

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KLİNİK MATERYALLERDEN İZOLE EDİLEN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA MAKROLİD,
LİNKOZAMİD VE STREPTOGRAMİN B DİRENCİNİN
FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FATMA AYDENİZ OZANSOY

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. NURAL CEVAHİR**

DENİZLİ - 2013

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KLİNİK MATERYALLERDEN İZOLE EDİLEN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA MAKROLİD,
LİNKOZAMİD VE STREPTOGRAMİN B DİRENCİNİN
FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FATMA AYDENİZ OZANSOY

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. NURAL CEVAHİR**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 27.05.2011 tarih ve 2011TPF012 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2013

Doç. Dr. Nural CEVAHİR danışmanlığında Dr. Fatma AYDENİZ OZANSOY tarafından yapılan “Klinik Materyallerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B Direncinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması” başlıklı tez çalışması 10/04/2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof. Dr. İlknur KALELİ

ÜYE Doç. Dr. Nural CEVAHİR

ÜYE Yrd. Doç. Dr. Mustafa ŞENGÜL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.
16 04/2013


Prof. Dr. Mustafa KILIÇ

Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Gerek uzmanlık eğitimim gerekse tez çalışmam süresince her türlü ilgi, destek ve yardımlarını gösteren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Nural CEVAHİR'e; asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. İlknur KALELİ'ye, Prof. Dr. Çağrı ERGİN'ne, Doç. Dr. Melek DEMİR'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e ve Yrd. Doç. Dr. Ergun METE'ye; eğitimim süresince beraber çalıştığım, güzel dostluklarını her zaman anımsayacağım asistan arkadaşlarıma, bölümümüzün laboratuvar çalışanlarına ve personeline; yaşamın her alanında desteklerini esirgemeyen annem ve babama; her zaman yanımda olan, eşim Tolga OZANSOY'a; en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ÖZET	X
İNGİLİZCE ÖZET	XI
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
STAFİLOKOKLAR	3
Tarihçe.....	3
Sınıflandırma.....	4
Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	4
Üreme Özellikleri ve Koloni Morfolojileri.....	4
Biyokimyasal Özellikleri.....	4
Virulans ve Patojenite.....	5
Epidemiyoloji.....	8
Yaptığı Hastalıklar.....	8
Laboratuvar Tanısı.....	9
Tedavi.....	10
MAKROLİDLER	11
Yapısı.....	11
Etki Mekanizması.....	12
Antimikrobiyal Aktivitesi.....	12
KETOLİDLER	13
Yapısı.....	13
Etki Mekanizması.....	13
Antimikrobiyal Aktivitesi.....	14

LİNKOZAMİDLER.....	14
Yapısı.....	15
Etki Mekanizması.....	15
Antimikrobiyal Aktivitesi.....	16
STREPTOGRAMİNLER.....	16
Yapısı.....	16
Etki Mekanizması.....	17
Antimikrobiyal Aktivitesi.....	17
MAKROLİD, LİNKOZAMİD VE STREPTOGRAMİN ANTİBİYOTİKLERİNE KARŞI DİRENÇ MEKANİZMALARI ..	18
Hedef Bölge Değişikliği.....	18
Aktif Pompa Sistemi (Efluks sistem).....	19
Enzimatik İnaktivasyon.....	20
MAKROLİD DİRENCİ SAPTAMA YÖNTEMLERİ.....	21
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
BULGULAR	29
TARTIŞMA	47
SONUÇLAR	62
KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATCC:	American Type Culture Collection
ATP:	Adenozin trifosfat
BHI:	Brain-Heart Infusion
CLSI:	Clinical and Laboratory Standards Institute
CNA:	Columbia Kolistin Nalidiksik-asit besiyeri
cMLS _B :	Yapısal MLS _B direnci
CTP:	Sitozin trifosfat
<i>erm</i> :	Eritromisin ribozom metilaz
<i>ere</i> :	Eritromisin esterifikasyon
GTP:	Guanin trifosfat
iMLS _B :	İndüklenebilir MLS _B direnci
KNS:	Koagülaz Negatif Stafilokok
MLS _B :	Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B
MRSA:	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA:	Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
PEA:	Feniletıl Alkol Agar
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD:	Random Amplification of Polymorphic DNA
<i>S. aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
SPSS:	Statistical package for social sciences
TŞST-1:	Toksik Şok Sendromu Toksini-1
UTP:	Urasil trifosfat
<i>vat</i> :	Virginamisin faktör asetiltransferaz
<i>vgb</i> :	Virginamisin faktör b
VISA:	Vankomisin orta duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA:	Vankomisin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1	Eritromisinin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2	Telitromisin kimyasal yapısı	13
Şekil 3	Linkomisin kimyasal yapısı	15
Şekil 4	Klindamisin kimyasal yapısı	15
Şekil 5	Quinupristin kimyasal yapısı	17
Şekil 6	Dalfopristin kimyasal yapısı	17
Şekil 7	D- test ile tespit edilen MLS _B direnç fenotipleri	33
Şekil 8	<i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>ermA</i> gen bölgelerine ait bant görüntüleri.....	39
Şekil 9	<i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>ermB</i> gen bölgelerine ait bant görüntüleri.....	40
Şekil 10	<i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>ermC</i> gen bölgelerine ait bant görüntüleri.....	40
Şekil 11	<i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>msrA</i> gen bölgelerine ait bant görüntüleri.....	40
Şekil 12	<i>S. aureus</i> suşlarında saptanan <i>msrB</i> gen bölgelerine ait bant görüntüleri.....	41
Şekil 13	<i>ermA</i> pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram.....	43
Şekil 14	<i>ermB</i> pozitif suşlar arasındaki OLP13 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram.....	44
Şekil 15	<i>ermC</i> pozitif suşlar arasındaki OLP13 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram.....	44
Şekil 16	<i>msrA</i> pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram.....	45
Şekil 17	<i>msrB</i> pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram.....	45
Şekil 18	<i>ermA</i> pozitif suşlar arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinin PZR görüntüsü	46

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1	Makrolidler.....	12
Tablo 2	Bakterilerde görülen effluks tipleri ve bunlardan etkilenen antibiyotikler	20
Tablo 3	PZR’nda kullanılan özgül primerler.....	25
Tablo 4	<i>S. aureus</i> suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımları...	30
Tablo 5	<i>S. aureus</i> suşlarının kliniklere göre dağılımları	31
Tablo 6	<i>S. aureus</i> suşlarında D- test yöntemi kullanılarak belirlenen direnç fenotipleri.....	32
Tablo 7	<i>S. aureus</i> suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları	35
Tablo 8	<i>S. aureus</i> suşlarında yapısal MLS _B , indüklenebilir MLS _B , MS ve S fenotipleri arasındaki antibiyotik direnç profili.....	36
Tablo 9	iMLS _B fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları.....	37
Tablo 10	cMLS _B fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları.....	38
Tablo 11	MS fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları.....	39

ÖZET

Klinik Materyallerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B Direncinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması

Dr. Fatma AYDENİZ OZANSOY

Staphylococcus aureus, insanda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen mikroorganizmalardandır. Stafilokoklar geçmişten günümüze dek gelen süreçte önce penisilinlere ardından metisilin ve glikopeptidler olmak üzere çok sayıda antibiyotiğe direnç geliştirmelerinden ve epidemilere yol açabilmelerinden dolayı önemli bir sorun haline gelmiştir. Metisilin direnci, makrolidler gibi alternatif antibiyotiklerin kullanımına neden olmuştur. Ancak tüm dünyada gelişen makrolid direnci bu antibiyotiklerin kullanımını sınırlamıştır. Makrolid direnci, hedef bölge değişikliği (MLS_B fenotipi, *erm* genleri tarafından kodlanır), aktif atım pompası (efluks) (MS fenotipi, *msrA/B* genleri tarafından kodlanır) veya hücre duvar geçirgenliğinin azalması şeklinde oluşabilir. Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının MLS_B direncinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Toplam 404 *S. aureus* suşu çalışmaya alınmıştır. Suşlarda MLS_B direncinin fenotipik araştırılmasında çift disk sinerji testi (D-test), genotipik araştırılmasında ise PZR yöntemi kullanılmıştır. Tüm stafilokok suşlarına çift disk sinerji testi (D-test) yapılarak 19 suшта yapısal (cMLS_B), 111 suшта indüklenebilir (iMLS_B) klindamisin direnci, 5 suшта MS fenotipi ve 268 suшта S fenotipi saptanmıştır. Çalışmaya alınan 404 suşun 136 (%33.6)'sında fenotipik olarak MLS_B direnci saptanmıştır. Genotipik olarak 136 suşun %77.9'unda *ermA*, %2.9'unda *ermB*, %14.7'sinde *ermC*, %11.0'inde *msrA* ve %2.9'unda *msrB* geni saptanmıştır. Sonuç olarak *S.aureus* izolatlarında MLS_B direncinin araştırılmasının bu bakteriyle gelişen enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçimi yapılırken yönlendirici olacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: *S. aureus*, MLS_B direnci, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*

SUMMARY

Investigation of macrolide, lincosamide and streptogramin B resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates by phenotypic and genotypic methods

Dr. Fatma AYDENİZ OZANSOY

Staphylococcus aureus is one of the most common causes of both community- and healthcare- associated infection. Staphylococci have become a major problem since from past to nowadays owing to the fact that they have been developed against resistance to various antibiotics, first to penicillins, then to methicillin and especially to glycopeptides and they are able to make epidemics. Methicillin resistance comes the use of alternative antibiotics like macrolides; but worldwide development of macrolide resistance limits the use of these antibiotics. Macrolide resistance occurs either through target site modification (MLS_B phenotype, encoded by *erm* genes), efflux (MS phenotype, encoded by *msrA/B* genes) or decreased cell wall permeability. In this study, the research of MLS_B resistance of *S. aureus* isolates which are isolated from various clinical samples is aimed with phenotypic and genotypic methods. Totaly 404 *S. aureus* isolates have been included. The double disc synergy test (D-test) for the phenotypic research and PCR method for genotypic research of MLS_B resistance of isolates. Constitutive (cMLS_B) on 19 isolates, inducible (iMLS_B) clindamycin resistance on 111 isolates, MS phenotype on 5 isolates and S phenotype on 268 isolates were determined by the double disc synergy test (D-test) in all Staphylococci. MLS_B resistance were determined as phenotypic on 136 (%33.6) of 404 isolates which were included in this study. As genotypic 77.9% *ermA*, 2.9% *ermB*, 14.7% *ermC* , 11% *msrA* and 2.9% *msrB* genes of 136 isolates were determined. The research of MLS_B resistance on *S. aureus* isolates when choosing the drugs to treath infections caused by *S. aureus* will lead for the future.

Key words: *S. aureus*, MLS_B resistance, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*

GİRİŞ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), gerek toplum gerekse hastane kökenli enfeksiyonlardan en sık soyutlanan etkenlerinden biridir. Yaşamı tehdit eden komplikasyonlara ve yüksek mortalite oranlarına yol açması nedeniyle önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Nedeni olduğu enfeksiyonlar arasında deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, akciğer enfeksiyonları, besin zehirlenmesi, endokardit, menenjit, bakteriyemi sayılabilir (1, 2). Günümüzde bu enfeksiyonların tedavisi amacıyla, mikroorganizmanın β laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi ve penisilin alerjisi olan hastalar nedeniyle, sıklıkla makrolid grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Makrolid grubu yeni antibiyotikler 1990'lı yılların başlarında, β laktam grubu antibiyotiklere alternatif olarak sunulmuş ve *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaya başlanmıştır. Bu antibiyotiklerin, yaygın ve düzensiz kullanılmalarına bağlı olarak hızla direnç gelişmektedir. Günümüzde *S. aureus* suşlarında makrolid grubu antibiyotiklere çeşitli mekanizmalarla direnç gelişmiş durumdadır. Bakteride hücre duvar permeabilitesinin azalması, aktif atım pompa sistemi (efluks), hedef bölge değişikliği (50S ribozomal alt unitesindeki 23S ribozomal RNA'da adenin metilasyonu) gibi mekanizmalar direnç gelişiminde rol almaktadır. En sık görülen direnç mekanizması hedef bölge değişikliğidir (3-5).

Makrolid, linkozamid, streptogramin B antibiyotiklere (MLS_B) direnç olarak tanımlanan direnç profili, plazmid veya transpozonlarla aktarılır. MLS_B direnç fenotipi indüklenebilir (iMLS_B) veya yapısal (cMLS_B) özellik gösterir. Yapısal olarak dirençli suşlar, MLS_B grubundaki tüm antibiyotiklere dirençlidirler ve standart antibiyotik duyarlılık testleriyle kolayca saptanırlar. İndüklenebilir dirençte ise 14 ve 15 üyeli makrolidlerin metilaz sentezini kuvvetle indüklemeleri nedeniyle sadece bu grupta yer alan makrolidlere (örneğin eritromisin ve azitromisin) karşı direnç gelişir, 16 üyeli makrolidler (örneğin spiramisin), linkozamid ve streptogramin B ise etkinliğini sürdürür. Bu dirençte *erm* geni (eritromisin ribozom metilaz) rol alır. *erm* geninin 4 major sınıfı vardır; *erm*(A), *erm*(B), *erm*(C) ve *erm*(F). Stafilokoklarda MLS_B direncinde en sık saptanan genler, *erm*(A) ve *erm*(C)'dir (3, 5). ATP-bağımlı aktif atım pompasının etkili olduğu antibiyotik direncinde ise bakteri 14, 15 üyeli

makrolidlere dirençli, 16 üyeli makrolidlerle, linkozamid ve streptogramin B'ye duyarlıdır; buna ek olarak eritromisin MİK değeri de oldukça düşüktür. Bu mekanizma sayesinde hücre içindeki antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu, ribozoma bağlanıp etki göstermede yetersiz kalır. Atım pompasından sorumlu *msrA/B* geni genellikle kromozom üzerinde yer alır ve konjugasyonla aktarılır (5, 6). MLS_B grubu antibiyotikler, özellikle de klindamisin, stafilokok enfeksiyonlarında kemik ve dokuya penetrasyonunun iyi olması ve potansiyel antitoksin nedeniyle uzun süreli tedavi için iyi seçenektir. Fakat indüklenebilir klindamisin direncinin gelişmesi bu etkinliği sınırlandırmıştır (1, 2).

Direnç mekanizmasının bilinmesi klindamisin ve diğer MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanılabilmesi açısından önemlidir. İndüklenebilir klindamisin dirençli bir stafilokok suşu ile oluşan enfeksiyonda klindamisin kullanımı klinik başarısızlığı getirecektir. Buna karşılık, çapraz dirençten çekinilerek MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanımından vazgeçilmesi ise enfeksiyon tedavisinde gereksiz yere diğer pahalı antibiyotiklerin devreye sokulması neticesinde maddi kayba, bunun yanı sıra bu antibiyotiklerin yaygın kullanımı neticesinde maruz kalan organizmalarda yeni direnç gelişimine neden olacaktır. Bu nedenle, direnç mekanizmalarının ayrıntılı bir şekilde izlenmesi, hem hasta tedavisinin doğru yönlendirilerek morbidite ve mortalitenin azaltılması, hem de hasta ve ülke ekonomisinin zarara uğratılmaması açısından önemlidir.

Türkiye'de klinik *S. aureus* izolatlarında görülen makrolid direncinden hangi direnç genlerinin sorumlu olduğunu ortaya koyan çalışma sayısı kısıtlıdır. Yerinde ve doğru antibiyotik seçimi için iyi çalışılmış duyarlılık testlerine ihtiyaç vardır. Direnç görüldüğü takdirde bu direncin gen düzeyinde doğrulanması, ileriye dönük çalışmalarda yönlendirici olacaktır.

Bu çalışmada; laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarında, MLS_B grubuna karşı gelişen direncin fenotipik karakterinin belirlenmesi ve dirençte rol alan genetik temelin saptanması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

STAFİLOKOKLAR

Tarihçe

Stafilokoklar ilk olarak 1878'de Robert Koch tarafından insan cerahatinde tanımlanmıştır. Ogston 1880 yılında bu mikroorganizmaların yüzeysel süpüratif inflamasyona, septisemi ve pyemiye yol açabileceğini, açıklayarak patojenitelerini vurgulamış ve aynı yıl Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiştir (7, 8).

Staphylococcus terimi Yunanca *staphyle* (üzüm salkımı) kelimesinden türetilmiştir ve karakteristik kümelenmeler yaptıklarından dolayı 1882 yılında Ogston tarafından bu mikroorganizmalar "*Staphylococcus*" olarak isimlendirilmiştir (9). Rosenbach 1884'te stafilokokların ilk kez saf kültürünü yapmış ve karakteristik özelliklerini laboratuvarında inceleyerek, katı besiyerinde beyaz ve sarı renkli koloniler oluşturan iki farklı stafilokok tespit etmiştir. Beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı-portakal rengi kolonileri ise *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) olarak isimlendirmiştir. Winslow ve arkadaşları 1920 yılında stafilokok cinsini *Micrococcaceae* familyasına dahil etmiştir (7, 8, 10).

Antibiyotik öncesi dünyada *S. aureus* bakteriyemisine bağlı ölüm hızı ve metastatik enfeksiyon hızı %70'in üzerinde olduğu belirtilmektedir. Alexander Fleming tarafından 1928 yılında Penisilinin keşfedilip, 1941 yılında klinikte kullanılmaya başlanmasıyla stafilokok enfeksiyonlarının prognozu dramatik olarak değişmiştir. 1944 yılında ilk kez Kirby tarafından penisilinaz üreten stafilokoklar bildirilmiştir. Özellikle hastanelerden ve toplumdan izole edilen *S.aureus* suşlarının %80'den fazlası 1960'lı yılların sonunda penisiline dirençli hale gelmiştir (11, 12). Penisiline dirençli suşlar için 1959 yılında klinik kullanıma sunulan ve penisilinaza dirençli ilk semisentetik antimikrobiyal ajan olan metisiline karşı 1961 yılında ilk dirençli *S. aureus* suşları bildirilmiştir (12). Antibiyotiklere çoklu direnç gösteren metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları 1980'lerin sonlarında ve 1990'lı yıllarda tüm dünyaya yayılmış ve hastanelerde en sık rastlanan nozokomiyal patojenler arasında yerini almıştır (13).

