarının hem hastane hem toplum ortamında tespit edildi. Bu durum ülkemiz içinde artık *S. aureus* tipine göre toplum kökenli ve SBHİ ayırımının pek mümkün olamayacağını göstermektedir.

8. SONUÇLAR

1. İki yıl içerisinde 70 toplum kökenli, 80 sağlık bakım hizmeti ile ilişkili *S. aureus* enfeksiyonu saptandı.
2. Hastaların 88 (%58,7)'si erkek, 62 (%41,3)'ü kız cinsiyet olup, yaş ortalaması 59,56 ay (3 gün-18 yaş) idi.
3. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar içerisinde en yaygın cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları görüldü.
4. Toplum kökenli enfeksiyonların %68,5'i, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların %22,5'u ayaktan tedavi edildi.
5. Toplum kökenli enfeksiyonların %47,1'inde, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların %61,2'sinde cerrahi tedavi gereksinimi oldu.
6. Sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarında ortalama yatış günü 16 gün ($\pm 13,55$) olup toplum kökenli enfeksiyonlara oranla anlamlı olarak yüksekti ($p=0,006$).
7. *S. aureus* suşları hem toplum kökenli hem de sağlık bakım hizmeti ilişkili enfeksiyonlardan en sık apse ve sürüntü yerlerinde elde edildi.
8. *S. aureus* suşlarının %93,8'i penisiline, %7,2'si tetrasikline, %6,9'u eritromisine, %6,5'i ampisilin-sulbaktama, %6'sı sefoksitine, %5,5'i klindamisine, %3,3'ü TMP-SMX'a, %2,8'i rifampisin ve siprofloksasine ve %0,7'si aminoglikozidlere (gentamisin veya netilmisin), direnç göstermekteydi.
9. SBHİ enfeksiyonlarda saptanan *S. aureus* etkenlerinde tetrasiklin direnci istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$).
10. Toplum kökenli beş, SBHİ enfeksiyonlarda dört olmak üzere toplamda dokuz hastada fenotipik olarak metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) bulundu.
11. Tüm *S. aureus* suşlarının %6'sında *mecA* pozitifliği tespit edildi. Beş hasta SBHİ ve dört hasta toplum kökenli enfeksiyona sahipti.
12. Fenotipik olarak MRSA tespit edilen bir *S. aureus* suşunda *mecA* pozitifliği saptandı. Genotipik olarak bir MRSA suşunda fenotipik olarak MRSA tespit edilmedi.
13. Tüm *S. aureus* suşlarının %8,7'sinde *PVL* pozitifliği tespit edildi.

14. Enterotoksin B-C, D, H ve TŞST toksinleri hiçbir *S. aureus* suşunda saptanmadı. Bazı suşlarda birkaç enterotoksin birlikte saptandı. En sık saptanan enterotoksinler, SET-İ ve SET-G idi.
15. Toplum kökenli enfeksiyonlarda *agr* tip1 30, *agr* tip2 10, *agr* tip3 20, *agr* tip4 8 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda saptandı. SBHİ enfeksiyonlarda *agr* tip1 46, *agr* tip2 14, *agr* tip3 14, *agr* tip4 4 ve tiplendirilmeyen *agr* 2 *S. aureus* suşunda bulundu.
16. 109 *S. aureus* suşunun dendogramında %80 ve üstü yakın ilişki dikkate alındığında sadece 61 tanesinin kendi içerisinde bir grup oluşturabileceği saptandı. Bu 61 tane *S. aureus* suşu 26 farklı gruba ayrıldı. Her grup en az iki en fazla dört *S. aureus* suşu içerdi.
17. Toplum ve sağlık bakım hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus* suşlarının ancak 85'inde sekans tipi belirlenebildi. Buna göre en fazla sekans tipi ST737 on bir, ardından ST22 sekiz, ST15 yedi, ST121 ise altı *S. aureus* suşunda tespit edildi. Toplum kökenli 48 *S. aureus* suşunda, sağlık bakım hizmeti ile ilişkili 37 *S. aureus* suşunda 29 farklı sekans tipi saptandı.

9. ÖZET

Arkaplan: *Staphylococcus aureus* insanda başta cilt ve yumuşak doku olmak üzere birçok doku ve organı tutan enfeksiyonların önde gelen etkenidir. *S. aureus*'un çok sayıda ve çeşitte virülans faktörüne sahip olması bu duruma önemli katkı sağlar. Klinik pratiklerde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimi *S. aureus* suşlarında önemli bir sorundur. Uzun yıllardır önemli bir hastane enfeksiyonu etkeni olmasının yanında, son yıllarda toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonunun da giderek önem kazanması ampirik başlanacak antibiyotik tedavisinin seçimini güçleştirmektedir.