Sınıflandırma

Stafilokoklar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1986 yılındaki baskısında *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* cinsleri ile birlikte "Micrococcaceae" ailesi içinde sınıflandırılmıştır (10, 14). Moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte daha sonra yapılan DNA-ribozomal RNA hibridizasyonları, 16SrRNA sekans analizleri gibi genetik çalışmalar ve kemotaksonomik analizler (hücre duvarı kompozisyonu, hücresel yağ asitleri gibi) aslında bu mikroorganizmaların birbirlerinden farklı olduklarını göstermiş ve tek bir aile içinde toplanmaması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalar planokoklar ve stafilokokların *Bacillus/Lactobacillus/Streptococcus* grubu üyeleri ile mikrokok ve stomatokokların ise amycelial Actinomycetes'ler ile yakın filogenetik ilişki içinde olduklarını göstermiştir (14). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin yeni baskısında stafilokoklar *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfında, *Bacillales* takımındaki *Staphylococcaceae* ailesi içinde Genus I olarak sınıflandırılmıştır (15).

Günümüzde *Staphylococcus* genusunda 35 tür ve 17 alt tür saptanmıştır (9). İnsanlar için önemli olan üç stafilokok türü, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*'tur.

Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Stafilokoklar yuvarlak, 0,5-1,7µm çapında, katalaz (+), hareketsiz, sporsuz, gram pozitif koklardır (14).

Üreme Özellikleri ve Koloni Morfolojileri

Stafilokoklar sadece anaerobik şartlarda üreyebilen *S. aureus* subsp. *anaerobius* ve *S. sachcorolyticus* hariç fakültatif anaerob bakterilerdir. Katı besiyerlerinde 18-24 saat içinde beyaz ya da altın sarısı pigmentli, 1-3 mm çapında, yuvarlak kenarlı, kabarık parlak yüzeyli, tereyağı kıvamında, S tipi, beta hemolitik veya non hemolitik koloniler yaparlar. Alfa hemoliz yapan stafilokok türü tespit edilmemiştir (7, 10, 14).

Biyokimyasal özellikler

Stafilokoklar başta glukoz olmak üzere maltoz, laktoz, fruktoz gibi karbonhidratların çoğunu asit oluşturarak parçalar fakat gaz oluşturmazlar. Karbonhidratlardan mannitol üzerine etkileri özellik taşımakta olup bu karbonhidratı *S. aureus* parçaladığı halde koagülaz negatif olanlar parçalamaz (10, 15).

S. aureus;

Virülans ve Patojenite

Organizmaya giren stafilokoklar yoğun ve karışık bir savunma mekanizması ile karşılaşılır. Bu mekanizmada olabilecek herhangi eksiklik ve mikroorganizmanın virülansı stafilokokların enfeksiyon riskini ve ağırlığını arttırabilir. Bu mikroorganizmaların bakterinin konağa tutunması, anatomik bariyerlerden girişi, fagositik hücrelerin inaktivasyonu, konağın humoral savunmasının bozulması, hücre duvar yapıları, kapsül yüzey proteinleri, toksinleri ve enzimleri rol oynar (10).

Virulans Faktörleri

Virulans faktörleri arasında yapısal komponentler (kapsül, peptidoglikan, teikoik asit, protein A), hemoliziner (alfa hemoliziner, beta hemoliziner, delta hemoliziner, gama hemoliziner), Panton-Valentine lökositidin, toksinler (eksfolyatif toksin, enterotoksinler (A-E, G-I), toksik şok sendromu toksini-1 (TŞST-1)), enzimler (koagülaz, katalaz, hyaluronidaz, fibrinoliziner, lipaz, nükleaz, penisilinaz) ve slime faktör yer almaktadır.

Yapısal Komponentler

Kapsüller Polisakkarit: Bazı *S. aureus* kökenlerinde polimorfo-nükleer hücreler tarafından organizmanın fagositozunu önleyen aynı zamanda prostatik yüzeylere ve konak hücrelere tutunmasını sağlayan polisakkarit yapıda kapsül bulunur (14).

Peptidoglikan Tabaka: Bakteri hücre duvarı; mikroorganizmaya şeklini veren, yapısal sertlik sağlayan ve dış çevre şartlarına karşı fiziksel bariyer oluşturan bir yapıdır. Hücre duvarına sertlik veren kısım peptidoglikan tabakasıdır (7, 14).

Teikoik Asit: Teikoik asitler ribitol veya gliserol ünitelerinin fosfodiester bağları ile birbirlerine bağlanmalarından oluşan polimerlerdir. Stafilokoklarda her iki tür teikoik asit de bulunur (Ribitol teikoik asit ve gliserol teikoik asit). Teikoik asitler antijeniktir ve bu antijenik özelliklerinden yararlanılarak bakterilerin gruplandırılmasında kullanılırlar (16).

Protein A: *S. aureus*'un hücre duvarının dış yüzünde bulunan ve aynı zamanda dış ortama da salgılanan 42 kDa ağırlığında bir moleküldür. Bu protein IgG3 hariç tüm insan IgG alt sınıflarının Fc bölgesine bağlanabilme yeteneğine

sahiptir. İmmünglobulinlerin Fc bölgelerine bağlanan protein A, bakteriyi antikora bağlı fagositozdan ve komplemana bağlı vücut savunmasından korur (17).

Hemolizinler

Alfa Hemolizin: Eritrosit, polimorfonükleer lökosit, trombosit ve fibroblastları içeren çok değişik hücre tipi üzerine letal etkiye sahip olan en önemli hemolizindir (18). Alfa hemolizin yedi monomerden oluşan ve toplam moleküler ağırlığı 33 kDa olan heptamerik bir proteindir. Geç logaritmik üreme safhasında hücre dışına salgılanır. Monomerler hedef hücre membranı üzerinde merkezinde bir por bulunan silindirik heptamerler oluşturmak üzere etkileşir (19). Bu silindirik heptamerik proteinlerin açtığı porlardan hücre dışına hızla potasyum ve diğer küçük moleküller çıkarken, sodyum ve kalsiyum iyonları hücre içine girer. Bunun sonucunda osmotik dengesi bozulan hücre parçalanır. Alfa hemolizin aynı zamanda dermonekrotik etkiye sahiptir. Ayrıca miyelin kılıflarının demiyelizasyonuna yol açarak nörotoksik etki oluşturur. Kanlı agarda üreyen *S. aureus* kolonilerinin çevresindeki beta hemolizden de bu toksin sorumludur (7, 14).

Beta Hemolizin: Değişik hücreler üzerine etkili olan bir sfingomyelinazdır. Dermonekrotik etkisi bulunmaz. Beta hemolizin, logaritmik üreme fazının sonunda hücre dışı ortama salınan ve moleküler ağırlığı 35 kDa olan bir proteindir (14). Alfa hemolizin ile birlikte beta hemolizin, invaziv stafilokok enfeksiyonları için tipik olan doku hasarı ve apse oluşumundan sorumlu en önemli toksindir (7).

Gama Hemolizin ve Panton-Valentine Lökosidin: Gama hemolizin proteinleri molekül ağırlığı 32-35 kDa aralığında olan hemolizin γ A (HlgA), hemolizin γ B (HlgB) ve hemolizin γ C (HlgC) olmak üzere üç farklı proteindir. Panton-Valentine lökosidin proteinleri ise molekül ağırlığı 32 ve 34 kDa olan LukS-P-V ve LukF-P-V olmak üzere iki farklı proteindir (18). Bu toksinler hedef hücrelerde por oluşumuna neden olarak hücre membranının başta potasyum olmak üzere katyonlara geçirgenliğini artırmakta ve lökosit sitoplazmasında degranülasyona yol açarak erimelerine neden olmaktadır (14).

Delta Hemolizin: Moleküler ağırlığı 3 kDa olan hücre dışı bir proteindir. Bu hemolizin *S. aureus* türlerinin %97'sinde ve koagülaz negatif stafilokokların %50-70'inde bulunur (20). Delta hemolizin, hücre membranını deterjan benzeri etkiyle tahrip ederek hücre içeriğinin dışarı çıkmasına yol açan yüzey aktif bir proteindir

(14). İnsan, tavşan, koyun ve maymun eritrositlerini eritir. Biyolojik etkinliği geniş olup, eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratan bir proteindir (8, 9).

Toksinler

Eksfoliyatif Toksinler: Stafilokokal haşlanmış deri sendromuna yol açan toksinlerdir (18). Eksfoliyatif toksin A ve Eksfoliyatif toksin B olmak üzere iki proteinden oluşur. Eksfoliyatif toksin A ısıya dayanıklıdır ve kromozomal kökenlidir. Buna karşın Eksfoliyatif toksin B ısıya duyarlı bir proteindir ve plazmid kökenlidir (7, 14). Eksfoliyatif toksin A 100°C'ye 20 dakika dayanır. Eksfoliyatif toksin B ise 60°C'de 30 dakika ısıtmakla harap olur (8).

TŞST-1: Toksik şok sendromu; ateş, diyare, deride yaygın kırmızı döküntüler, mental konfüzyon, ciddi hipotansiyon, böbrek yetmezliği ile karakterize klinik bir tablodur (8). TŞST-1 moleküler ağırlığı 22 kDa olan küçük bir protein olup ısıya ve proteolitik enzimlere dirençlidir ve süperantijen yapısındadır (14).

Enterotoksinler: İnsan orijinli, III ve IV faj grubuna ait, koagülaz pozitif suşlar tarafından meydana getirilir. Isıya dirençli, 100°C'ye 30 dakika dayanabilen, gastrik ve jejunal enzim hidrolizine dirençli, polipeptit yapısında maddelerdir (8).

Enzimler

Koagülaz, katalaz, hyalüronidaz, stafilokinaz, lipaz, nükleaz, penisilinaz gibi stafilokok enzimleri bakterinin komşu dokulara yayılımını kolaylaştırarak enfeksiyonun patogenezinde rol alırlar (21).

Koagülaz: Ekstraselüler bir proenzimdir. Coagulase-Reacting factor (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır (8).

Katalaz: Bu test stafilokok ve mikrokokları, streptokok, enterokok ve streptokok benzeri bakterilerden ayırt etmede kullanılır. Katalaz enzimi içeren bakteriler hidrojen peroksiti hidrolize ederek su ve oksijen gazı çıkışına yol açar. Oksijen gazı lam üzerinde hava kabarcıkları olarak gözlenir (7).

Hyalüronidaz: *S.aureus* suşlarının %90'dan fazlası hyalüronidaz oluşturur. Bu enzim hyaluronik asidi hidrolize ederek, enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştırır (8).

Stafilokinaz: Stafilokokal fibrinolizin, ısıya dirençlidir. Plazminojeni, plazmine aktive eder (8).

Lipaz: Lipidleri hidrolize eder. Stafilokokun yağlı deride yerleşmesini sağlar (8).

Nükleaz: Koagülaz pozitif *S. aureus*'ların %90-96'sında bulunan ısıya dirençli nükleaz, fosfodiesterazdır (8).

Epidemiyoloji

Stafilokoklar doğada yaygın olarak bulunur. Kuş ve memelilerin daha çok deri ve deri ile ilişkili bezlerinde bazende orofarinks, gastrointestinal ve ürogenital mukozada kolonize olurlar (9). Yenidoğan döneminde *S. aureus* kökenleri göbek çevresi, perianal bölge, deri ve bazende gastrointestinal sistemde kolonize olur. Yaşamın daha ileri dönemlerinde ise *S. aureus*'un en önemli kolonizasyon bölgesi burun deliklerine yakın burun mukozası ön kısmıdır (22). Burun taşıyıcılığında kolonize olan mikroorganizma sayısı 10^2 - 10^3 kadar olabilir ve aynı kişide birden fazla suş aynı anda bulunabilir. Sağlıklı insanlarda kolonizasyon oranı %10-20'si kalıcı olmak üzere %30-50 arasında değişmektedir. Toplumun %20'sinde ise hiçbir zaman taşıyıcılık görülmemektedir (23). Hastane personeline ise %50-90'lara kadar ulaşabilmektedir. Stafilokoklar direkt temasla veya kontamine araç ve gereçlerle de yayılabilir. Bu yüzden tıbbi personel diğer hastalara stafilokokların bulaşmasını önlemek için ellerini yıkamaya özen göstermelidir (24).

Yaptığı Hastalıklar

Stafilokoklar basit deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından, sepsis gibi ağır tablolara uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunu içerirler. *S. aureus* diğer stafilokoklar arasında en önemli patojendir (14, 21).

S. aureus'un oluşturduğu enfeksiyonları; deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi ve endokarditler, organ enfeksiyonları ve toksinleriyle oluşan hastalıklar olmak üzere dört grupta incelemek mümkündür. Son yıllara kadar izole edildiğinde kültür kontaminan olarak kabul edilen koagülaz negatif stafilokokların (KNS) birçok çalışma ile ciddi oranda enfeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir. KNS'ler hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli oranlarda izole edilirken, toplumdan edinilmiş enfeksiyonlarda da sık karşılaşılabilecek hale gelmiştir (25). KNS'lerin etken olduğu enfeksiyonların çoğu kateter veya yabancı cisim ile ilişkilidir. Doğal kapak endokarditi ve peritoneal diyaliz kateter enfeksiyonları

dışında *S. epidermidis* enfeksiyonlarının büyük kısmı hastane kökenli iken *S. saprophyticus* enfeksiyonları ise genellikle toplum kaynaklıdır (22).

Laboratuvar Tanısı

Gram Boyama

Stafilokoklar, klinik örneklerin direkt Gram boyamasında 0,5-1,5 µm çapında, gram pozitif veya gram-değişken koklar şeklinde görülürler (10, 14). Stafilokoklar besiyerinden hazırlanan preparatta, küme-üzüm salkımı yapmış gram pozitif koklar şeklinde görülür (10, 18).

Kültür

Klinik örnekler koyun kanlı agara ekilir (10, 14, 18). Kontamine örneklerdeki organizmanın izolasyonu için örnekler, Columbia-Kolistin-Nalidiksik-asit besiyeri (CNA) veya Feniletal Alkol Agar (PEA) gibi gram negatif bakterilerin üremesini inhibe eden besiyerlerine ekilmelidir (14). Ayrıca *S.aureus*'un selektif izolasyonu isteniyorsa %7,5 sodyum klorid içeren agarlı besiyeri de kullanılabilir (18).

Koloni Morfolojisi

Stafilokok kolonileri genellikle düz, yağlı görünümde ve hafif tümsek olmakla birlikte, bazı *S.aureus* kolonileri nemli veya yapışkan olabilirler. Bazı suşlar sarı veya sarı-turuncu pigmentliyen, bazıları da beyaz ya da gri pigmentlidir. Pigment üretimi hem *S.aureus* hem de KNS'lerde genellikle inkübasyon sonrası oda ısısında 2-3 günde daha belirgin hale gelir (8, 10, 14).

S. aureus'un tür düzeyindeki identifikasyonu için koagülaz varlığı, mannitol fermantasyonu, termostabilnükleaz ve deoksiribonükleaz testleri yapılır. Buna karşın koagülaz negatif stafilokokların identifikasyonu daha komplekstir ve ticari tanımlama sistemlerini gerektirir (7).

Seroloji

S.aureus'un bir çok antijeni mevcuttur. Ancak serolojik çalışmalarda hangisinin daha kullanılabilir olduğu günümüzde hala tartışmalıdır. Lateks aglutinasyon kitleri, üremiş koloniden *S. aureus* ve MRSA tanısını dakikalar içinde koyabilmektedir. Ancak altın standart, sırasıyla oksasilin tuz agarı tarama testi ya da polimeraz zincir reaksiyon (PZR) ile *mecA* geni varlığının gösterilmesi olduğu için, lateks test sonuçları ön tanı olarak kabul edilmeli ve mutlaka doğrulanmalıdır (26).

Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemlerle *S. aureus* ile diğer koagülaz negatif stafilkokları ayırmaya ve metisilin direncini saptamaya yönelik klasik PZR yöntemleri bulunmaktadır. Örneğin; klinik örneklerde, *S.aureus* tanısını koymak üzere *nuc* geni ve MRSA tanısına yönelik *mecA* genini saptayan ticari ve laboratuvarında geliştirilen moleküler yöntemler bulunmaktadır (27). Ayrıca bu patojen mikroorganizmanın önemli virulans faktörlerini kodlayan genleri (Panton Valentine Lökositidin: lukS, lukF genleri gibi) saptamaya yönelik kitler de mevcuttur (28).

Diğer Yöntemler

Sayılan bu yöntemler dışında günümüzde, kromojenik besiyerleri, otomatize, yarı otomatize sistemler de *S. aureus* tanısında kullanılmaktadır. Hızlı sistemlerle ön tanı konulabilir ve klinisyen daha erken uyarılabilir. Ancak kesin tanı için mutlaka konvansiyonel yöntemler de çalışılmalı ve bunların sonuçları da klinisyene iletilmelidir (26). Hayvan inokulasyonunun ise tanıda yeri yoktur (8).

Tedavi

Antibiyotiklere çabuk direnç geliştirdiklerinden, uygun antibiyotiğin seçimi için, antibiyotik duyarlılık testinin yapılması gereklidir. Penisilin G, 1940'lı yılların başlarında stafilkok enfeksiyonlarında başarı ile kullanılmıştır. Ancak bu yılların sonunda, penisilin G'ye dirençli suşlar, özellikle hastane enfeksiyonlarından izole edilmeye başlanmıştır. Metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının çoğu, başta diğer betalaktam antibiyotikler olmak üzere, aminoglikozitlere ve tetrasikline de dirençli olmaktadır (8).

Vankomisin, metisiline dirençli stafilkokal enfeksiyonların tedavisi için, seçilecek antibiyotiktir (8). Son yıllarda glikopeptidlere duyarlılığı azalmış VISA (vankomisin orta duyarlı *S. aureus*) olarak adlandırılan *S. aureus* suşları saptanmaya başlanmıştır. Bundan dolayı vankomisinin *S. aureus* enfeksiyonlarında dikkatli kullanımı gereklidir (18). İlk vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) 2002 yılında ABD'den bildirilmiştir (3).