Amaç: Toplumda ve hastane ortamında dolaşan *S. aureus* suşlarında virülans faktör olarak enterotoksinlerin ve PVL geninin varlığının bilinmesi, antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin çıkartılması, agr tipleri, PFGE profili ve sekans tiplerinin ortaya konulması ve dirençli olanlarda taşıdıkları SCCmec tiplerinin elde edilmesi, ampirik tedavi yaklaşımları ve gelecekte uygulanacak sağlık politikaları açısından yol gösterici olacaktır.

Materyal ve Metod: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Ocak 2011 ile Aralık 2012 tarihleri arasında ayaktan veya yatırılarak tedavi edilen çocuk hastalardan, enfeksiyon etkeni olarak üretilen 150 adet *S. aureus* suşu dahil edildi. *S. aureus* suşlarının disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlendi. Enterotoksinler, Panton-Valentine lükosidini (PVL), aksesuar gen regülör bölgesi (*agr*) tipleri, *mecA* pozitifliği, genotipik olarak MRSA bulunan suşlarda SCCmec tipi, PFGE profilleri ve sekans tipleri saptandı.

Bulgular: *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnci; penisilin %93,8, klindamisin %5,5, ampisilin-sulbaktam %6,5, TMP-SMX %3,3, rifampisin %2,8 olarak saptandı. Tüm *S. aureus* suşlarının %6'sında *mecA* pozitifliği tespit edildi. Genotipik olarak MRSA tespit edilen *S. aureus* suşlarının iki tanesinde SCCmec tip III ve SCCmec tip V, beş tanesinde SCCmec tip IV tespit edildi. Tüm *S. aureus* suşlarının %8,7'sinde Panton-Valentine Lükosidini pozitifliği bulundu. En sık saptanan enterotoksinler, SET-İ ve SET-G idi. Hem toplum hem sağlık bakım hizmeti ile ilişkili *S. aureus* etkenlerinde en sık agr tip 1 tespit edildi. PFGE profili belirlenen *S. aureus* suşlarının

sadece altmış bir tanesinin kendi içerisinde bir grup oluşturabileceği saptandı. Bu altmış bir tane *S. aureus* suşu en az iki suş içeren 26 farklı gruba ayrıldı. Sekans tipi belirlenebilenler arasında en fazla sekans tipi ST737 on bir, ardından ST22 sekiz, ST15 yedi, ST121 ise altı *S. aureus* suşunda tespit edildi.

Sonuç: Ülkemizde TK-MRSA enfeksiyonları yaygın değildir. Ampirik tedavide penisillinaza dirençli beta laktam antibiyotikler halen ilk seçenek olarak kullanılabilir. Klindamisin, makrolidler ve TMP-SMX alternatif olarak kullanılabilir. Hayatı tehdit edici enfeksiyonların tedavisinde TK-MRSA olasılığı akılda tutulmalıdır. Enfeksiyon etkeninin saptanması ve antibiyotik duyarlılığına göre tedavinin yönlendirilmesi uygun olur. Ülkemizde PVL pozitifliği dünya genelinde bildirildiği kadar yüksek değildir. Hem toplum hem de sağlık bakım hizmeti ile ilişkili *S. aureus* suşlarının sekans tiplerine bakıldığında iç içe girdiklerinin görülmesi, dünya genelinde son yıllarda bildirilen eğilime uygundur.

Anahtar Kelimeler: *S. aureus*, enterotoksin, Panton-Valentine Lökosidini (PVL), aksesuar gen regülör bölgesi (*agr*), metisilin direnci, SCCmec tipi, PFGE profili, sekans tipi

10. SUMMARY

Background: *Staphylococcus aureus* is the leading cause of infections in many tissues and organs particularly in skin and soft tissue. The number and variety of virulence factors of *S. aureus* contribute to this situation. Developing resistance to antibiotics which are used frequently in clinical practices is the major problem in *S. aureus* strains. In addition to being an important hospital infection agent for many years, MRSA has emerged as a community-acquired infection recently. This makes difficult to choose empirical antibiotic treatment.

Aim: For community and hospital acquired *S. aureus* species the knowledge of enterotoxins and PVL gene as virulence factor, identification of antimicrobial sensitivity patterns, agr types, PFGE profile and sequence types and in resistant cases to obtain SCCmec types will be helpful to decide empirical therapy and future health politics

Material and method: Total of 150 isolates of *S. aureus* isolated from the cultures of the outpatient or inpatient child patients in Ankara University Faculty of Medicine Department of Pediatrics in January 2011 and December 2012. The disc diffusion method was used for antibiotic susceptibility of *S. aureus*. Enterotoxins, The Pantone-Valentine leukocidin, agr types, positivity of *mecA*, type of SCCmec in MRSA strains, PFGE profiles and type of sequence were determined.