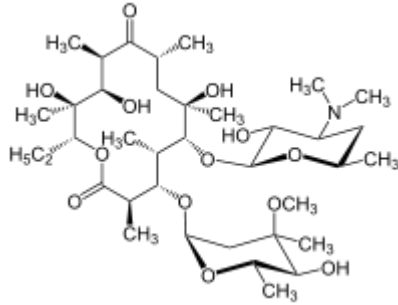
S. aureus kökenlerinde, yoğun olarak görülen betalaktam direnci nedeniyle bu antibiyotiklere alternatif tedavi seçenekleri arayışına başlanmıştır. Makrolid grubu antibiyotikler, solunum sistemi ile deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının rutin tedavisinde sıklıkla tercih edilen antibiyotik grubudur (22).

MAKROLİDLER

İlk olarak 1952 yılında *Streptomyces erythraeus*'tan elde edilen eritromisinle gündeme gelen makrolid grubu antibiyotikler, son yıllarda geniş etkinliği, yüksek serum ve doku düzeyleri yanında düşük yan etki profili bulunan yeni üyeleriyle önemli bir antibiyotik grubu olarak karşımıza çıkmaktadır. Makrolid grubu antibiyotikler benzer kimyasal yapı, antimikrobiyal etkinlik ve direnç mekanizmalarına sahip olmalarından dolayı homojen bir antibiyotik grubudur (29).

Yapısı

Makrolidlerin ana yapısı makrosiklik lakton halkası ile buna eklenmiş desosamin ve kladinoz adı verilen şekerlerden oluşmaktadır. Lakton halkası biri oksijen diğerleri karbon olmak üzere 12, 14 veya 16 atomdan oluşur. Makrolid grubu antibiyotiklerin atom sayılarına göre sınıflandırılması Tablo 1'de gösterilmiştir. Lakton halkası üzerinde hidroksil, alkil, keton ve aldehid grupları bulunur. Eritromisinde lakton halkası 14 atomludur (Şekil 1), (29-31).



Şekil 1: Eritromisinin kimyasal yapısı

İlk olarak izole edilen ve düşük pH düzeylerinde etkinliği azalan eritromisinin bu dezavantajını gidermek amacıyla yeni makrolidler geliştirilmiştir. Klaritromisin, azitromisin, roksitromisin, diritromisin gibi yeni makrolidler artmış farmakokinetik etkinlikleri yanında, aside dayanıklı olmaları, yüksek etkinlikleri ve düşük yan etkileri nedeniyle önemli birer tercih haline gelmiştir. Makrolidler lakton halkasındaki atomların sayısına göre gruplandırılır (29).

Tablo 1: Makrolidler

Oniki üyeli	Ondört üyeli	Onbeş üyeli	Onaltı üyeli
Metilmisin	Eritromisin	Azitromisin	Spiramisin
Semi – sentetik deriveler			
Klaritromisin Diritromisin Fluritromisin Roksitromisin			

Etki Mekanizması

Makrolidler bakteriyel protein sentezini geri dönüşümlü olarak inhibe eden bakteriyostatik özellikte bir antibiyotik grubudur (29). Yüksek ilaç konsantrasyonlarında ve çok az miktarda bakteri inokulumuna karşı bakterisidal etki gösterebilirler. Bakteri ribozomlarının 50S alt ünitesinin 23S rRNA birimine bağlanıp peptidil-tRNA translokasyonunu engelleyerek peptid zincirinin uzamasını durdururlar (30). Hücre ve dokularda yüksek düzeye ulaşırlar. Hücre içi yarılanma süreleri uzundur. Özellikle yeni makrolidlerin postantibiyotik etkinlik göstermeleri günde tek doz kullanılmalarına olanak sağlar. Bu etkinlik hücre içi çoğalan mikroorganizmalara karşı aktivitelerinin daha da artmasına yol açmaktadır (29).

Antimikrobiyal Aktivitesi

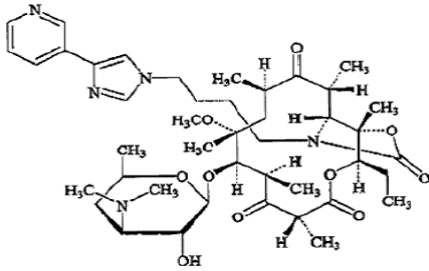
Makrolidler nispeten geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Birçok gram pozitif mikroorganizma yanında bazı gram negatiflere, mikoplazma, klamidya, treponema ve riketsiyalara da etkilidirler (30). *Enterobacteriaceae* familyası ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili değildir çünkü hücre duvarlarının hidrofobik bileşikleri geçirmemesi nedeniyle MLS_B grubu antibiyotiklere doğal olarak dirençlidirler (29). Eritromisin, metisilin duyarlı stafilokoklara ve streptokoklara karşı oldukça etkilidir. Makrolidler streptokoklara bakterisid etki gösterirken stafilokoklara ve enterokoklara bakteriyostatik etkinlik gösterir. Eritromisine dirençli türler diğer makrolidlere de çapraz direnç gösterir. Metisilin dirençli stafilokoklar ve birçok enterokok türleri genellikle tüm makrolidlere dirençlidir. *Corynebacterium* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Actinomyces israeli*'de makrolid grubu antibiyotiklere duyarlıdır.

Makrolidler gram negatif mikroorganizmalardan *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter* spp., *Helicobacter pylori*, *Pasteurella multocida* ve *Neisseria meningitidis*'e karşı etkilidir. Azitromisinin gram negatif etkinliği diğer makrolidlerden daha fazladır. Cinsel yolla bulaşan mikroorganizmalardan *N. gonorrhoeae*, *H. ducreyi*, *Chlamydia trachomatis* ve *Ureaplasma urealyticum* tüm makrolidlere duyarlı iken *Mycoplasma hominis* yalnızca azitromisine duyarlıdır (30). Atipik pnömoni etkenlerinden *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae* ve *Mycoplasma pneumoniae*'ya karşı en etkili makrolid klaritromisindir (29). Spiramisin *Toxoplasma gondii* tedavisinde kullanılan en etkili makroliddir (30).

KETOLİDLER (TELİTROMİSİN)

Yapısı

Ketolidler eritromisin A'nın semisentetik deriveleri olup eritronolid A halkasının 3. pozisyonunda L-kladinoz yerinde keton grubuna sahiptirler. Kimyasal yapıdaki bu modifikasyon sonucunda, asit sıvılara dayanıklılık artar, MLS_B direnci indüklenemez, gram pozitif koklara etkinlik artar. Ketolidler makrolid çekirdeğinde 11 ve 12. karbon atomları arasında eklenmiş karbamat bağına da sahiptir (Şekil 2) (30).



Şekil 2: Telitromisin kimyasal yapısı

Etki mekanizması

Ribozomun peptidil transferaz bölgesine yakın bir yerindeki 50S alt ünitesine bağlanarak RNA ve ribozomal proteinlerle sıkı bir bağ oluştururlar ve protein sentezinin translasyon elongasyon basamağı inhibe olur. Ayrıca peptidil-tRNA'nın dissosiyasyonunu hızlandırırlar. Bir makrolid türevi olmalarına karşın makrolid dirençli bakterilere etkili olmalarının sebebi metillenmiş ribozoma yüksek afinitelerinin olması, ribozomda ek bağlanma bölgelerinin bulunması ve MLS_B

direncini indükleme kapasitelerinin olmamasıdır. Ketolidlerin ayrıca immünomodulan etkileri de vardır (3).

Ketolidler MLS_B direncini indüklememelerine rağmen erm geni ile kodlanmış MLS_B direncini ekspresse eden stafilokoklar telitromisine dirençlidirler (30). Direnç ya bakterilerin sentezlediği K-peptide bağlı olarak ya da 23S rRNA'daki 'hairpin' den gelişen U754A mutasyonu sonucu gelişebilir (3, 29).

Antimikrobiyal Aktivitesi

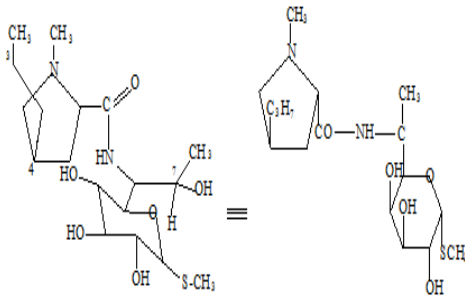
Ketolidlerin intrasellüler bakteriler dahil solunum sistemi patojenlerine karşı güçlü aktivite sergilerler. Penisilin duyarlılığına bakılmaksızın *S. pneumoniae* izolatlarına makrolidlerden daha etkilidir. Telitromisin, penisilin G'ye duyarlılığına bakılmaksızın viridans grup streptokoklar ve beta hemolitik streptokoklara invitro olarak etkili olup tüm izolatları $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ 'de inhibe eder (30). *Corynebacterium*, *Listeria*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* ve *Erysipelothrix* gibi gram pozitif basillere $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda inhibe etme gücü ile çok etkilidir. *Fusabacterium* türleri ve *Bacteriodes fragilis* gruba etkili değildir. *Legionella*, *Mycoplasma*, *Chlamydia* ve *Chlamydophila* gibi intrasellüler patojenlerin MİK₉₀ değerlerinin 0,004-0,25 $\mu\text{g/ml}$ arasında bulunması ile telitromisine çok duyarlıdır (30).

LİNKOZAMİDLER

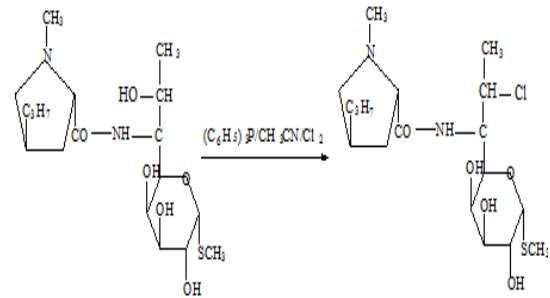
Klinik kullanıma ilk giren linkozamid olan linkomisin, 1962 yılında *Streptomyces lincolnensis*'ten elde edilmiştir. Klindamisin linkomisinin kimyasal olarak modifiye edilmiş yarı sentetik bir türevidir (30, 32). Yaklaşık 30 yıldır kullanımda olan linkozamidlerin bu iki üyesi halen potent ve oldukça yararlı antibiyotiklerdir. Bu grup antibiyotiklerin antibakteriyel etkinliği gram-pozitif mikroorganizmalar ve anaerob mikroorganizmalarla sınırlıdır. Temel terapötik endikasyonları arasında penisilin alerjisi olan kişilerin penisiline duyarlı enfeksiyonları ile özellikle kemik ve eklemlerdeki stafilokok enfeksiyonları gelir (32). Klindamisin bağırsaktan kolay absorbe edilmesi, antibakteriyel etkinliğinin daha güçlü ve daha az toksik olması nedeniyle linkomisine göre üstünlük gösterir. Bu sebeple son yıllarda klindamisin hemen hemen linkomisinin yerine geçmiştir (31, 32).

Yapısı

Linkomisin kimyaca, 8 karbonlu sülfür içeren oktoz şeker molekülüne yapışik modifiye edilmiş prolin aminoasitinden oluşan bir amiddir (Şekil 3). Klindamisin ise linkomisin molekülünde 7. karbondaki hidroksil grubu yerine klor atomunun sokulmasıyla elde edilen yarı sentetik bir antibiyotiktir (Şekil 4). Yapılarındaki bu değışiklik farmakokinetik ve farmakolojik özelliklerinde belirgin farklılığa neden olur. Klindamisin suda ve etanolde çözünür. Sudaki solüsyonları pH 3.5'te oldukça dayanıklıdır. Klindamisin hidroklorid nötral pH'da zayıf çözünür ve aşırı irritan olduğundan parenteral kullanılmaz. Klindamisin fosfat parenteral kullanıma uygundur ve enjektabl klindamisinin bileşiminde bulunur. İn vitro koşullarda inaktif olan klindamisin fosfat vücutta hidrolize edilip serbest klindamisine dönüşerek etkinlik kazanır (31, 32).



Şekil 3: Linkomisin kimyasal yapısı



Şekil 4: Klindamisin kimyasal yapısı

Etki Mekanizması

Linkozamidlerin antimikrobiyal etki mekanizmaları makrolid grubu antibiyotiklere benzer fakat tamamen aynı değildir. Linkozamidler bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanmak suretiyle peptidiltransferaz reaksiyonunu inhibe ederek protein sentezini önler (31, 32). Linkozamidlerin ribozomların 50S alt birimine bağlanma bölgeleri makrolid ve kloramfenikolün bağlanma bölgesinin çok yakınında veya onunla örtüşür durumdadır. Bu nedenle linkozamidler, kloramfenikol ve makrolidler 50S ribozomal bağlanma bölgesi için yarışıp birbirlerinin antibakteriyel etkinliklerini bloke ettiklerinden birlikte kullanılmaları tavsiye edilmez. Linkozamidler kullanılan doza, mikroorganizmanın türüne ve üreme özelliklerine göre bakteriyostatik veya bakterisid etki gösterir (30, 31).

S. pneumoniae, *S. aureus* ve *S. pyogenes*'e karşı bakterisidal etkilidirler. Klindamisin bakterilerin toksin üretimini inhibe ettiği ve tümör nekroz faktör- α 'nın salınımını artırdığı ve stafilokok ile streptokok suşlarının opsonizasyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Deneysel çalışmaların bulguları göz önünde bulundurulduğunda ağır seyirli streptokok enfeksiyonlarının tedavisinde penisilinle birlikte klindamisin önerilmektedir (32).

Antimikrobiyal Aktivitesi

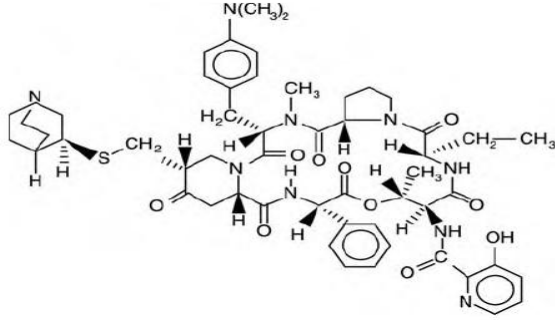
Linkozamidler aerobik ve anaerobik gram pozitif bakteri türlerinin çoğuna ve bazı gram negatif anaerob mikroorganizmalara karşı etkili olan dar spektrumlu antibiyotiklerdir. *Neisseria*, *Enterobacteriaceae*, enterokok grubu bakterilere ve *H. influenza*'ya karşı etkili değildirler. *Peptostreptococcus* türleri ve *Peptococcus niger* gibi gram pozitif anaerob koklar, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Eubacterium* gibi gram pozitif spor oluşturmeyen anaerob basiller, *Clostridium* türleri ve *Bacteroides*, *Prevotella*, *Prophyromonas* ve *Fusobacterium* türlerini içeren gram negatif anaerob basiller klindamisin etkili olduğu anaerob bakterilerdir (31, 32). Klindamisin A, B, C ve D grubu piyojen streptokoklara, pnömokoklara, viridans streptokoklara ve metisiline duyarlı *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı etkilidir. Metisiline dirençli stafilokoklar ile hastane kökenli stafilokoklar için %12-34'lük direnç bildirilmektedir. Bu nedenle stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde klindamisin kullanılacaksa mutlaka duyarlılık testleri yapılmalıdır. Klindamisin aynı zamanda *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*, *B. cereus* ve *Nocardia spp.*'ye karşı da etkilidir (30, 32).

STREPTOGRAMİNLER (KİNOPRİSTİN/DALFOPRİSTİN)

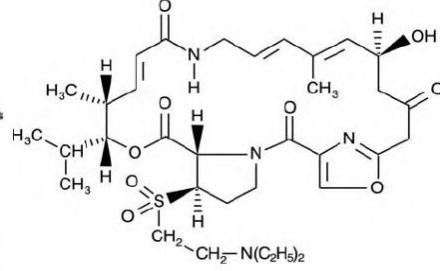
Yapısı

Streptomyces pristinaspiralis'ten doğal olarak sentezlenen büyük bir siklik peptit grubudur. Klinik kullanımdaki preparatlar pristinamisin, virjinamisin, kinopristin/dalfopristin (Q/D) 'dir. Streptograminlerin yapısal olarak iki grup molekülden oluşmaları (Grup A ve B) nedeniyle diğer antibiyotikler arasında özel bir yere sahiptirler. Bu iki grup yapısal olarak birbirleriyle ilişkisizdir. Grup A streptograminler oksazol halkası ile bağlanmış lakton ve laktamlardan meydana gelmiş poliansatüre makro laktonlardır (30). Semisentetik ürünlerden olan kinopristin (Şekil 5) pristinamisin 1A'dan, dalfopristin (Şekil 6) ise pristinamisin

2B'den elde edilmiştir. Sinerjid adı altında sabit bir konsantrasyonda %30 kinopristin - %70 dalfopristin şeklinde kullanımda bulunmaktadır (3).



Şekil 5: Kinopristin kimyasal yapısı



Şekil 6: Dalfopristin kimyasal yapısı

Etki Mekanizması

Streptograminler duyarlı organizmalardaki bakteriyel protein sentezini inhibe ederek sinerjistik bakterisidal etkilidirler. Bakteriyel hücrelere pasif difüzyon yoluyla girerler ve 70S bakteriyel ribozomunun 50S subunitine spesifik ve irreversibl olarak bağlanırlar. Grup A streptograminler zincir elongasyon basamağında peptid bağı formasyonunu engellerken, grup B komponenti 50S ribozomal subunitten inkomplet peptid zincirlerinin salınımına neden olur. Streptograminlere bakteriyel direnç kromozomal veya plazmid ilişkili olabilir. Başlıca bakteriyel 23S RNA'da metilasyonla ilacın hedefi modifiye edilir, sonuçta tüm makrolidlere, linkozamidlere ve grup B streptograminlere direnç gelişir, fakat grup A streptograminlere direnç gelişmez (30).

Antimikrobiyal Aktivitesi

Streptograminler esas olarak gram pozitif bakterilere etkilidir. Kinopristin-dalfopristin metisilin duyarlı ve dirençli *S. aureus*, koagülaz negatif stafilkoklar ve streptokoklara MİK₉₀ değeri ≤1µg/ml ile güçlü bakterisidal etkilidir. *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* ve *Legionella pneumophila* bu ilaca duyarlıdır. *C. perfringens*, *C. difficile*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *P. acnes*, *Lactobacillus* ve peptostreptokok gibi anaerobik bakterilere de etkilidir (30).