Results: Antibiotic resistance was observed such as penicillin 93.8%, ampicillin-sulbactam 6.5%, clindamycin 5.5%, trimethoprim-sulfamethoxazole 3.3%, rifampicin 2.8%. *mecA* was detected positive in 6% of *S. aureus* strains. Two of *S. aureus* strains which MRSA was detected genotypically, SCCmec type III and SCCmec type V and in five of them SCCmec type IV were detected. PVL was positive in 8.7% of all *S. aureus* strains. SET-I ve SET-G were the most common detected enterotoxins. In both community-associated and healthcare-associated agents MRSA agr type 1 was detected most commonly. The PFGE profile of *S. aureus* strains were only sixty-one of them in itself constitute a group. These sixty-one *S. aureus* strain were divided 26 groups which was containing at least 2 strains of *S. aureus*. The most common sequence types were ST737 in 11 patients than ST22 in seven patients and ST121 in six patients.

Conclusions: In our community CA-MRSA infection is not common. Penicillinase resistant beta lactam antibiotics could be used as first line therapy empirically. The alternative therapies are clindamycin, macrolides and TMP-SMX. For life threatening infections CA-MRSA should be kept in mind. It would be better to guide the therapy after acquisition of infectious agent and antibiotic sensitivity. PVL positivity is not high in our country when it is compared with literature. The overlap of both community and health service related *S. aureus* species sequence types is consistent with the recent trend around the world.

Keywords: *S. aureus*, enterotoxins, Panton-Valentine leukocidin (PVL), accessory gene regulator (agr) types, methicillin resistant, SCCmec type, PFGE profile, sequence type

11. KAYNAKLAR

1. Tekeli A, Koyuncu E, Dolapçı İ, Akan AÖ, Karahan CZ. Ankara Üniversitesi Hastanesinde 2002-2005 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler özellikleri. Mikrobiyol Bul. 2009; 43: 1-10.
2. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. Infect Immun. 2002; 70: 631-641.
3. Deurenberg RH, Stobbereingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infection, Genetic and Evolution. 2008; 8: 747-763.
4. Lowell GS, Daum RS. *Staphylococcus aureus*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG eds. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 3th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2008: 679-693.
5. Gülay Z. Gram pozitif bakteri infeksiyonları: direnç ve epidemiyoloji. ANKEM Dergisi. 2008; 22: 276-286.
6. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter M-O, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-Producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999; 29: 1128-1132.
7. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, Etienne J, Richet H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: Emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. 2002; 35: 819-824.
8. Witte W, Bräulke C, Cuny C, Strommenger B, Werner G, Heuck D, Jappe U, Wendt C, Linde H-J, Harmsen D. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leukocidin genes in central Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005; 24: 1-5.
9. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Piémont Y, Brousse N, Floret D, Etienne J. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin

and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet. 2002; 359: 753-759.

10. Diep BA, Sensabaugh GF, Somboona NS, Carleton HA, Perdreau-Remington F. Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine Leucocidin. J Clin Microbiol. 2004; 42: 2080-2084.
11. Moellering RC Jr. MRSA: the first half century. J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 4-11,
12. Ogston A. Micrococcus poisoning. J Anat Physiol. 1882; 17: 24-58.
13. Rosenbach A. Mikroorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen. J.F. Bergmann, Wiesbaden, Germany. 1884: 1-122.
14. Loeb L. The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. J Med Res. 1903; 10: 407-419.
15. Chapman G, Berens C, Peters A, Curcio L. Coagulase and hemolysin tests as measures of the pathogenicity of staphylococci. J Bact. 1934; 28: 343-363.
16. Evans JB. Staphylococcus. In: Breed RS, Murray EGD, Smith NR (eds). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. 1957; pp: 464-465.
17. Stafilokoklar ve benzer gram pozitif koklar. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. Çeviri editörü: Başustaoğlu AC. 6. Baskı. Ankara. Atlas Kitapçılık. 2010; 209-223.
18. Que YA, Moreillon P. *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2010: 2543-2578.
19. Kaplan SL, Hulten KG, Mason EO. *Staphylococcus aureus* infections. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL (eds). Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 6th. Ed. Philadelphia: Saunders. 2009: 1197-1213.
20. Cohen ML. *Staphylococcus aureus*: Biology mechanisms of virulence, epidemiology. J. Pediatr. 1986; 108: 796-799.

21. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E. W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Gram-Positive Cocci. İçinde: Washington C. Winn Jr. (eds). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6. baskı. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 2000; pp: 623-671.
22. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. J Pathog. 2011; 2011: 601905.
23. Gilot P, Lina G, Cochard T, Poutrel B. Analysis of the genetic variability of genes encoding the RNA III-activating components *agr* and *trap* in a population of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows and mastitis. J Clin Microbiol. 2002; 40: 4060-4067.
24. Yarwood JM, Schlievert PM. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. J Clin Invest. 2003; 112: 1620-1625.
25. Wright JS, Traber KE, Corrigan R, Benson SA, Musser JM, Novick RP. The *agr* radiation: an early event in the evolution of staphylococci. J Bacteriol. 2005; 187: 5585-5594.
26. Kapral FA. *Staphylococcus aureus* delta toxin as an enterotoxin. Ciba Found Symp. 1985; 112: 215-229.
27. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Piémont Y, Brousse N, Floret D, Etienne J. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet. 2002; 359: 753-759.
28. Yücel EA, Yücel A. Süperantijenler. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 1996; 16;1-7.
29. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. Toxins (Basel). 2010; 2: 2177-2197.
30. Lowell GS, Daum RS. *Staphylococcus aureus*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG eds. Principles and Practise of Pediatric Infectious Diseases. 3rd edt. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2008: 679-693.

31. Archer G. *Staphylococcus aureus*: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis. 1998; 26: 1179 - 1181.
32. Dinges M, Orwin P, Schlievert P. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000; 13: 16-34.
33. Mongkolrattanothai K, Aldag JC, Mankin P, Gray BM. Epidemiology of community-onset *Staphylococcus aureus* infections in pediatric patients: an experience at a Children's Hospital in central Illinois. BMC Infect Dis. 2009; 16; 9: 112-118.
34. David MZ, Glikman D, Crawford SE, Peng J, King KJ, Hostetler MA, Boyle-Vavra S, Daum RS. What is community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? J Infect Dis. 2008; 197: 1235-1243.
35. Morrison MA, Hageman JC, Klevens RM. Case definition for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect. 2006; 62: 241.
36. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Control. 2008; 36: 309-332.
37. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev. 2010; 23: 616-687.
38. Britton PN, Andresen DN. Paediatric community-associated *Staphylococcus aureus*: A retrospective cohort study. J Paediatr Child Health. 2013; 30: 1-6.
39. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Everett ED, Dellinger P, Goldstein EJ, Gorbach SL, Hirschmann JV, Kaplan EL, Montoya JG, Wade JC; Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. Clin Infect Dis. 2005; 41: 1373-1406.
40. Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. Lancet. 1978; 2: 1116-1118.
41. Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, eds. Staphylococcal infections. In Red book: 2012 report of the Committee on Infectious

- Diseases. 29th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics. 2012; pp: 652-668.
42. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009; 49: 1-45.
 43. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Br J Exp Pathol. 1929; 10: 226-236.
 44. Deurenberg RH, Stobbereingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol. 2008; 8: 747-763.
 45. Frimodt-Møller N, Espersen F, Skinhøj P, Rosdahl VT. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* bacteremia in Denmark from 1957 to 1990. Clin Microbiol Infect. 1997; 3: 297-305.
 46. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. ANKEM Derg. 2003; 17: 192-204
 47. Maranan MC, Moreira B, Boyle-Vavra S, Daum RS. Antimicrobial resistance in staphylococci. Infect Dis Clin North Am. 1997; 11: 813-849.
 48. Wielders CL, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ. *mecA* gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. J Clin Microbiol. 2002; 40: 3970-3975.
 49. Sancak B. MRSA direnç mekanizmaları: Dünyada ve Türkiye'de epidemiyolojisi. ANKEM Derg. 2012; 26: 38-47,
 50. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*): guidelines for reporting novel SCC*mec* elements. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53: 4961-4967.
 51. Tsubakishita S, Kuwahara-Arai K, Sasaki T, et al. Origin and molecular evolution of the determinant of methicillin resistance in staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 4352 - 4359.

52. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2007; 13: 222-235.
53. Rosato AE, Kreiswirth BN, Craig WA, Eisner W, Climo MW, Archer GL. *mecA-blaZ* corepressors in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 1460-1463.
54. McDougal L, Thornsberry C. The role of β -lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. J Clin Microbiol. 1986; 23: 832-839.
55. Ünal S. MRSA Problemi. ANKEM Derg. 2009; 23: 1-12.
56. Sancak B. *Staphylococcus aureus*'ta metisilin ve vankomisin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi. 2007; 38: 127-134.
57. Gregory PD, Lewis RA, Curnock SP, Dyke KG. Studies of the repressor (BlaI) of β -lactamase synthesis in *Staphylococcus aureus*. Mol. Microbiol. 1997; 24: 1025-1037.
58. Wilke A. Stafilokoklarda metilsilin direnç mekanizmaları ve belirlenmesi. ANKEM Derg. 1992; 6: 288-291.
59. Sancak B. *Staphylococcus aureus*'da metisilin direnç mekanizmaları. Mikrobiyol Bult. 2000; 34: 381-389.
60. Berger-Bachi B, Strassle A, Kayser FH. Characterization of an isogenic set of methicillin-resistant and susceptible mutants of *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol. 1986; 5: 697-701.
61. Henze U, Sidow T, Wecke J, Labischinski H, Berger-Bachi B. Influence of *fem* on methicillin resistance and peptidoglycan metabolism in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 1993; 175: 1612-1620.
62. Dumlupınar B. Antibiyotiklere dirençte yeni eğilimler. KLİMİK Dergisi 2001; 14: 47-56.
63. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 1997; 40: 135-136.
64. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 1999; 340: 493-501.

65. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. Lancet. 1998; 351: 1212.
66. Gould IM. Clinical activity of anti-Gram-positive agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 2011; 66: 17-21.
67. Persing DH. Moleküler Mikrobiyoloji Tanı Prensipleri ve Uygulamalar. Çeviri editörleri: Tekeli A, Ustaçelebi Ş. Ankara: Palme Yayıncılık. 2006; sayfa: 185-196.
68. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan A. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995; 33: 2233-2239.
69. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, Zhang Q, Zhou J, Zurth K, Caugant DA, Feavers IM, Achtman M, and Spratt BG. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. Proc Natl Acad SciUSA. 1998; 95: 3140-3145.
70. MLST. <http://saureus.beta.mlst.net/> 2013.
71. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000; 38: 1008-1015.
72. Feil EJ. Small change: keeping pace with microevolution. Nat Rev Microbiol. 2004; 2: 483-495.
73. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th informational supplement. Document M100-S20. CLSI, Wayne, PA. 2012.
74. Adaleti R, Nakipoglu Y, Karahan ZC, Tasdemir C, Kaya F. Comparison of polymerase chain reaction and conventional methods in detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dev Ctries. 2008; 2: 46-50.

75. Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosomemectype IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: ‘SCCmecIV multiplex. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 60: 42-48.
76. Sila J, Sauer P, Kolar M. Comparison of the prevalence of genes coding for enterotoxins, exfoliatins, Panton-Valentine Leukocidin and TSST-1 between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus* at the university hospital in Olomouc. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2009; 153: 215-218.
77. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, Alfa M; Canadian Committee for the Standardization of Molecular Methods. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 3481-3485.
78. Centers for Disease Control and Prevention. Community associated MRSA information for clinicians. Infection control topics. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA. http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca_clinicians.html#4. 21 June 2013.
79. Nastaly P, Grinholc M, Bielawski KP. Molecular characteristics of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains for clinical medicine. *Arch Microbiol*. 2010; 192: 603-617.
80. Mera RM, Suaya JA, Amrine-Madsen H, Hoge CS, Miller LA, Lu EP, Sahm DF, O'Hara P, Acosta CJ. Increasing role of *Staphylococcus aureus* and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States: a 10-year trend of replacement and expansion. *Microb Drug Resist*. 2011; 17: 321-328.
81. Wu D, Wang Q, Yang Y, Geng W, Wang Q, Yu S, Yao K, Yuan L, Shen X. Epidemiology and molecular characteristics of community-associated methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from skin/soft tissue infections in a children's hospital in Beijing, China. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 67: 1-8.