MAKROLİD, LİNKOZAMİD VE STREPTOGRAMİNLERE KARŞI DİRENÇ MEKANİZMALARI

Stafilokoklarda MLS_B antibiyotiklerine karşı direnç gelişiminde 23S rRNA'nın metilasyonu ile hedef bölge değişikliği, aktif pompa sistemiyle antibiyotiklerin dışarı atılması ve enzimatik olarak antibiyotiklerin direkt inaktivasyonu olmak üzere üç farklı direnç mekanizması tanımlanmıştır (33-35).

Hedef Bölge Değişikliği

MLS_B grubu antibiyotiklerde en sık görülen ve en önemli direnç mekanizmasıdır. 23S rRNA'nın sekonder yapısı incelendiğinde altı 'domain' görülür. 'Domain 5' MLS_B direncinde önemlidir. 23S rRNA'daki hedef bölge değişikliği iki yolla olmaktadır. Birincisi, streptokoklar ve stafilokoklarda en yaygın görülen mekanizma olan eritromisin ribozomal metilaz (*erm*) proteinleri ile, 23S rRNA'daki 'domain 5' in posttranskripsiyonel modifikasyonu; ikincisi ise streptokoklarda görülmeye başlanan 'domain 5' te mutasyona bağlı değişikliklerdir (3, 4).

Ribozomal metilasyon; MLS_B grubu antibiyotiklerin ribozoma bağlanmasında esas rol alan bölge 'domain 5' teki A 2058 rezidüsüdür. Bu bölgenin metilasyonu sonucu hedefe bağlanma bozulmaktadır (4, 36).

Son otuz yılı aşkın bir süredir gram negatif bakterilerden *E.coli*, *H. İnfluenza* ve gram pozitif bakterilerden *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium spp.*, stafilokok bakteri grubunda farklı *erm* genleri izole edilmiştir. Bu bakteri gruplarından başka gram pozitif ve gram negatif anaerob bakterilerde, spiroketlerden *Borelia burgdorferi* ve *Treponema denticola*'da *erm* genlerinin varlığı bildirilmiştir. Tüm *erm* genleri aynı adenin residüsünün metilasyonuna neden olan enzimleri kodlayarak MLS_B fenotipindeki direncin oluşumuna yol açar (36, 37).

Son zamanlarda yapılan yeni sistematik bir sınıflandırmada 21 farklı sınıf *erm* geni ve *erm* proteini tanımlanmıştır. Patojen bakterilerde görülen dört önemli gen sınıfı; *ermA*, *ermB*, *ermC* ve *ermF*'dir. *ermA* ve *ermC* genleri stafilokoklarda yaygınken, *ermF* geni *Bacteroides* türleri ve anaeroplarda yaygındır. Streptokoklar ve enterekoklarda ise *ermB* geni yaygın olarak bulunur (3, 36). Stafilokoklarda *ermA*, *ermB* ve *ermC* olmak üzere üç farklı *erm* geni tanımlanmıştır (36, 38-41). Patojen bakterilerdeki direnç genleri plazmidler ya da transpozonlarla

yayılmaktadır (42). *ermA* geni ilk olarak Winsconson'da izole edilen *S.aureus* 1206 geninde saptanmıştır. Tn554 transpozonunda bulunan gen *S.aureus* kromozomundaki tek bir spesifik bölgeye girme eğilimindedir (primer insersiyon alanı). Eritromisin direncini kodlayan genlerden biri olan *ermA* genini içeren Tn554 transpozonu, tobramisin direncinden sorumlu olan pub110 plazmidini içeren IS431 insersiyon dizisi ile birlikte stafilokokal genomun mec bölgesinde yer almaktadır (42). *ermB* geni, 28 kb'lık bir penisilinaz plazmidi olan pl2582'in bir parçası olarak Tn551 transpozonunda bulunur. *ermC* geni ise 3,7-kb'lık bir plazmid olan pE194'te bulunmuştur (42).

MLS_B tipi dirençte önemli rolü olan *erm* geninin ekspresyonu yapısal (konstitütif) veya indüklenebilir olmak üzere iki şekilde olmaktadır. Yapısal dirençte metilaz mRNA aktif olarak üretilmekte ve yapısal dirence sahip olan suşlar, 14, 15, 16 üyeli tüm makrolidlere, linkozamidlere, ketolidlere ve streptogramin B'ye dirençlidir. iMLS_B direncine sahip bakteri ise metilaz kodlama yeteneğini kaybetmiş inaktif mRNA üretir. Bu mRNA ancak indükleyici makrolidlerin varlığında aktifleşir. İndüklenebilir *erm* geni taşıyan suşlar indükleyici olan 14 ve 15 üyeli olan makrolidlere dirençli iken indükleyici olmayan 16 üyeli makrolidlere, streptogramin B, linkozamid ve ketolidlere ise duyarlıdır. *erm* genlerinin yapısına bağlı olarak indüklenebilir direnç farklı fenotiplerle karşımıza çıkarken, yapısal direnç MLS_B grubu antibiyotiklere yüksek düzey çapraz dirençle karakterize direnç fenotipi göstermektedir (3, 4, 43).

Mutasyon; 23S rRNA'da 'domain 5''te görülen mutasyonlar (delesyon, duplikasyon ve diğer mutasyonlar) nadir görülmekle birlikte önemlidir. Metilaz genlerinin yapısal ekspresyonuna yol açar. A2058'deki mutasyon MLS_B direncine sebep olurken A2059 mutasyonundan sadece makrolid ve linkozamidler etkilenmektedir. Bakterilerde rRNA'yı kodlayan bir ya da birkaç *rrn* operonu vardır. Genellikle bu mutasyonlar iki *rrn* kopyalı bakterilerde görülmektedir (3, 4, 36).

Aktif Pompa Sistemi (Eflüks sistem)

Gram pozitif koklarda makrolidler ve streptogramin B'ye karşı direncin gelişmesine yol açan farklı pompa sistemleri bulunmuştur. ATP bağımlı bu pompa proteinlerinin sentezinden *msrA/B* (metionin sülfoksit redüktaz), *mef* (makrolid

efluks) ve *vga* genleri sorumludur (3, 6, 44). Bakterilerde görülen efluks tipleri ve etkilenen antibiyotikler Tablo 2’de gösterilmiştir.

Stafilokoklarda *msrA*, *msrB* geni tarafından kodlanan enerji bağımlı efluks pompası, hücre içine giren makrolid ve streptogramin B’yi dışarı atarak bu antibiyotiklere karşı dirence yol açarken linkozamidlere karşı dirençte rol oynamaz (6, 33). *msrA* geni ilk olarak *S. epidermidis*’te tanımlanmıştır ve pUL 5050 plazmidi üzerinde yer alır. *msrA* geni tarafından kodlanan ve ABC süper ailesine ait *msrA* proteinin homologu *S. aureus*’un klinik izolatlarında da gösterilmiştir (45, 46). *msrB* geni *S. xyloso*’ta tanımlanmıştır (45). Plazmidde kodlanan *msrA* geni bakteride 14, 15 üyeli küçük makrolidlere ve streptogramin B’ye indüklenebilir (MS fenotipli direnç) dirence yol açan protein pompasını kodlar (47).

Tablo 2: Bakterilerde görülen efluks tipleri ve bunlardan etkilenen antibiyotikler

Efluks tipi	Bakteriler	Etkilenen antibiyotikler
M-tipi efluks	<i>Streptokoklar</i>	14 ve 15 üyeli makrolidler
L-tipi efluks	<i>Streptomyces</i> türleri	Linkozamidler
S-tipi efluks	<i>S. aureus</i>	Streptogramin A
MS-tipi efluks	<i>S. epidermidis</i>	14 üyeli makrolidler ve streptogramin B
Aktinomiçet tipi	<i>Streptomyces</i> türleri	16 üyeli makrolidler
MDR tipi	Gram negatifler	Geniş antibiyotik spektrumu

Enzimatik İnaktivasyon

Antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu yoluyla oluşan direnç, sadece yapısal olarak ana antibiyotiğe benzeyen antibiyotiklere karşı dirence sebep olur (3, 36).

S. haemolyticus’ta *linA* ve *S. aureus*’ta *linA*’ geni tarafından kodlanan nükleotidil transferaz enzimi ile linkomisininin üçüncü pozisyonundaki, klindamisininin dördüncü pozisyonundaki hidroksil grubuna ATP, GTP, CTP veya UTP’den Mg⁺² varlığında nükleotid grubunun eklenmesiyle linkozamidlere yüksek düzeyde direnç gelişir. Bu yolla makrolid ve streptograminlere karşı direnç gelişmez. *linA* ve *linA*’

genlerinin büyük oranda homolog olduğu gösterilmiştir. *S. aureus*'ta *linA*' geni pIP856 plazmidi üzerinde bulunmaktadır (3).

Stafilokoklarda streptogramin antibiyotiklerini enzimatik yolla inaktive eden üç gen tanımlanmıştır. *vat* (virginamisin faktör A asetiltransferaz) ve *vatB* geni tarafından kodlanan asetiltransferaz enzimi yalnızca streptogramin A ve türevi antibiyotikleri inaktive ederken *vgb* (virginamisin faktör b) geni tarafından kodlanan laktonaz enzimi streptogramin B'yi inaktive eder. Her üç gen de plazmid üzerinde yer alır (48).

S.aureus'ta, *ereA* ve *ereB* (eritromisin esterifikasyon) genleriyle kodlanan laktonaz enzimiyle makrolid halkasının esteratik kesilmesi sadece eritromisin direncine neden olur (3, 36).

MAKROLİD DİRENCİ SAPTAMA YÖNTEMLERİ

cMLS_B direnç fenotipi standart duyarlılık yöntemleri ile belirlenebilir ancak iMLS_B direnci belirlenemez. Stafilokoklarda indüklenebilir klindamisin direnci, eritromisin ve klindamisin diskleri kullanılarak CLSI önerileri doğrultusunda çift disk sinerji testi (D-Test) ile belirlenir (49). Her iki antibiyotiğe birden duyarlı bulunan izolatlar S fenotipi olarak, her iki antibiyotiğe birden dirençli bulunan izolatlar yapısal MLS_B fenotipi (cMLS_B) olarak, klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diskinin bakan tarafında küntleşme (D zonu) görülen izolatlar indüklenebilir MLS_B fenotipi (iMLS_B) olarak, eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı olan izolatlar ise MS fenotipi olarak kabul edilir (3). D- testi uygulaması ve değerlendirilmesi kolay, ucuz bir yöntem olmasına rağmen altın standart yöntem PZR ile direnç genlerinin gösterilmesidir (37).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteri kökenlerinin seçimi

Ocak 2011-Ocak 2012 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi (PAÜ) Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 404 *S.aureus* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı hastadan alınan birden fazla örnekte üreyen izolatlar çalışma dışı bırakılmıştır. Laboratuvara gelen klinik örnekler rutin olarak kullanılan %5 koyun kanlı agar ve EMB (Eosine-Methylen Blue) agara ekilmiştir. 37°C’de, 18-24 saatlik inkübasyondan sonra kanlı agarda üreyen koloniler, konvansiyonel yöntemler temel alınarak koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz ve koagülaz deneylerinin sonucuna göre *S. aureus* olarak tanımlanmıştır (10, 14). Çalışmanın diğer aşamaları için, kullanılacak suşlar saf olarak %15 gliserol içeren triptik soy buyyon besiyerinde -20°C’de saklanmıştır (10, 49). Daha sonra suşları canlandırmak için %5 koyun kanlı agar, antibiyotik duyarlılık testi için de Mueller Hinton agar ve “Brain-heart infusion broth” (BHI Broth) kullanılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri

Suşların, antibiyotiklere duyarlılıkları, 2011 CLSI kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak saptanmıştır (49). Bakterilerin 18 - 24 saatlik kültürlerinden BHI Broth kullanılarak, 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri suspansiyonları (1.5×10^8 kob/ml), Mueller Hinton agar yüzeyine steril ekuvyonla yayılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları için kullanılan diskler agar üzerine yerleştirilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Antibiyotik diskleri çevresinde oluşan inhibisyon zon genişliğine göre izolatlar duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak gruplandırılmıştır. Tüm testlerde *S. aureus* ATCC 25923 kökeni kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Antibiyotik duyarlılıkları için eritromisin 15 µg (Oxoid), telitromisin 15 µg (Oxoid), klaritromisin 15 µg (Oxoid), azitromisin 15 µg (Oxoid), klindamisin 2 µg (Oxoid), kinopristin- dalfopristin 15 µg (Oxoid), oksasilin 1 µg (Oxoid), penisilin-G 10 ünite (Oxoid), sefoksitin 30 µg (Oxoid), ampisilin-sulbaktam 10/10 µg (Oxoid), vankomisin 30 µg (Oxoid), linezolid 30 µg (Oxoid), tetrasiklin 30 µg (Oxoid), gentamisin 10 µg (Oxoid), kloramfenikol 30 µg (Oxoid), rifampisin 5 µg (Oxoid),

trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) 1.25/23.75 µg (Oxoid), moksifloksasin 5 µg (Oxoid) ve siprofloksasin 5 µg (Oxoid) diskleri kullanılmıştır.

MLS_B direncinin D-test yöntemi ile araştırılması

Makrolid grubu antibiyotiklere direnç fenotipinin belirlenmesi için CLSI önerileri doğrultusunda çift disk sinerji testi (D-Test) yapılmıştır: 0,5 McFarland bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonları (1.5×10^8 kob/ml), Mueller Hinton agara inokule edilmiş ve agar üzerinde merkezden merkeze 15 - 20 mm arayla eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (49). Eritromisin ve klindamisine duyarlı bulunan izolatlar S fenotipi, her iki antibiyotiğe dirençli bulunan izolatlar yapısal MLS_B fenotipi (cMLS_B), klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diskine bakan tarafında küntleşme (D zonu) görülen izolatlar indüklenebilir MLS_B fenotipi (iMLS_B), eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı olan izolatlar ise MS fenotipi olarak kabul edilmiştir (49).

MLS_B direncinin genotipik olarak araştırılması

Çift disk sinerji testi (D-test) yöntemi ile saptanan, indüklenebilir klindamisin direnci (iMLS_B) pozitif 111 suş, klindamisin ve eritromisin dirençli (cMLS_B) 19 suş, eritromisin dirençli klindamisin duyarlı (MS fenotip) 5 suş ve eritromisin duyarlı klindamisin dirençli 1 suş olmak üzere toplam 136 *S. aureus* suşunda *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* ve *msrB* genlerinin varlığı PZR ile araştırılmıştır. Bakteri DNA’sının elde edilmesinde “G-spin TM for bacteria” (Intron Biotechnology, Inc. Güney Kore), izolasyon kiti kullanılmıştır.

DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

- Bakteri kolonileri buyyon besiyerinde 1 gece inkübe edildi.
- 1 dakika 13000 rpm.’de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- “Pre-buffer” dan 50 µl, lizozim solüsyonundan 6 µl ve proteinaz K’dan 0,6 µl eklendi ve vorteksle karıştırıldı.
- En az 15 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- Hücrelerin lizisini kolaylaştırmak için inkübasyon boyunca 5 dakikada bir tüpler ters çevrilip karıştırıldı.

- “G-buffer” solüsyonundan 250 µl eklendi ve iyice karıştırıldı.
- 15 dakika 65°C’de inkübe edildi.
- İnkübasyon sırasında hücrelerin ölümüne yardım etmek için 5 dakikada bir tüpler ters çevrilip karıştırıldı.
- “Binding buffer” dan 250 µl eklendi; yavaşça vortexleme ile tamamen karıştırıldı.
- Hücre lizatları kolonlara yüklendi ve 1 dakika 13000 rpm’de santrifüj edildi.
- Yıkama için kolona “Washing Buffer A” dan 500 µl eklendi ve 1 dakika 13000 rpm’de santrifüj edildi.
- Solüsyon döküldü, “Washing Buffer B” den 500 µl eklendi ve 1 dakika 13000 rpm.’de santrifüj edildi.
- Solüsyon döküldü ve 1 dakika 13000 rpm.’de santrifüj edildi.
- “G-spin” kolonu 1.5 ml’lik temiz bir santrifüj tüpüne koyuldu ve “Elution Buffer” dan 50-200 µl direkt membranın üstüne eklendi.
- 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi ve sonra 1 dakika 13000 rpm.’de santrifüj edildi.
- Dipteki sıvı kalıp DNA olarak kullanıldı.

Direnç genlerinin saptanması

Suşlarda, makrolid grubu antibiyotiklere karşı dirençte sıklıkla rol alan *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* ve *msrB* genlerinin varlığı PZR ile araştırılmıştır. PZR için kullanılan primerler Tablo 3’te gösterilmiştir. PZR işlemi, termal döngü cihazında (BIO-RAD MyCycler thermal cycler, ABD) kullanılan primerlere uygun reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Lina ve arkadaşlarının kullandığı primer dizilimleri kullanılmıştır (45). Çalışmada kullanılan *ermA* primeri Alfagen, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB* primerleri İnvitrogen firması tarafından sentez edilmiştir. Pozitif kontrol suşları Doç. Dr. Bülent Bozdoğan’dan temin edilmiştir.

Tablo 3: PZR’nda kullanılan özgül primerler (45)

Primer	Dizi (5'-3')	Ürün
<i>ermA</i> F <i>ermA</i> R	GTT CAA GAA CAA TCA ATA CAG AG GGA TCA GGA AAA GGA CAT TTT AC	421 bç
<i>ermC</i> F <i>ermC</i> R	GCT AAT ATT GTT TAA ATC GTC AAT TCC GGA TCA GGA AAA GGA CAT TTT AC	572 bç
<i>ermB</i> F <i>ermB</i> R	CCG TTT ACG AAA TTG GAA CAG GTA AAG GGC GAA TCG AGA CTT GAG TGT GC	359 bç
<i>msrA</i> F <i>msrA</i> R	GGC ACA ATA AGA GTG TTT AAA GG AAG TTA TAT CAT GAA TAG ATT GTC CTG TT	940 bç
<i>msrB</i> F <i>msrB</i> R	TAT GAT ATC CAT AAT AAT TAT CCA ATC AAT TTA TAT CAT GAA TAG ATT GTC CTG TT	595 bç

Kullanılan PZR karışımları ve uygun döngü koşulları;

***ermA* geni varlığı araştırılması:**

PZR karışımı;

10x PZR buffer	5µl
25 mM MgCl	3µl
10 mM dNTP	1µl
1.25 u Taq DNA Polimeraz	0.5µl
Özgül primer 1 (20 pmol)	1µl
Özgül primer 2 (20 pmol)	1µl
Hedef DNA	2µl
Nükleaz free distile su	36.5µl

toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

PZR döngü koşulları;

94 °C' de 10 dakika (ön denatürasyon): 1 döngü	}	30 döngü
94 °C' de 30 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		
52 °C' de 30 saniye (primer bağlanması)		
72 °C' de 1 dakika (primer uzaması)		
72 °C' de 10 dakika (son uzama): 1 döngü		

ermC geni varlığı araştırılması:

PZR karışımı;

10x PZR buffer	5µl
25 mM MgCl	4µl
2 mM dNTP	5µl
1.25 u Taq DNA Polimeraz	0.5µl
Özgül primer 1 (20 pmol)	1µl
Özgül primer 2 (20 pmol)	1µl
Hedef DNA	1µl
Nükleaz free distile su	32.5µl

toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

PZR döngü koşulları;

94 °C' de 10 dakika (ön denatürasyon): 1 döngü	}	35 döngü
94 °C' de 30 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		
52 °C' de 1 dakika (primer bağlanması)		
72 °C' de 1 dakika (primer uzaması)		
72 °C' de 10 dakika (son uzama): 1 döngü		

ermB geni varlığı araştırılması:

PZR karışımı;

10x PZR buffer	5µl
25 mM MgCl	3µl
10 mM dNTP	1µl
1.25 u Taq DNA Polimeraz	0.5µl
Özgül primer 1 (20 pmol)	1µl
Özgül primer 2 (20 pmol)	1µl
Hedef DNA	2 µl

Nükleaz free distile su 36.5µl

toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

PZR döngü koşulları;

94 °C’ de 10 dakika (ön denatürasyon): 1 döngü
94 °C’ de 30 saniye (hedef DNA denatürasyonu)
55 °C’ de 30 saniye (primer bağlanması)
72 °C’ de 1 dakika (primer uzaması)
72 °C’ de 10 dakika (son uzama): 1 döngü

} 30 döngü

msrA ve msrB geni varlığı araştırılması:

PZR karışımı;

10x PZR buffer 5µl
25 mM MgCl 4µl
10 mM dNTP 1µl
1.25 u Taq DNA Polimeraz 0.3µl
Özgül primer 1 (100 pmol) 0.2µl
Özgül primer 2 (100 pmol) 0.2µl
Hedef DNA 2µl
Nükleaz free distile su 37.3µl

toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

PZR döngü koşulları;

94 °C’ de 5 dakika (ön denatürasyon): 1 döngü
94 °C’ de 30 saniye (hedef DNA denatürasyonu)
60.6 °C’ de 40 saniye (primer bağlanması)
72 °C’ de 1 dakika (primer uzaması)
72 °C’ de 10 dakika (son uzama): 1 döngü

} 35 döngü

PZR Ürünlerinin Saptanması

Agaroz jel, agar konsantrasyonu %1 olacak şekilde 10X TBE tamponu ile hazırlanmıştır ve agaroz içeriğine 2.5 µl etidyum bromür eklenmiştir. 10 µl amplifikasyon ürünü ile 2 µl 6X yükleme tamponu karıştırılıp 10 µl alınarak agaroz jele yüklenmiştir ve elektroforez cihazında (BIO-RAD, ABD) 150 voltta 25 dk. yürütülmüştür. Daha sonra “Gel Logic 2200 Imaging System” (Kodak, ABD)

kullanılarak elde edilen DNA bantları görüntülenmiştir ve 100bp “DNA Ladder” ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve görüntüler kaydedilmiştir.

Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) analizi

Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla OLP6 (5'-GAGGGAAGAG-3'), OLP11 (5'-ACGATGAGCC-3'), OLP13 (5'-ACCGCCTGCT-3') primerler kullanılarak RAPD PZR yapılmıştır. RAPD PZR için DNA ekstraksiyonu, direnç genleri için kullanılan yöntemle yapılmıştır.

RAPD PZR için reaksiyon karışımı;

10x PZR buffer	5µl
25 mM MgCl	3µl
10 mM dNTP	1µl
1.25 µl Taq DNA Polimeraz	0.5µl
Özgül primer	1µl
Hedef DNA	2µl
Nükleaz free distile su	12.5µl

toplamda 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

RAPD için PZR döngü koşulları;

94 °C’ de 5 dakika (ön denatürasyon): 1 döngü	} 40 döngü
93 °C’ de 1 dakika (hedef DNA denatürasyonu)	
37 °C’ de 1.5 dakika (primer bağlanması)	
72 °C’ de 1 dakika (primer uzaması)	
72°C’ de 8 dakika (son uzama): 1 döngü	

PZR ürünleri 10X TBE tamponu içinde 2.5 µl etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jelde 150 voltta 25 dk. yürütüldükten sonra “Gel Logic 2200 Imaging System” (Kodak, ABD) kullanılarak görüntülenmiştir. Elde edilen bant paternleri, moleküler büyüklük belirteci standart alınarak Syngene GeneDirectory Application –Version 2.01.02– (İngiltere) kullanılarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS Version 16.0 kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası değişkenleri test etme amacıyla *ki-kare* testi kullanılmıştır. İstatistiksel hata payı 0.05 olarak alınmıştır.

BULGULAR

Ocak 2011–Ocak 2012 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi (PAÜ) Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 404 *S. aureus* izolatu çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı hastadan alınan birden fazla örnekte üreyen izolatlar çalışma dışı bırakılmıştır. Suşların 27 (%6.7)'si poliklinik hastalarına, 377 (%93.3)'si yatan hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Klinik örneklerin 145 (%35.9)'i kadın ve 259 (%64.1)'u erkek hastalara aitti. Suşların % 50.0'ı yara, %14.9'u trakeal aspirat, %8.4'ü ameliyat materyali, %7.2'si balgam, %6.4'ü kan, %5.4'ü idrar, %3.2'si BAL, %2.2'si konjunktiva ve %2.2'si diğer materyallere ait örneklerden izole edilmiştir. Suşların izole edildikleri örneklere göre dağılımları Tablo 4'de gösterilmiştir.

İzole edilen suşların %41.9'u Cerrahi Bölümlere (%17.6'sı Kalp damar cerrahi, %6.4'ü Plastik Cerrahi, %6.2'si Ortopedi, %4.7'si Beyin Cerrahi, %2.5'i Üroloji, %1.5'i Göz, %1.2'si Kadın Hst ve Doğum, %0.7'si Göğüs Cerrahi, %0.7'si Genel Cerrahi ve %0.2'si Kulak burun boğaz), %36.9'u Dahili Bölümlere (%20.3'ü Dermatoloji, %5.9'u Göğüs Hastalıkları, %2.7'si Nefroloji, %2.0'si Endokrin, %1.7'si Hematoloji, %1.2'si Enfeksiyon, %1.2'si Fizik tedavi rehabilitasyon, %0.5'i Romatoloji, %0.5'i Gastroenteroloji, %0.5'i Onkoloji ve %0.2'si Kardiyoloji) , %10.1'i Yoğun Bakım Ünitesi'ne (YBÜ) ve %11.1'i Pediatri Bölümüne (%6.4'ü Çocuk Hastalıkları, %2.0'ı Çocuk Acil, %1.7'si Çocuk Cerrahi ve %1.0'ı Çocuk Yoğun Bakım) aitti. Bu suşların izole edildikleri kliniklere göre dağılımları Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 4: *S. aureus* suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımları

Materyal	Sayı (%)
Yara	202 (50.0)
Trakeal aspirat	60 (14.9)
Ameliyat materyali	34 (8.4)
Balgam	29 (7.2)
Kan	26 (6.4)
İdrar	22 (5.4)
BAL	13 (3.2)
Konjunktiva	9 (2.2)
Diğer	9 (2.2)
Toplam	404 (100.0)

Tablo 5: *S. aureus* suşlarının kliniklere göre dağılımları

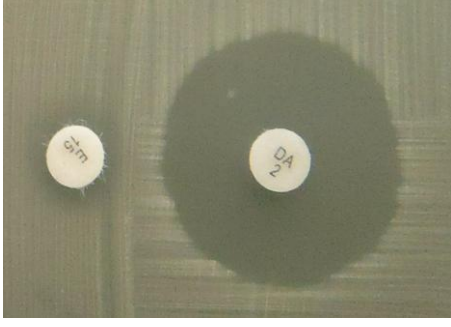
Servis adı	Sayı (%)
Dermatoloji	82 (20.3)
Kalp Damar Cerrahi	71 (17.6)
Anestezi Yoğun Bakım	41 (10.1)
Çocuk Hastalıkları	26 (6.4)
Plastik Cerrahi	26 (6.4)
Ortopedi	25 (6.2)
Göğüs Hastalıkları	24 (5.9)
Beyin Cerrahi	19 (4.7)
Nefroloji	11 (2.7)
Üroloji	10 (2.5)
Endokrin	8 (2.0)
Çocuk Acil	8 (2.0)
Hematoloji	7 (1.7)
Çocuk Cerrahi	7 (1.7)
Göz	6 (1.5)
Enfeksiyon	5 (1.2)
Fizik Tedavi Rehabilitasyon	5 (1.2)
Kadın Hst ve Doğum	5 (1.2)
Çocuk Yoğun Bakım	4 (1.0)
Göğüs Cerrahi	3 (0.7)
Genel Cerrahi	3 (0.7)
Romatoloji	2 (0.5)
Gastroenteroloji	2 (0.5)
Onkoloji	2 (0.5)
Kardiyoloji	1 (0.2)
Kulak Burun Boğaz	1 (0.2)
Toplam	404 (100.0)

***S. aureus* suşlarında MLS_B direncinin fenotipik yöntemle araştırılması**

Çalışmaya dahil edilen suşlarda, indüklenebilir klindamisin direncinin fenotipik olarak saptanması, CLSI kriterlerine uygun olarak, D-test yöntemi ile yapılmıştır. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (49). *S. aureus* suşlarının %66.3'ü S fenotipi, % 27.5'i iMLS_B fenotipi, %4.7'si cMLS_B fenotipi ve %1.2'si MS fenotipi olarak belirlenmiştir. MRSA suşlarının 54'ü (%34.0) S fenotipi, 2'si (%1.3) MS fenotipi, 89'u (%56.3) iMLS_B fenotipi, 12'si (%7.6) cMLS_B fenotipi olarak belirlenirken, MSSA suşlarının 214'ü (%87.0) S fenotipi, 3'ü (%1.2) MS fenotipi, 22'si (%8.9) iMLS_B fenotipi, 7'si (%2.9) cMLS_B fenotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 6). Bir suş D-test ile sınıflandırılmayan direnç paterni göstermiştir. Bu suş eritromisine duyarlı, klindamisine dirençli olduğu tespit edilen 1 MRSA suşudur. D- test ile tespit edilen direnç fenotipleri Şekil 7'de gösterilmiştir. iMLS_B direnci MRSA suşlarında, S fenotipi MSSA suşlarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.05). MRSA ve MSSA suşlarında MS, cMLS_B ve klindamisin dirençli, eritromisin duyarlı direnç fenotipi oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 6: *S. aureus* suşlarında D-test yöntemi kullanılarak belirlenen direnç fenotipleri

Direnç Fenotipi	MRSA N=158		MSSA N=246		Toplam N=404	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
S	54	(34.0)	214	(87.0)	268	(66.3)
MS	2	(1.3)	3	(1.2)	5	(1.2)
iMLS _B	89	(56,3)	22	(8.9)	111	(27.5)
cMLS _B	12	(7.6)	7	(2.9)	19	(4.7)
Klindamisin dirençli, Eritromisin duyarlı	1	(0.6)	0	(0.0)	1	(0.25)



A) D-test negatif (MS fenotip)



B) D-test pozitif (iMLS_B fenotip)



C) S fenotip



D) cMLS_B fenotip

Şekil 7: D- test ile tespit edilen MLS_B direnç fenotipleri (A: Eritromisin dirençli, klindamisin duyarlı D-test negatif MS fenotip, B: Eritromisin dirençli, klindamisin duyarlı D-test pozitif indüklenebilir fenotip, C: Eritromisin ve klindamisin duyarlı S fenotip, D: Eritromisin ve klindamisin dirençli yapısal fenotip)

Suşların antibiyotiklere duyarlılıkları

Suşların antibiyotik duyarlılıkları için eritromisin, telitromisin, klaritromisin, azitromisin, klindamisin, kinopristin-dalfopristin, oksasilin, penisilin-G, sefoksitin, ampisilin-sulbaktam, vankomisin, linezolid, tetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, rifampisin, trimetoprim-sülfametoksazol, moksifloksasin ve siprofloksasin diskleri kullanılmıştır. Metisilin duyarlılığı CLSI önerileri doğrultusunda sefoksitin 30 µg, oksasilin 1 µg diski kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır (49).

S. aureus suşlarının 158 (% 39.1)'i metisiline dirençli (MRSA), 246 (% 60.9) 'sı metisiline duyarlı (MSSA) olarak bulunmuştur. *S. aureus* suşlarının hepsi vankomisin ve linezolid'e duyarlı bulunmuştur. Suşların antibiyotiklere duyarlılıkları değerlendirildiğinde MRSA ve MSSA suşlarında sırasıyla eritromisine %34.8 ve %89.0, klindamisine %89.9 ve %95.5, kinupristin/dalfopristine %99.4 ve %99.6, azitromisine %34.8 ve %90.6, klaritromisine %35.4 ve %89.0, telitromisine %93.0 ve %97.5, gentamisine %22.1 ve %99.6, siprofloksasine %15.1 ve %95.5, SXT'ye %97.5 ve %100, penisiline %0.0 ve %21.1, tetrasikline %16.5 ve %94.7, kloramfenikole %97.5 ve %100, rifampisine %17.7 ve %99.2, moksifloksasine %22.1 ve %96.7 oranında duyarlı olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınan suşların antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 7'de gösterilmiştir. MRSA ve MSSA suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları karşılaştırıldığında MSSA suşları MRSA suşlarına göre azitromisine, klaritromisine, tetrasikline, rifampisine, siprofloksasine, moksifloksasine ve gentamisine daha duyarlı olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmaya alınan suşların antibiyotiklere direnç profilleri yapısal MLS_B , indüklenebilir MLS_B , MS ve S fenotipleri ile ayrı ayrı karşılaştırılmıştır (Tablo 8). Kinupristin/dalfopristin sadece yapısal MLS_B fenotipi gösteren 2 suşta dirençli bulunmuştur. Telitromisin yapısal MLS_B fenotipi gösteren 19 suşun 16'sında dirençli bulunmuştur. Yapısal MLS_B , indüklenebilir MLS_B veya MS fenotipi gösteren suşların S fenotipi gösteren suşlara göre azitromisine, telitromisine, klaritromisine, eritromisine, tetrasikline, rifampisine, siprofloksasine, moksifloksasine ve gentamisine daha dirençli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 7: *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları

Antibiyotikler	MRSA	MSSA	Toplam
	N=158	N=246	N=404
	n (%)	n (%)	n (%)
Penisilin	0 (0.0)	52 (21.1)	52 (12.8)
Sefoksitin	0 (0.0)	246 (100.0)	246 (60.9)
Oksasilin	0 (0.0)	246 (100.0)	246 (60.9)
Azitromisin*	55 (34.8)	223 (90.6)	278 (68.8)
Klaritromisin*	56 (35.4)	219 (89.0)	275 (68.0)
Eritromisin*	55 (34.8)	219 (89.0)	274 (67.8)
Klindamisin	142 (89.9)	235 (95.5)	377 (93.3)
SXT	154 (97.5)	246 (100.0)	400 (99.0)
Linezolid	158 (100.0)	246 (100.0)	404 (100.0)
Telitromisin	147 (93.0)	240 (97.5)	387 (95.8)
Tetrasiklin*	26 (16.5)	233 (94.7)	259 (64.1)
Vankomisin	158 (100)	246 (100.0)	404 (100.0)
Rifampisin*	28 (17.7)	244 (99.2)	272 (67.3)
Kloramfenikol	154 (97.5)	246 (100.0)	400 (99.0)
Siprofloksasin*	24 (15.1)	235 (95.5)	259 (64.1)
Moksifloksasin*	35 (22.1)	238 (96.7)	273 (67.6)
Gentamisin*	35 (22.1)	245 (99.6)	280 (69.3)
Kinupristin/Dalfopristin	157 (99.4)	245 (99.6)	402 (99.5)

*: p<0.05

Tablo 8: *S. aureus* suşlarında yapısal MLS_B, indüklenabilir MLS_B, MS ve S fenotipleri arasındaki antibiyotik direnç profili

Antibiyotikler	S fenotip	cMLS _B	iMLS _B	MS fenotip
	N=268	N=19	N=111	N=5
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Penisilin	222 (82.8)	19 (100.0)	106 (95.5)	4 (80.0)
Sefoksitin	54 (20.1)	12 (63.1)	89 (80.1)	2 (40.0)
Oksasilin	54 (20.1)	12 (63.1)	89 (80.1)	2 (40.0)
Azitromisin*	5 (1.8)	16 (84.2)	83 (74.7)	1 (20.0)
Klaritromisin*	1 (0.3)	19 (100.0)	88 (79.2)	5 (100.0)
Eritromisin*	0 (0.0)	19 (100.0)	104 (93.7)	5 (100.0)
Klindamisin	0 (0.0)	19 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
SXT	1 (0.3)	2 (10.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
Linezolid	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Telitromisin*	0 (0.0)	16 (84.2)	0 (0.0)	0 (0.0)
Tetrasiklin*	40 (14.9)	12 (63.1)	86 (77.5)	2 (40.0)
Vankomisin	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Rifampisin*	31 (11.5)	12 (63.1)	83 (74.7)	2 (40.0)
Kloramfenikol	0 (0.0)	2 (10.5)	1 (0.9)	0 (0.0)
Siprofloksasin*	37 (13.8)	8 (42.1)	85 (76.5)	2 (40.0)
Moksifloksasin*	31 (11.5)	11 (57.9)	84 (75.6)	2 (40.0)
Gentamisin*	32 (11.9)	9 (47.3)	80 (72.0)	2 (40.0)
Kinopristin/Dalfopristin	0 (0.0)	2 (10.5)	0 (0.0)	0 (0.0)