82. Nichol KA, Adam HJ, Hussain Z, Mulvey MR, McCracken M, Mataseje LF, Thompson K, Kost S, Lagacé-Wiens PR, Hoban DJ, Zhanel GG; Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA). Comparison of community-associated and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada: results of the CANWARD 2007-2009 study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 69: 320-325.
83. Como-Sabetti K. Harriman KH. Buck JM. Glennen A, Boxrud DJ. Lynfield R. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: trends in case and isolate characteristics from six years of prospective surveillance. *Public Health Rep*. 2009; 124: 427-435.
84. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in The United States, Canada, Latin America, Europe and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme, 1997-1999. *Clin Infect Dis*. 2001; 32: 114-121.
85. Chen CJ, Huang YC, Chiu CH, Su LH, Lin TY. Clinical features and genotyping analysis of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Taiwanese children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24: 40-45.
86. Ekşi F, Balcı İ, Gayyurhan ED, Çekem G. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarının metisilin direncinin belirlenmesive antimikrobiyal ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* (Turkish Journal of Infection). 2007; 21: 27-31.
87. Arıdoğan A. Atasever L, Bal Ç. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2004; 34: 20-23.
88. Derbentli Ş. Stafilokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. *ANKEM Derg*. 2005; 19: 53-77.
89. Chung M, Dickinson G, De Lencastre H, Tomasz A. International clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two hospitals in Miami, Florida. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 542-547.

90. Wannet WJ, Spalburg E, Heck ME, et al. Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leucocidin genes in The Netherlands. J Clin Microbiol. 2005; 43: 3341-3345.
91. Trindade Pde A, Pacheco RL, Costa SF, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005; 43: 3435-3437.
92. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2007; 13: 222-235.
93. Boutiba-Ben Boubaker I, Ben Abbes R, Ben Abdallah H, Mamlouk K, Mahjoubi F, Kammoun A, Hammami A, Ben Redjeb S. Evaluation of a cefoxitin disk diffusion test for the routine detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2004; 10: 762-765.
94. Atay T, Gülay Z, Kocagöz S, YuluğN. *Staphylococcus aureus* izolatlarının metisilin direncinin saptanmasında rutin duyarlılık testleri ve mecA gen analizi sonuçlarının karşılaştırılması. Mikrobiyol Bül 2002; 36: 133-140.
95. Yoshida R, KKuwahara-Arai K, Baba T, Cui L, Richardson JF, Hiramatsu K. Physiological and molecular analysis of a *mecA*-negative *Staphylococcus aureus* clinical strain that expresses heterogeneous methicillin resistance. J Antimicrob Chemother. 2003; 51: 247-255.
96. Khorvash F, Mostafavizadeh K, Mobasherizadeh S. Frequency of *mecA* gene and borderline oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* in nosocomial acquired methicillin resistance *Staphylococcus aureus* infections. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2008; 11: 1282-1285.
97. Maalej SM, Rhimi FM, Fines M, Mnif B, Leclercq R, Adnene Hammam A. Analysis of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) strains isolated in Tunisia. J Clin Microbiol. 2012; 50: 3345-3348.
98. Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM. Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of *nuc*, Panton-Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mec_{ALGA251}*. J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 2338-2341.

99. Van Leeuwen W, van Nieuwenhuizen W, Gijzen C, Verbrugh H, van Belkum A. Population studies of methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* strains reveal a lack of variability in the *agrD* gene, encoding a staphylococcal autoinducer peptide. J Bacteriol. 2000; 182: 5721-5729.
100. Shopsis B, Mathema B, Alcabes P, Said-Salim B, Lina G, Matsuka A, Martinez J, Kreiswirth BN. Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. J Clin Microbiol. 2003; 1: 456-459.
101. Ho CM, Hsueh PR, Liu CY, Lee SY, Chiueh TS, Shyr JM, Tsao SM, Chuang YC, Yan JJ, Wang LS, Wang JH, Ho MW, Tien N, Lu JJ. Prevalence and accessory gene regulator (*agr*) analysis of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* among methicillin-resistant isolates in Taiwan--SMART program, 2003. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010; 29: 383-389.
102. Ben Ayed S, Boutiba-Ben Boubaker I, Samir E, Ben Redjeb S. Prevalence of *agr* specificity groups among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* circulating at Charles Nicolle hospital of Tunis. Pathol Biol (Paris). 2006; 54: 435-438.
103. Manago K, Nishi J, Wakimoto N, Miyanojara H, Sarantuya J, Tokuda K, Iwashita M, Yamamoto K, Yoshinaga M, Maruyama I, Kawano Y. Biofilm formation by and accessory gene regulator typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains recovered from patients with nosocomial infections. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27: 188-190.
104. Sakoulas G, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr, Wennersten C, Venkataraman L, Novick RP, Gold HS. Accessory gene regulator (*agr*) locus in geographically diverse *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46: 1492.
105. Vuong C, Saenz HL, Gotz F, Otto M. Impact of the *agr* quorum-sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis. 2000; 182: 1688-1693.
106. Moore PC, Lindsay JA. Genetic variation among hospital isolates of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*: evidence for horizontal transfer of virulence genes. J Clin Microbiol. 2001; 39: 2760-2767.