*: p<0.05

MLS_B direncinin moleküler yöntemlerle araştırılması

Toplam 404 *S. aureus* suşundan çift disk sinerji testi (D-test) yöntemi ile saptanan iMLS_B fenotipi gösteren 111 (%27.5), cMLS_B fenotipi gösteren 19 (%4.7), MS fenotipi gösteren 5 (%1.2) ve eritromisin duyarlı, klindamisin dirençli 1 (%0.2) suşda *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* ve *msrB* genleri PZR yöntemiyle araştırılmıştır.

iMLS_B fenotipi gösteren 89 MRSA suşunun 84 (%94.4)'ünde, 22 MSSA suşun 12 (%54.5)'sinde direnç genleri izlenmiştir. MRSA suşlarında MSSA suşlarına göre iMLS_B direnci daha yüksek oranda saptanmıştır (p<0.05).

iMLS_B fenotipi gösteren 83 (%93.2) MRSA ve 8 (%36.3) MSSA suşunda *ermA*, 1 (%1.1) MRSA suşunda *ermB*, 7 (%7.8) MRSA ve 5 (%22.7) MSSA suşunda *ermC*, 11 (%12.3) MRSA ve 1 (%4.5) MSSA suşunda *msrA*, 2 (%2.2) MRSA suşunda *msrB* direnç genleri saptanmıştır. *ermA*, *msrA* ve *msrB* genleri 2 MRSA suşunda birlikte saptanmıştır. *ermA* ve *ermC* genleri 6 MRSA ve 1 MSSA suşunda birlikte saptanmıştır. *ermA* ve *msrA* genleri 9 MRSA ve 1 MSSA suşunda birlikte saptanmıştır. *ermA* ve *ermB* genleri 1 MRSA suşunda birlikte saptanmıştır. iMLS_B fenotipinde izlenen direnç geni ve gen grupları Tablo 9'da gösterilmiştir. iMLS_B fenotipi gösteren *S. aureus* suşlarında en sık *ermA* geni saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

Tablo 9: iMLS_B fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları

Direnç geni	MRSA N=89	MSSA N=22	Toplam N=111
<i>ermA</i> ^{*a}	65(%73.0)	6(%27.2)	71(%63.9)
<i>ermB</i>	0 (0.0)	0(0.0)	0 (0.0)
<i>ermC</i> ^a	1 (%1.1)	4(%18.1)	5 (%4.5)
<i>msrA</i>	0 (0.0)	0(0.0)	0 (0.0)
<i>msrB</i>	0 (0.0)	0(0.0)	0 (0.0)
<i>ermA</i> + <i>ermB</i>	1 (%1.1)	0(0.0)	1 (%0.9)
<i>ermA</i> + <i>ermC</i>	6 (%6.7)	1(%4.5)	7 (%6.3)
<i>ermA</i> + <i>msrA</i> + <i>msrB</i>	2 (%2.2)	0(0.0)	2 (%1.8)
<i>ermA</i> + <i>msrA</i>	9 (%10.1)	1(%4.5)	10 (%9.0)

*: p<0.05

^a: tek başına gen pozitifliği

cMLS_B fenotipi gösteren 12 MRSA suşun 11'inde, 7 MSSA suşun 1'inde direnç genleri izlenmiştir. cMLS_B fenotipi gösteren 10 (%83.3) MRSA ve 1 (%14.2) MSSA suşunda *ermA*, 3 (%25.0) MRSA suşunda *ermB*, 6 (%50.0) MRSA ve 1 (%14.2) MSSA suşunda *ermC* genleri saptanmıştır. *msrA* ve *msrB* genleri saptanmamıştır. *ermA* ve *ermC* genleri 6 MRSA ve 1 MSSA suşunda birlikte saptanmıştır. *ermA* ve *ermB* genleri 2 MRSA suşunda birlikte saptanmıştır. cMLS_B fenotipinde izlenen direnç geni veya gen grupları Tablo 10'da gösterilmiştir. cMLS_B fenotipi gösteren MRSA suşlarında en sık *ermA* geni saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

Tablo 10: cMLS_B fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları

Direnç geni	MRSA N=12	MSSA N=7	Toplam N=19
<i>ermA</i> ^a	2(%16.6)	0(0.0)	2(%10.5)
<i>ermB</i> ^a	1(%8.3)	0(0.0)	1(%5.2)
<i>ermC</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>msrA</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>msrB</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>ermA</i> + <i>ermB</i>	2(%16.6)	0(0.0)	2(%10.5)
<i>ermA</i> + <i>ermC</i>	6(%50.0)	1(%14.2)	7(%36.8)

^a: tek başına gen pozitifliği

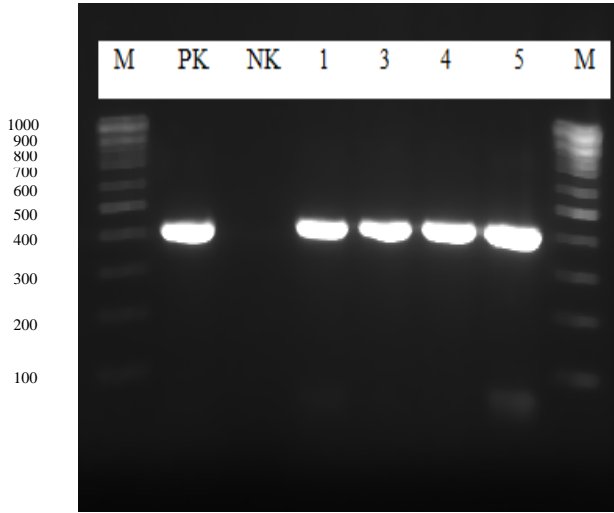
MS fenotipi gösteren 2 MRSA ve 3 MSSA suşunun hepsinde direnç genleri izlenmiştir. MS fenotipi gösteren 2 (%100.0) MRSA ve 2 (%66.6) MSSA suşunda *ermA*, 1 (%33.3) MSSA suşunda *ermC*, 3 (%100.0) MSSA suşunda *msrA*, 2 (%66.6) MSSA suşunda *msrB* direnç genleri saptanmıştır. *msrA* ve *msrB* genleri 1 MSSA suşunda birlikte saptanmıştır. Bir MSSA suşunda ise *msrA*, *ermA* ve *ermC* genleri birlikte saptanmıştır. *msrA*, *msrB* ve *ermA* genleri 1 MSSA suşunda birlikte saptanmıştır. MS fenotipi gösteren suşlarda *ermB* geni saptanmamıştır. MS fenotipinde izlenen direnç geni veya gen grupları Tablo 11'de gösterilmiştir. MS fenotipi gösteren MSSA suşlarında en sık *msrA* ve *msrB* genleri saptanmıştır.

Tablo 11: MS fenotipi gösteren suşlarda direnç genleri ve gen grupları

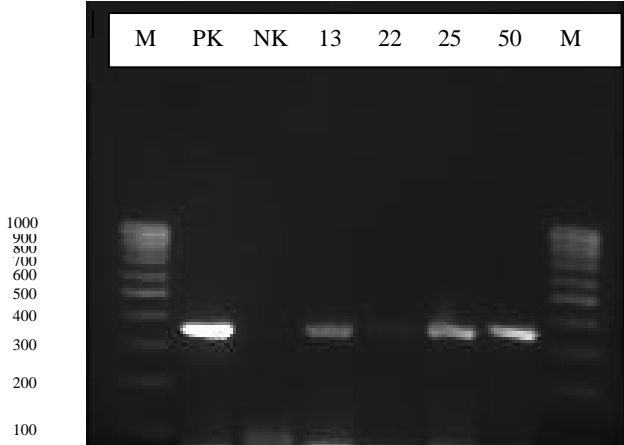
Direnç geni	MRSA N=2	MSSA N=3	Toplam N=5
<i>ermA</i> ^a	2(%100.0)	0(0.0)	2(%40.0)
<i>ermB</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>ermC</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>msrA</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>msrB</i>	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<i>msrA</i> + <i>msrB</i>	0(0.0)	1(%33.3)	1(%20.0)
<i>msrA</i> + <i>msrB</i> + <i>ermA</i>	0(0.0)	1(%33.3)	1(%20.0)
<i>msrA</i> + <i>ermC</i> + <i>ermA</i>	0(0.0)	1(%33.3)	1(%20.0)

^a: tek başına gen pozitifliği

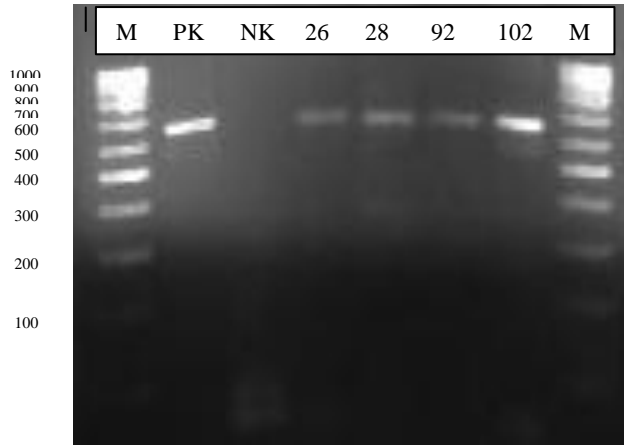
Direnç genleri pozitif bulunan suşların, UV transilluminatör altında elde edilen DNA band görüntüleri Şekil 8-12'de gösterilmiştir.



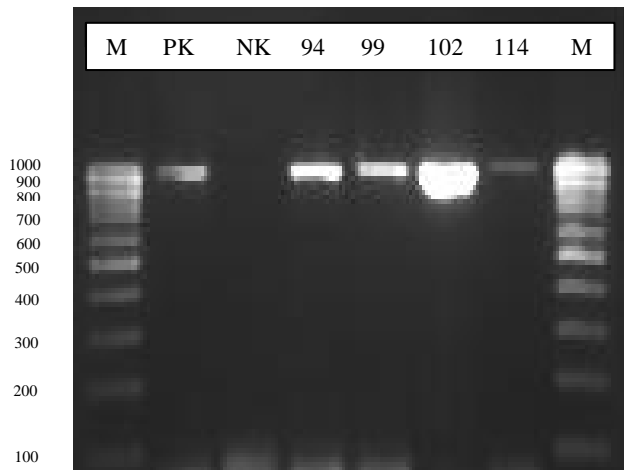
Şekil 8: *S. aureus* suşlarında saptanan *ermA* gen bölgelerine ait band görüntüleri (M:Marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, 1-3-4-5 nolu suşlar: *ermA* geni (421bç) pozitif suşlar)



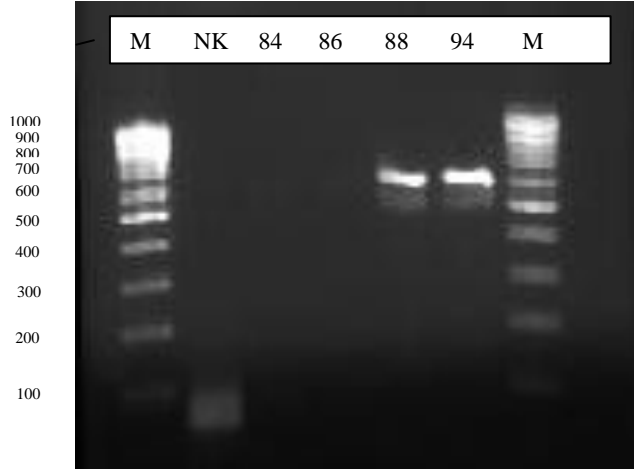
Şekil 9: *S. aureus* suşlarında saptanan *ermB* gen bölgelerine ait bant görüntüleri (M:Marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, 13-22-25-50 nolu suşlar: *ermB* (359bç) geni pozitif suşlar)



Şekil 10: *S. aureus* suşlarında saptanan *ermC* gen bölgelerine ait bant görüntüleri (M:Marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, 26-28-92-102 nolu suşlar: *ermC* (572 bç) geni pozitif suşlar)



Şekil 11: *S. aureus* suşlarında saptanan *msrA* gen bölgelerine ait bant görüntüleri (M:Marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, 94-99-102-114 nolu suşlar: *msrA* (940 bç) geni pozitif suşlar)



Şekil 12: *S. aureus* suşlarında saptanan *msrB* gen bölgelerine ait bant görüntüleri (M:Marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, 84-86-88-94 nolu suşlar: *msrB* (595 bç) geni pozitif suşlar)

Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla OLP6 (5'-GAGGGAAGAG-3'), OLP11 (5'-ACGATGAGCC-3'), OLP13 (5'-ACCGCCTGCT-3') primerleri kullanılarak RAPD PZR yapılmıştır. Direnç genleri pozitif *S. aureus* izolatları ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Suşlar arasındaki benzerlik oranları "SyngeneGeneDirectoryApplication"-Version2.01.02- (İngiltere) kullanılarak değerlendirilmiştir. OLP6, OLP11 ve OLP13 primerleri ile suşlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir. OLP11 ve OLP13 primeri ile suşlar arasındaki benzerliğin daha iyi değerlendirildiği saptanmıştır.

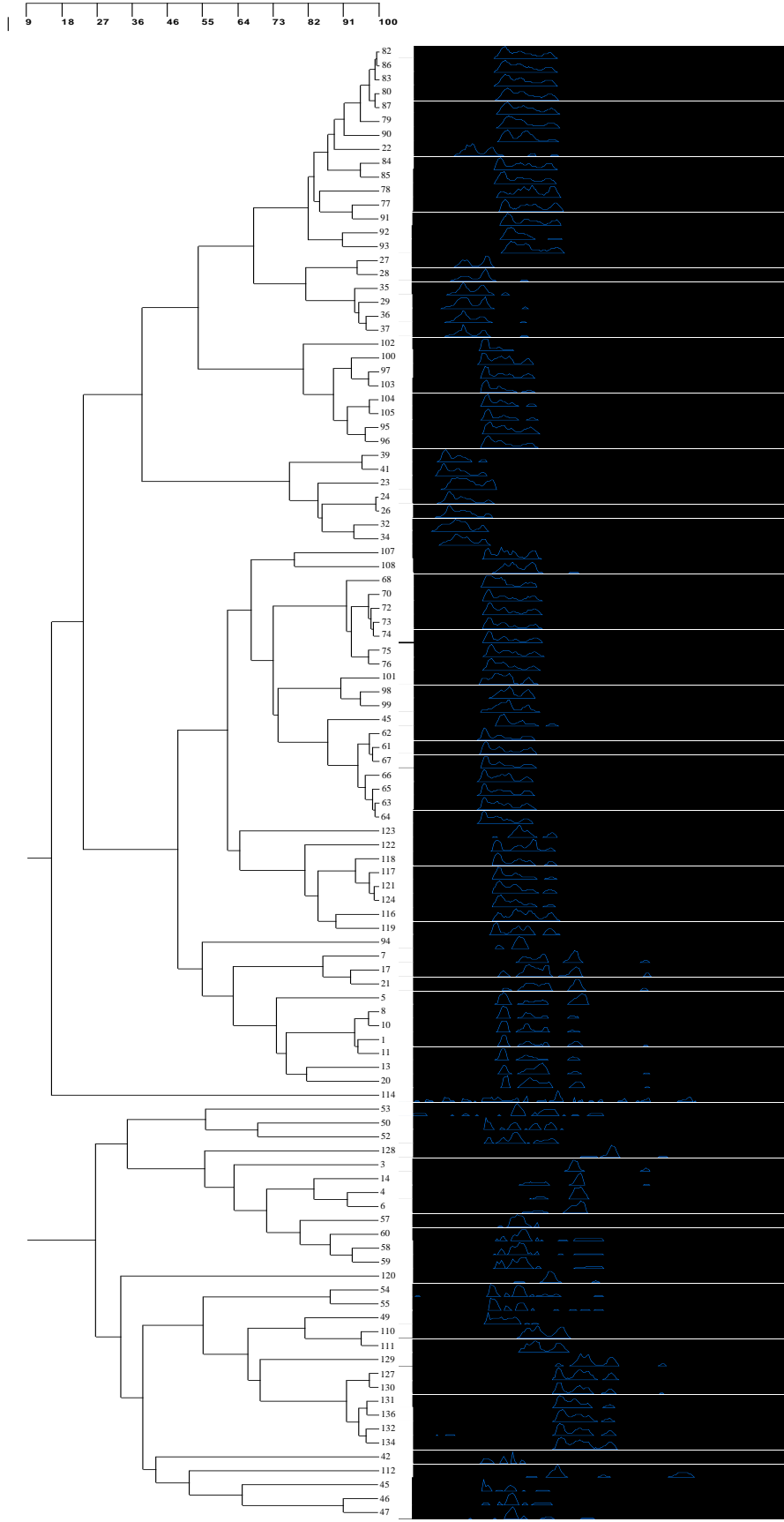
ermA pozitif 106 suş arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinde 82 ve 86, 82 ve 83, 80 ve 87, 86 ve 83 nolu suşlar arasında %99 oranında benzerlik olduğu, 80 ve 83, 80 ve 86, 82 ve 85, 83 ve 87 nolu suşlar arasında %98 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (Şekil 13). 106 suş arasında 13 farklı RAPD tipinin olduğu belirlenmiştir. Benzerlik oranının %98-99 olduğu suşların çoğu; Kalp damar cerrahi, plastik cerrahi, beyin cerrahi ve göğüs cerrahi servisinden gönderilen yara sürüntüsü ve trakeal aspirat örneklerine ait suşlardı. Kalp damar cerrahi servisinden gönderilen örneklerden izole edilen suşların kendi aralarındaki benzerlik oranları yüksek saptanmıştır. Bu suşların birbirine yakın 2 ay içinde izole edildikleri görülmüştür. *ermA* pozitif suşlar arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinin PZR görüntüsü Şekil 18'de gösterilmiştir.

ermB pozitif 4 suş arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinde 50 ve 25 nolu suşlar arasında %95 oranında benzerlik olduğu, OLP13 ile yapılan RAPD analizinde ise tüm suşlar arasında %92-96 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (Şekil 14). Suşlar üroloji, kalp damar cerrahi ve göğüs hastalıkları servisinden izole edilmiştir. Tek bir servis baskınlığı saptanmamıştır. Elli nolu suş dışında diğer 3 suşun aynı ay içinde izole edildikleri görülmüştür.