107. Peerayeh SN, Azimian A, Nejad AB, Kashi M. Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* isolates from university hospitals in Tehran. Lab Medicine. 2009; 40: 27-29.
108. Jarraud S, Lyon GJ, Figueriredo AM, et al. Exfoliation-producing strains define a fourth specificity group in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 2000; 182: 6517-6522.
109. Traber KE, Lee E, Benson S, Corrigan R, Cantera M, Shopsin B, Novick RP. *agr* function in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. Microbiology. 2008; 154: 2265-2274.
110. Shopsin B, Drlica-Wagner A, Mathema B, Adhikari RP, Kreiswirth BN, Novick RP. Prevalence of *agr* dysfunction among colonizing *Staphylococcus aureus* strains. J Infect Dis. 2008; 198: 1171-1174.
111. Fowler VG Jr, Sakoulas G, McIntyre LM, et al. Persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with *agr* dysfunction and low-level in vitro resistance to thrombin-induced platelet microbicidal protein. J Infect Dis. 2004; 190: 1140 -1149.
112. Lyon GJ, Mayville P, Muir TW, Novick RP. Rational design of a global inhibitor of the virulence response in *Staphylococcus aureus*, based in part on localization of the site of inhibition to the receptor-histidine kinase, AgrC. Proc Natl Acad Sci USA. 2000; 97: 13330-13335.
113. Tremaine MT, Brockman DK, Betley MJ. Staphylococcal enterotoxin A gene (*sea*) expression is not affected by the accessory gene regulator (*agr*). Infect Immun. 1993; 61: 356-359.
114. Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC. The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2013; 13: 43-54.
115. Peyrani P, Allen M, Wiemken TL. Severity of disease and clinical outcomes in patients with hospital-acquired pneumonia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains not influenced by the presence of the Pantone-Valentine Leukocidin gene. Clin Infect Dis. 2011; 53: 766-771.
116. Pannaraj PS, Hulten KG, Gonzalez BE, Mason EO, Jr, Kaplan SL. Infective pyomyositis and myositis in children in the era of community-acquired,

- methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2006; 43: 953-960.
117. Martinez-Aguilar G, Avalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason J, Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. Pediatr Infect Dis J. 2004; 23: 701-706.
 118. Wehrhahn MC, Robinson JO, Pearson JC. Clinical and laboratory features of invasive community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: a prospective case-control study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010; 29: 1025-1033.
 119. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. Clin Infect Dis. 2006; 42: 647-656.
 120. Kaltsas A, Guh A, Mediavilla JR. Frequency of Pantone-Valentine Leukocidin-producing methicillin-sensitive *Staphylococcus* strains in patients with complicated skin and soft-tissue infection in Bronx, New York. J Clin Microbiol. 2011; 49: 2992-2995.
 121. Ritz N, Curtis N. The role of Pantone-Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. Pediatr Infect Dis J. 2012; 31: 514-518.
 122. Chiu YK, Lo WT, Wang CC. Risk factors and molecular analysis of Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* colonization and infection in children. J Microbiol Immunol Infect. 2012; 45: 208-213.
 123. Demir T, Coplu N, Bayrak H, Turan M, Buyukguclu T, Aksu N, Eksioglu M, Yalcin B, Atakan N, Kilic S, Karahan ZC, Esen B. Pantone-Valentine leucocidin gene carriage among *Staphylococcus aureus* strains recovered from skin and soft tissue infections in Turkey. J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 837-840.

124. Yurdakul E. çocuklarda nazal staphylococcus aureus ve metisilin dirençli staphylococcus aureus taşıyıcılığının araştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara. 2009
125. Karahan ZC, Tekeli A, Adaleti R, Koyuncu E, Dolapci I, Akan OA. Investigation of Panton-Valentine leukocidin genes and SCCmec types in clinical Staphylococcus aureus isolates from Turkey. Microb Drug Resist. 2008; 14: 203-210.
126. Thong KL, Junnie J, Fong YL, et al. Antibigrams and molecular subtypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in local teaching hospital, Malaysia. J Microbiol Biotechnol. 2009; 19: 1265-1270.
127. Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). J Hosp Infect. 2007; 67: 109-113.
128. Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. Toxins (Basel). 2010; 2: 1751-1773.
129. Becker K, Friedrich AW, Lubritz G, Weilert M, Peters G, Von Eiff C. Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. J Clin Microbiol. 2003; 41: 1434-1439.
130. Ergon MC, Biçmen M, Gülay Z. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesindeki dominant metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşunun moleküler yöntemlerle tiplendirilmesi. ANKEM Derg. 2010; 24: 65-70.
131. Alp E, Klaassen CH, Doganay M, Altoparlak U, Aydın K, Engin A, Kuzucu C, Ozakin C, Ozinel MA, Turhan O, Voss A. MRSA genotypes in Turkey: persistence over 10 years of a single clone of ST239. J Infect. 2009; 58: 433-438.