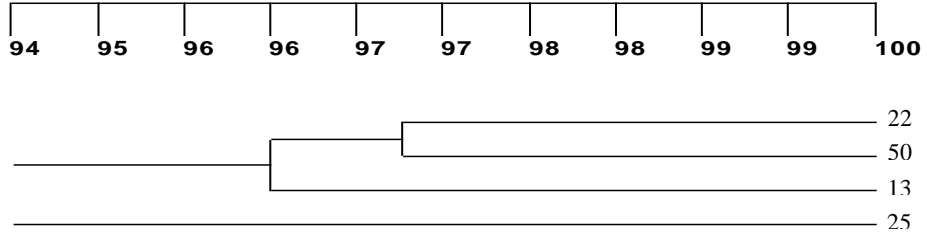
ermC pozitif 20 suş arasında OLP13 primeri ile yapılan RAPD analizinde 7 ve 28 nolu suşlar arasında %97 oranında benzerlik olduğu, 26 ve 106, 5 ve 29 nolu suşlar arasında %94 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (Şekil 15). Bu suşların farklı zamanlarda izole edildikleri görülmüştür. Yirmi suş arasında 5 farklı RAPD tipinin olduğu belirlenmiştir. Suşların çoğu; Kalp damar cerrahi, anestezi ve plastik cerrahi servisinden izole edilmiştir. Tek bir servis baskınlığı saptanmamıştır.

msrA pozitif 15 suş arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinde 86 ve 99, 99 ve 101, 101 ve 114, 102 ve 84 nolu suşlar arasında %99 oranında benzerlik olduğu, 86 ve 114, 101 ve 102 nolu suşlar arasında %98 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (Şekil 16). Benzerlik oranları %98-99 olan suşların aynı ay içinde izole edildikleri görülmüştür. 15 suş arasında 3 farklı RAPD tipinin olduğu belirlenmiştir. Suşların çoğu; Kalp damar cerrahi, anestezi, üroloji ve plastik cerrahi servisinden izole edilmiştir. Tek bir servis baskınlığı saptanmamıştır.

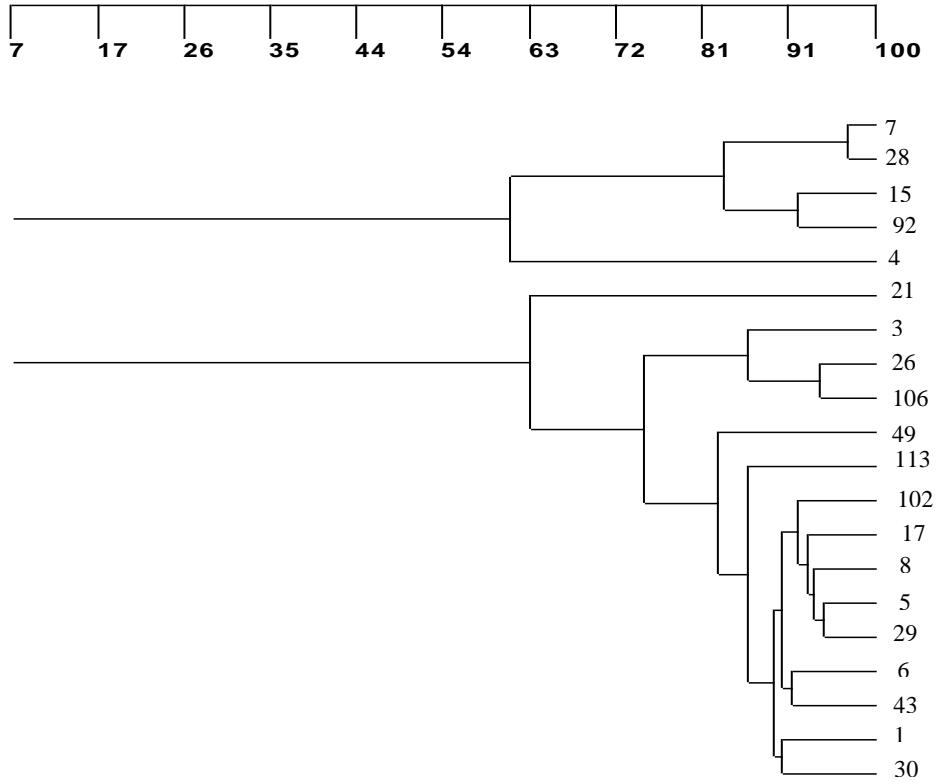
msrB pozitif 4 suş arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinde 86 ve 88 nolu suşlar arasında %95 oranında benzerlik olduğu, 84 ve 86 nolu suşlar arasında %91 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (Şekil 17) ve bu suşların aynı ay içinde izole edildikleri görülmüştür. 4 suş arasında 2 farklı RAPD tipinin olduğu belirlenmiştir. Suşlar üroloji, Kalp damar cerrahi, plastik cerrahi ve anestezi servisinden izole edilmiştir. Tek bir servis ve materyal baskınlığı saptanmamıştır.



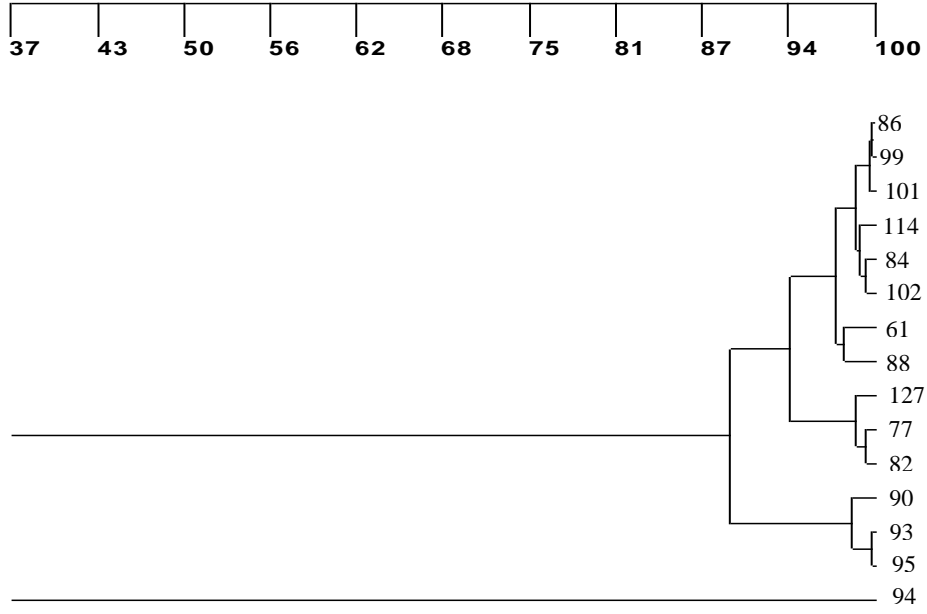
Şekil 13: *ermA* pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizi



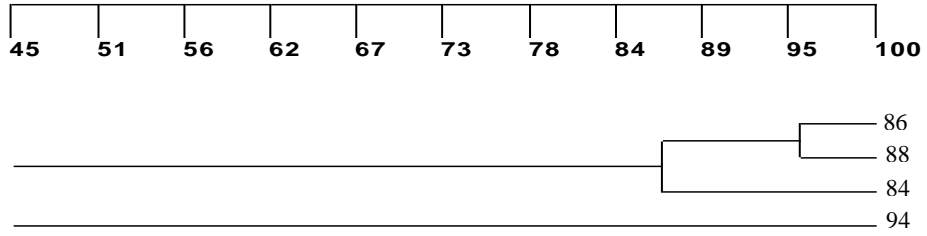
Şekil 14: *ermB* pozitif suşlar arasındaki OLP13 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram



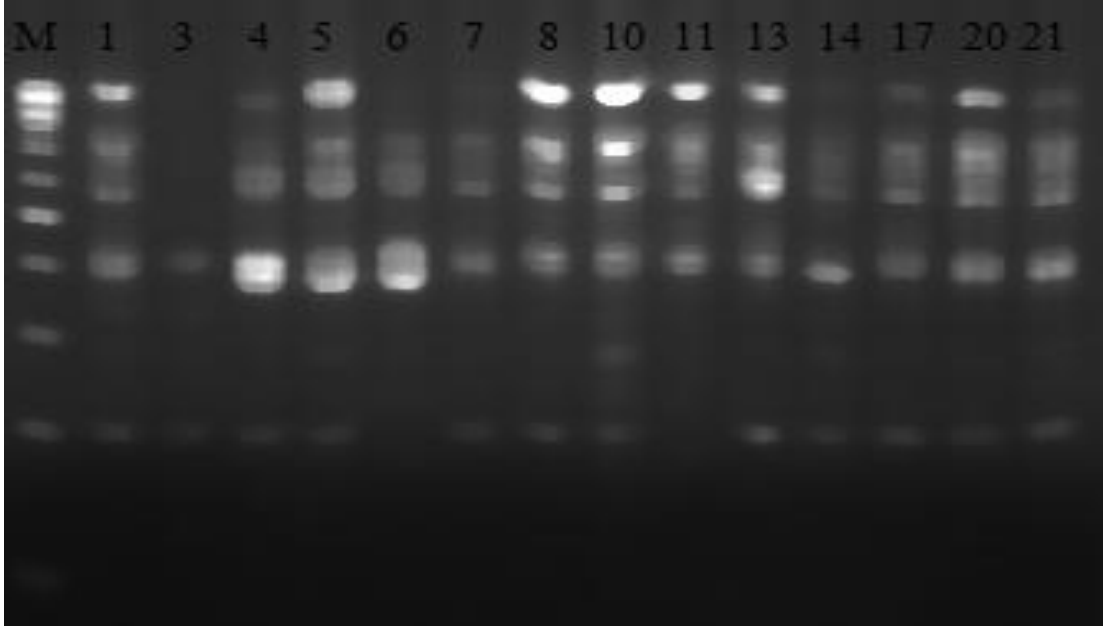
Şekil 15: *ermC* pozitif suşlar arasındaki OLP13 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram



Şekil 16: *msrA* pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram



Şekil 17: *msrB* pozitif suşlar arasındaki OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizine ait dendrogram



Şekil 18: *ermA* pozitif suşlar arasında OLP11 primeri ile yapılan RAPD analizinin PZR görüntüsü (M:Marker,1-3-4-5-6-7-8-10-11-13-14-17-20-21 nolu *ermA* pozitif suşlar)

TARTIŞMA

S. aureus hem sağlıklı hem de immün yetmezlikli olgularda, nozokomiyal ve toplum kökenli enfeksiyonların önde gelen etkenlerinden biri olup önemli morbidite ve mortalite sebebidir (46). Doğada yaygın olarak bulunduğu gibi insanların deri, burun ve üst solunum yollarında da kolonize olabilen bir bakteridir. Hem toplum kaynaklı hem de hastane kaynaklı, çok farklı tablolarla seyreden enfeksiyonlara sebep olur. İnsanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon etkeni olarak en sık soyutlanan mikroorganizmalardan birisidir.

Penisilinlerin 1940'larda kullanıma girmesiyle stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiş, ancak kısa bir süre sonra penisilinaz üreten suşların ortaya çıkmasıyla direnç problemi başlamıştır (50). 1950'li yıllarda penisilin yanısıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişmiştir (50). Beta-laktamaza dayanıklı bir antibiyotik olan metisiline dirençli *S. aureus* izolatları ilk olarak 1961 yılında bildirilmiştir. MRSA, ülkemizde de hastane enfeksiyonu etkenleri içinde ilk sıralarda yer almakta ve yıllar içinde görülme sıklığında artış saptanmaktadır (51). Yoğun bakım ve cerrahi işlem hastaları, nötropenik hastalar, yeni doğanlar, immün yetmezliği olanlar, diyabet hastaları *S. aureus* enfeksiyonu yönünden yüksek risk gruplarıdır (52). Bu tür hastalarda enfeksiyonların tedavisi, uzun süreli hastanede kalma ve yüksek maliyet gerektirmektedir. Dolayısıyla morbidite ve mortalitesi yüksek bu enfeksiyonların kısa sürede ve doğru antibiyotik kullanarak tedavi edilmesi kaçınılmazdır. Çalışmamızdaki 404 *S. aureus* suşunun %41.9'u cerrahi bölüm, %36.9'u dahili bölüm, %10.1'i yoğun bakım ve %11.1'i pediatri hastalarına ait örnekler olup; bu örneklerin %50.0'ı yara sürüntüsü, %14.9'u trakeal aspirat, %8.4'ü ameliyat materyali ve %26.7'si diğer örneklerden izole edilmiştir. Duman ve ark. yaptıkları çalışmada 173 *S. aureus* suşunun %25.4'ünü yoğun bakım, %22.5'ini cerrahi bölüm hastalarına ait örneklerden izole etmişlerdir. Bu örneklerin de %38.7'sinin yara sürüntüsüne ait olduğunu belirtmişlerdir (52). Bizim çalışmamızda da *S. aureus* suşları en sık yara sürüntüsü örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen 404 *S. aureus* suşunun eritromisin, klindamisin, kinupristin/dalfopristin, azitromisin, klaritromisin, telitromisin, oksasilin, penisilin-G, sefoksitin, ampisilin-sulbaktam,

vankomisin, linezolid, tetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, rifampisin, trimetoprim-sülfametoksazol, moksifloksasin ve siprofloksasin antimikrobiyal duyarlılıkları çalışılmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda MRSA direnç oranını; Duman ve ark. %36.4, Kurutepe ve ark. %32.4, Arıdoğan ve ark. %41.0 olarak bulmuşlardır (52-54). Yaptığımız çalışmada ise bu oranlara benzer olarak metisilin direnç oranı %39.1 bulunmuştur. Stafilokoklar için önerilen antibiyotikler arasında yer alan aminoglikozitlere karşı direnç ülkemizde yapılan bir çalışmada MRSA suşlarında %32-92, MSSA suşlarında %2-10 arasında değişmektedir (55). Gentamisine karşı MRSA ve MSSA suşlarında; Duman ve ark. %41.3 ve %8.2, Arıdoğan ve ark. %76 ve %7.5 oranında direnç saptamışlardır (52, 54). Çalışmamızda ise gentamisine, MRSA suşlarında %77.9 ve MSSA suşlarında ise %0.4 oranında direnç saptanmıştır. Çalışmamızda MRSA suşlarında direnç oranı diğer çalışmalarla benzer iken MSSA suşlarında direnç oranı daha düşüktür. MRSA suşlarının oluşturduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde vazgeçilmez diğer bir antibiyotik grubu glikopeptidlerdir. *S. aureus* suşlarında glikopeptidlere karşı ülkemizde yapılan çalışmalarda direnç bildirilmemiştir (52). Çalışmamızda da vankomisine direnç saptanmamıştır. MRSA suşlarında en çok siprofloksasine (%84.9), tetrasikline (%83.5), rifampisine (%82.3) direnç görülmüştür. MSSA suşlarında ise en çok penisiline (%78.9) direnç görülmüştür. Suşların MLS_B grubu antibiyotiklere duyarlılıkları değerlendirildiğinde MRSA ve MSSA suşlarında sırasıyla eritromisine %65.2 ve %11.0, klindamisine %10.1 ve %4.5, kinupristin/dalfopristine %0.6 ve %0.4, azitromisine %65.2 ve %9.4, klaritromisine %64.6 ve %11.0, telitromisine %7.0 ve %2.5 oranında direnç saptanmıştır. MRSA suşlarında antibiyotiklere direnç oranı MSSA suşlarına göre yüksek bulunmuştur. Gül ve ark. cMLS_B fenotipi gösteren suşların %2.7'sinde kinupristin/dalfopristine direnç saptamışlardır (68). Bizim çalışmamızda da cMLS_B fenotipi gösteren suşların %10.5'inde kinupristin/dalfopristine direnç saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda MLS_B direnci pozitif olan suşların MLS_B direnci negatif olan suşlara göre antibiyotiklere daha yüksek oranda direnç gösterdiklerini saptamışlardır (57, 68). Bu sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Günümüzde stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif tedavi protokollerinin kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Makrolidler, düşük yan etkiye sahip olmaları, geniş spektrumları, yüksek doku ve serum düzeyine ulaşmaları ile stafilokok enfeksiyonlarında alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılan antibiyotiklerin başında yer almaktadır. Ancak 1980'lerden bu yana makrolidlerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, makrolid dirençli stafilokokların tüm dünyada hızla artmasına sebep olmuştur. MLS_B grubu antibiyotikler içinde yer alan klindamisin tolerabilitesi, maliyeti, oral yoldan kullanım avantajı ve yüksek doku konsantrasyonu nedeniyle MRSA ve MSSA kaynaklı deri, yumuşak doku ve kemik enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, indüklenebilir klindamisin direnci ile ilişkili tedavi başarısızlıkları da bildirilmiştir (56).

Makrolid, linkozamid, streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotikler, kimyasal olarak birbirlerinden tamamen farklı fakat bakteriyel protein sentezi üzerine benzer inhibitör etkiye sahip ajanlardır. Bu grup antibiyotiklere direnç genellikle hedef bölgenin modifikasyonu, ilacın inaktivasyonu veya efluks (dışa atım) mekanizmaları aracılığıyla gelişir (57).

Stafilokok türlerinde klindamisine karşı dirence yol açan en önemli mekanizma, değişik *erm* genlerinin kodladığı metilaz enziminin ribozomal hedef bölgesine metil grubu eklemesiyle gelişir (58). Stafilokoklarda metilaz enzimi en sık *ermA* ve *ermC* genleri tarafından kodlanır ve bu genler indüklenebilir veya yapısal olabilir (59).