12. EKLER

EK-1

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın Veli,

S. aureus, çocuk hastalarda en çok izole edilen patojen olup, morbidite ve mortalitenin de önde gelen nedenidir. Antibiyotik çağının başlangıcından beri antibiyotik kullanımının oluşturduğu seçici baskı stafiloclarda çok kısa sürede direnç gelişmesine yol açmıştır. Metisilin klinik kullanımına girmesinden iki yıl sonra, ilk metisilin dirençli stafilokok aureus (MRSA) hastaları hastane ortamında bildirilmiştir. Geçen 50 yıl içinde çeşitli hastane kaynaklı MRSA klonları dünya genelinde yayılmıştır. Son yıllarda toplum kökenli MRSA izolatların tüm dünyada hızlı bir şekilde yayılması, bu izolatları toplum sağlığı açısından da önemli hale getirmiştir. Yapılan çalışmalar ile toplumdan edinilen MRSA'ya bağlı enfeksiyonların arttığı gösterilmiştir. Toplumdan edinilmiş MRSA suşlarının bir toplumdaki sıklığının ve antibiyotik duyarlılık paterninin bilinmesi bu etkenin yol açtığı enfeksiyonların ampirik tedavisinin planlanması için oldukça önemlidir. Bu çalışma ile toplum ve hastane kökenli *Staphylococcus aureus* suşların antibiyotik duyarlılıklarının saptanması, üreyen MRSA suşlarında PVL, *agr*, *SCCmec* gen ve sekans tipleri ve PFGE profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma herhangi bir yerden alınan kültürde *staphylococcus aureus* üreyen hasta çocuklar ile velilerden izin alınarak yapılacaktır. Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvuran ve Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ve Yoğun Bakım Servislerinde yatırılarak takip edilen çocuklarda enfeksiyonlarıyla ilgili alınan kültürlerde *staphylococcus aureus* üremeleri üzerinde yapılacaktır. Çalışmaya dahil edilecek, kültürde *staphylococcus aureus* üreyen çocuklar için bir anket formu doldurulacaktır. Gönüllülerin çalışmaya katılmak için harcayacakları süre anket doldurma ile sınırlıdır.

Sizin velisi olduğunuz çocuğunuz çalışmaya gönüllü olarak katılmaktadır.

1. Kültür verme işlemi dışında başka bir işlem ve risk söz konusu değildir.
2. Araştırmacılar sizin onayınız olmadan sizi çalışma dışında bırakma hakkına sahiptir.
3. Uygulanacak testlerle ilgili siz veya sosyal g vencenizi sağlayan kurum herhangi bir yük altına girmeyecektir.

ONAM FORMU

” ocuklarda Toplum Kökenli Staphylococcus Aureus İle Hastane Kökenli Staphylococcus Aureus Enfeksiyonlarının Karşılaştırılması” adlı çalışma bana sözlü olarak da anlatıldı. Çalışma ile ilgili tüm sorularıma tatmin edici cevaplar aldım. Çocuğumun çalışmaya kendi rızamla gönüllü olarak katılmasını kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı Soyadı

Tarih

İmza

Veli Adı Soyadı

Tarih

İmza

Doktor Adı Soyadı

Tarih

İmza

Tanıklık eden kurum yetkilisi Adı Soyadı

Tarih

İmza

Ek 2

TC
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HASTA TAKİP FORMU

Gönüllünün Adı-Soyadı:.....

Yaş :.....

Cinsiyet: E () K ()

Tarih :..... Protokol No:.....

Kilo :,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Son bir yıl içinde hastaneye yatma öyküsü:

.....

Son altı ay içinde antibiyotik kullanımı(*Varsa antibiyotik adı ve ne zaman kullanıldığı*) :

.....

.....

Damardan ilaç yada serum takılma öyküsü:

.....

Son bir yıl içinde hastane ziyareti :

.....

Ailede sağlık çalışanı

varlığı(*Hastane/poliklinik*):.....

Bilinen bir hastalık varlığı(*Varsa hastalığın*

adı):.....

Geçirilmiş ameliyat öyküsü (*Son altı ay içinde*)

.....

Yoğun Bakım ya da Yanık Ünitesinde yatma öyküsü:

.....

.....

.....

Sigara maruziyeti

.....

Kültür sonucu

.....