MLS_B direncinin sıklığı coğrafi olarak veya farklı hasta gruplarında ve farklı klinik örneklerden soyutlanan izolatlar arasında değişkenlik göstermektedir (60, 61). Dünyada ve ülkemizde ciddi bir problem haline gelen makrolid direncinin fenotip ve genotipine ait veriler bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılacak tedavi yaklaşımlarının düzenlenmesine yardım edeceği gibi, laboratuvarın doğru ve güvenilir sonuç vermesini de sağlayacaktır.

Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarını en aza indirmek duyarlılık testinin doğru bir yöntemle uygulanması ve sonuçların doğru yorumlanması ile mümkündür. Fiebelkorn ve ark. 2003 yılında yaptığı bir çalışmada; eritromisine dirençli *S. aureus* ve KNS'lerde indüklenebilir klindamisin direncini tespit etmek için basit ve rutin laboratuvarlarda kolayca uygulanabilen çift disk sinerji testi (D-test) geliştirilmiştir.

Bu yöntemde; eritromisin diskinden 15-26 mm'lik mesafelere yerleştirilen klindamisin diskinin inhibisyon zonunun eritromisin diskinin bakan tarafta düzleşme olması indüklenebilir klindamisin direncini gösterdiğini belirtmişlerdir. D-test ile iMLS_B , cMLS_B ve MS direnç fenotipleri belirlenebileceğini bildirmişlerdir (4). CLSI indüklenebilir klindamisin direncinin saptanması için D-test yönteminin uygulanmasını tavsiye etmiştir (49).

Dünya genelinde indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı %3.6 ile %94 arasında değişmekte ve farklı coğrafi bölgelerde, ülkeden ülkeye ve hatta aynı ülkede farklı bölgelerdeki hastane ve hasta gruplarında farklılıklar göstermektedir (33, 62). Patel ve ark. yaptıkları çalışmada indüklenebilir klindamisin direnç prevalansını %52, Fokas ve ark. %50 olarak bulmuşlardır (63, 64).

Juyal ve ark. yayımladıkları 2013 tarihli makalede 239 (%64.1) *S. aureus* ve 134 (%35.9) KNS suşunda indüklenebilir klindamisin direnç prevalansını araştırmışlardır. Bu suşların %46.3'ünü abse, %9.3'ünü yara sürüntüsü örneklerinden izole etmişlerdir. MRSA izolatlarında cMLS_B, iMLS_B, MS ve S fenotipini sırasıyla %29.0, %19.4, %38.7 ve %12.9 oranında, MSSA izolatlarında ise cMLS_B, iMLS_B, MS ve S fenotipini sırasıyla %12.5, %6.3, %24.5 ve %56.7 oranında saptamışlardır. MRSA izolatlarında en sık MS fenotipini saptamışlardır ve farklı coğrafi bölgelerde MLS_B direnç paterninin değişebileceğini belirtmişlerdir (69). Bizim çalışmamızda da bu çalışmadan farklı olarak en sık iMLS_B fenotipi saptanmıştır. Bu sonuç da farklı coğrafi bölgelerde MLS_B direnç paterninin değişebileceğini desteklemektedir.

Seifi ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada 211 *S. aureus* izolatın indüklenebilir klindamisin direncini araştırmışlardır. MRSA izolatlarında en sık cMLS_B fenotipini (%52.3), MSSA izolatlarında ise en sık S fenotipini (%73.9) saptamışlardır. Farklı hastane ve coğrafi bölgelerde, MLS_B direnç paterninin bakteri suşlarına ve hasta gruplarına göre değişebileceğini bildirmişlerdir (70).

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 190 *S. aureus* suşu ile yapılan bir çalışmada D-test yöntemini kullanarak indüklenebilir klindamisin direncini araştırmışlardır. cMLS_B ve iMLS_B direncini MRSA izolatlarında MSSA izolatlarına göre daha yüksek oranda saptamışlardır (sırasıyla %20.0, %16.6 ve %6.1, %6.1). D-test ile indüklenebilir direncin belirlenmesinin, klindamisin tedavisi uygulanacak hastalarda yanlış tedavi almaması açısından yararlı olacağını bildirmişlerdir (71).

Japonya’da Otsuka ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmaya 269 MRSA ile 434 MSSA izolatını dahil etmişlerdir. cMLSB tipi direncini MRSA kökenlerinde % 61.3, MSSA kökenlerinde ise %1.3 oranında saptamışlardır. iMLS_B fenotipini MSSA (%94) izolatlarında, MRSA (%38.7) kökenlerinden çok daha yaygın bulduklarını bildirmişlerdir. *S. aureus* suşlarında fenotipik MLS_B direncinin insidansının ilaç kullanımına, infeksiyon çeşidine ve ülkelere göre değişebileceğini belirtmişlerdir. (61).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Azap ve ark. 408 stafilokok suşu (105 MRSA, 111 MSSA, 192 KNS) ile yaptıkları çalışmada D-test ile indüklenebilir klindamisin direnç sıklığını araştırmışlardır. iMLS_B fenotipini MRSA izolatlarında %5.7, MSSA izolatlarında %3.6 oranında saptanmışlardır. MRSA’lar içinde eritromisine dirençli tüm suşların D-test sonucu pozitif (iMLS_B) olarak belirlenmiş, MSSA suşlarının ise yarısında iMLS_B pozitifliği saptamışlardır (66).

Sarıbaş ve ark. 2010 yılında 381 *S. aureus* ve 94 KNS suşu ile yaptıkları çalışmada eritromisin dirençli 112 *S. aureus* suşun %56.2’sinin iMLS_B, %40.2’sinin cMLS_B fenotipi, eritromisin dirençli 58 KNS suşunun ise %41.4’ünün iMLS_B, %34.5’inin cMLS_B ve %24.1’inin MS fenotipi gösterdiğini saptamışlardır. Daha önceki yıllarda yaptıkları çalışma ile karşılaştırdıklarında en sık görülen direnç fenotipinin yapısal dirençten indüklenebilir dirence değiştiğini bildirmişlerdir. Bunun nedeninin klindamisin kullanımının o yıllara göre azalmış olmasına bağlamışlardır (72).

Çolakoğlu ve ark. 2008 yılında, klinik örneklerden izole edilen 892 *S. aureus* suşu ile indüklenebilir klindamisin direnç prevalansını araştırdıkları çalışmada 226 *S. aureus* suşu eritromisine dirençli ve klindamisine duyarlı olarak belirlemişler ve bu 226 eritromisine dirençli suş içerisinde iMLS_B direnç oranını %76.5 olarak saptamışlardır. Bu oran tüm suşları kapsadığında iMLS_B direnç oranını %19.4 olarak belirtmişlerdir. Standart duyarlılık testleri ile indüklenebilir klindamisin direncinin yanlış duyarlılık verebileceğini, D-test ile indüklenebilir direncin belirlenmesinin tedavinin etkili ve güvenilir olması açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır (33).

Uyanık ve ark. 57’si MRSA , 50’si MSSA olan toplam 107 *S. aureus* suşu ile yaptıkları çalışmada MRSA suşlarında cMLS_B oranını %21.0, iMLS_B oranını ise %30.0 olarak bulmuşlardır. Bu oran MSSA suşlarında ise sırasıyla %0.0, %4.0

olarak belirtilmiştir. Klindamisinin stafilokoklarda oluşan infeksiyonların tedavisinde önemli bir alternatif olduğu durumlarda rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile direnç profilinin saptanmasının tedavinin başarısı için gerekli olduğunu belirtmişlerdir (1).

Yılmaz ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada cMLSB fenotipi MRSA kökenlerinde %44.2, MSSA kökenlerinde %4.5 oranında gözlenmiştir. Araştırmacılar aktif atım pompasına bağlı saptanan MS fenotipini ise, MRSA kökenlerinde %5.2, MSSA kökenlerinde %3.6 oranında belirlemişlerdir (67).

Gül ve ark. yaptıkları çalışmada 2003-2006 yılları arasında hastanede yatan ve polikliniğe başvuran hastalardan izole edilen toplam 256 MRSA kökeninde MLS_B direncini araştırmışlardır. Bu izolatların %43.2'sini yara sürüntüsü, %33.5'ini kan kültürü örneklerinden izole etmişlerdir. Eritromisin dirençli 225 MRSA izolatında cMLS_B fenotipini % 49.3, iMLS_B fenotipini % 39.1, MS fenotipini ise % 11.5 oranında saptamışlardır (68).

Delialioğlu ve ark. klinik örneklerden izole ettikleri 521 stafilokok suşunda indüklenebilir klindamisin direncini D-test yöntemi ile incelemişler ve *S. aureus* için cMLS_B oranını %24.3, iMLS_B oranını ise %7.8 olarak belirlemişlerdir. Fenotipik olarak yaptıkları çalışmanın verilerinde MS fenotipe *S. aureus*'larda rastlamadıklarını belirtmişlerdir. Klindamisin direncini belirlemede disk difüzyon yönteminin yeterli olmadığını, D-test yöntemi ile daha doğru sonuç alınacağını belirtmişlerdir (73).

Doğruman Al ve ark. 2008 yılında, yatan hasta örneklerinden izole ettikleri sadece MRSA kökenine ait suşlar ile yaptıkları çalışmada 63 MRSA suşunda %20.6 oranında iMLS_B, %50.8 oranında ise cMLS_B direnci saptamışlardır. Çalışmadaki tüm suşlarda %28.6 oranında direnç olmadığını ve suşlarda MS fenotipi saptamadıklarını bildirmişlerdir. MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanımından önce, MRSA kökenlerinde söz konusu direncin araştırılmasının tedavi başarısı açısından önemini belirtmişlerdir (74).

Dinç ve ark. 2006-2009 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 211 MRSA suşları ile yaptıkları çalışmada %83.9 iMLS_B, %16.1 cMLS_B direnci tespit etmişlerdir. MLS_B direncinin tanımlanmasının tedavinin yönlendirilmesinde çok önemli olduğunu vurgulamışlardır (75).

Uyanık ve ark. iMLS_B fenotipi MRSA izolatlarında %30, MSSA izolatlarında %4 oranında, Azap ve ark. iMLS_B fenotipi MRSA izolatlarında % 5.7, MSSA izolatlarında %3.6 oranında saptadıklarını belirtmişlerdir (1, 66).

Bizim çalışmamızda da toplam 404 *S. aureus* izolatında MLS_B direnci araştırılmıştır. Bu suşların da %39.1'i MRSA ve %60.9'u MSSA'dır. Klinik örneklerden izole edilen 404 *S. aureus* suşunda indüklenebilir klindamisin direnci D-test yöntemi ile incelenmiştir. *S. aureus* suşlarının %66.3'ü S fenotipi, %27.5'i iMLS_B fenotipi, %4.7'si cMLS_B fenotipi ve %1.2'si MS fenotipi olarak belirlenmiştir. MRSA suşlarının %34'ü S fenotipini, %1.3'ü MS fenotipini, %56.3'ü iMLS_B fenotipini, %7.6'sı cMLS_B fenotipini gösterdikleri, MSSA suşlarının ise %87'si S fenotipini, %1.2'si MS fenotipini, %8.9'u iMLS_B fenotipini, %2.9'u cMLS_B fenotipini gösterdikleri saptanmıştır. iMLS_B fenotipi MRSA (%56.3) suşlarında, MSSA (%8.9) kökenlerinden çok daha yaygın bulunmuştur ve bu veriler diğer çalışmalarda bulunan oranlarla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak, Schreckenberger ve ark. iMLS_B fenotipi MRSA izolatlarında %9.7, MSSA izolatlarında %19.4 oranında, Otsuka ve ark. iMLS_B fenotipi MRSA izolatlarında %38.7, MSSA izolatlarında %94 oranında saptamışlardır (60, 61). Çalışmamızda Azap ve ark. ve Delialioğlu ve ark.'nın sonuçlarından farklı olarak MS fenotipi hem MRSA hem de MSSA suşlarında görülmüştür (66, 73).

Dünya genelinde indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı %3.6 ile %94 arasında değişmektedir (33, 62). Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarında toplam olarak indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı %27.5 olarak bulunmuştur. MRSA suşlarında indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı %56.3, MSSA suşlarında indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı %8.9 olarak bulunmuştur. MRSA suşlarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.05). Çalışmamızda MRSA suşları %96.2 oranında yatan hastalardan gönderilen örneklerden izole edilmiştir. MRSA suşlarında en sık indüklenebilir klindamisin direncinin saptanmasının sebeplerinden birisinin hastanemizde yatan hastalarda klindamisin kullanımının kısıtlı olmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Çolakoğlu ve ark. yaptığı çalışmada direnç prevalansı %19.4, Sarıbaş ve ark. %36.0,

Schmitz ve ark. ise %45, Delialioğlu ve ark. %7.8 olarak tespit edilmiştir (33, 35, 65, 73). Bu oranlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

S. aureus izolatlarında makrolid, linkozamid, streptogramin B direnci (MLS_B) eritromisin ribozom metilasyon (*erm*) genleri tarafından kodlanmaktadır ve hem yapısal hem de indüklenebilir özellikte olabilir. Dirence neden olan diğer mekanizmalar arasında, *msrA* ve *msrB* tarafından kodlanan aktif atım pompası genleri de tanımlanmıştır. Antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu yoluyla oluşan direnç sadece yapısal olarak ana antibiyotiğe benzeyen antibiyotiklere dirence sebep olur (3, 36).

S. aureus'ta *linA'* geni tarafından kodlanan nükleotidil transferaz enzimi ile linkozamidlere yüksek düzeyde direnç gelişir. Bu yolla makrolid ve streptograminlere karşı direnç gelişmez (3). Stafilokoklarda streptogramin antibiyotiklerini enzimatik yolla inaktive eden üç gen tanımlanmıştır. *vat* (virginamisin faktör A asetiltransferaz) ve *vatB* geni tarafından kodlanan asetiltransferaz enzimi yalnızca streptogramin A ve türevi antibiyotikleri inaktive ederken *vgb* (virginamisin faktör b) geni tarafından kodlanan laktonaz enzimi streptogramin B'yi inaktive eder (48). *S.aureus*'ta, *ereA* ve *ereB* (eritromisin esterifikasyon) genleri sadece eritromisin direncine neden olur (3, 36). Bu nedenle, MLS_B direncine neden olan genetik temelini belirlenmesi, klinik ve epidemiyolojik olarak önemlidir (61).

Birçok ülkede stafilokoklarda makrolid, linkozamid, streptogramin B grubu antibiyotiklere direncin fenotipik ve genotipik olarak tanımlanmasına yönelik çalışmalar yapılmış hangi tip fenotipik dirençten hangi gen ve gen gruplarının sorumlu olduğu belirlenmeye çalışılmıştır.

Lina ve ark. alışmasında, MLS_B grubu antibiyotiklerden en az bir tanesine dirençli toplam 144 *S. aureus* ve 150 KNS izolatında *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*, *linA/linA'*, *vga*, *vgb* ve *vat* genlerinin varlığı PZR ile araştırılmıştır. *S. aureus* suşlarında *ermA*, *ermB* ve *ermC* genlerinin bulunma sıklığı sırasıyla %63.2, %0.7 ve %25 olarak belirlenmiştir. *S. aureus* suşlarının %2.1'inde *msrA* genini pozitif saptamışlardır. *S.aureus*'larda %9.8 iMLS_B, %53.5 cMLS_B fenotipi görülmüştür. *S. aureus* suşlarında en sık *ermA* geninin bulunduğunu belirtmişlerdir (45).

Vandendriessche ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada, 212 MSSA ve 314 MRSA izolatında *ermA*, *ermC* ve *msrA* genlerinin varlığını araştırmışlardır. Toplam 1299 suşta (17 MSSA, 112 MRSA) *ermA* geni tek başına ve en sık bulunan gen olarak saptamışlardır. *ermA* ve *ermC* genlerini 3 MRSA izolatında bir arada, *msrA* geni ise 9 MSSA ve 1 MRSA izolatında saptamışlardır. MRSA ve MSSA izolatlarında *ermA* ve *ermC* genlerinin MLS_B direncindeki önemini vurgulamışlardır (76).

Japonya'da Otsuka ve ark. yaptığı bir çalışmada, cMLS_B olarak saptanan izolatlarda *ermA* geni yaygın olarak MRSA kökenlerinin % 61.3'ünde, MSSA kökenlerinin % 1.3'ünde pozitif belirlenmiş, buna karşın, iMLS_B fenotipinde yer alan izolatlarda *ermC* geni hakimiyeti MRSA kökenlerinin % 38.7'inde, MSSA kökenlerinin % 94'ünde pozitif görülmüştür. Araştırmacılar 7 MSSA ve 1 MRSA kökeninde *msrA/B* genlerini pozitif bulurken, hiçbir izolatta *ereA/B* genlerini saptamamışlardır (61).

Lim ve ark. yaptıkları çalışmada eritromisin dirençli 194 *S.aureus* (%89.7'si MRSA, %10.3'ü MSSA) ve 125 KNS (%64.0 Metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS), %36.0 Metisilin duyarlı koagülaz negatif stafilokok (MSKNS)) suşunda *ermA*, *ermB* ve *ermC* direnç genlerinin analizini yapmışlardır. MRSA suşlarının %84.4'ünde, MSSA suşlarının %65'inde *ermA* genini saptamışlardır. MRSA suşlarının 2'sinde, MSSA suşlarının 3'ünde *ermC* genini saptamışlardır. *ermA* ve *ermC* genlerini 16 suşta bir arada saptamışlardır. *ermB* genini hiçbir suşta saptamamışlardır. *S. aureus* suşlarında en sık *ermA* genini bulmuşlardır (77).

Gherardi ve ark. İtalya'da yaptıkları çalışmada, makrolid dirençli 30 *S. aureus* ve 70 KNS izolatını, direncin genetik temeli açısından araştırmışlardır. iMLS_B fenotipi sergileyen eritromisin dirençli *S. aureus* izolatlarında *ermC*, cMLS_B fenotipi gösteren izolatlarda ise *ermA* baskın gen olarak bulmuşlardır. *msrA* genini ise sadece 2 *S. aureus* izolatında pozitif bulmuşlardır (78).

Brezilya'da 2010 yılında yapılan çalışmada, eritromisine dirençli 94 *S. aureus* ve 58 KNS suşunun %50.1'inde en az bir ya da birden fazla *erm* geni saptadıklarını ve tüm suşlardaki *erm* geni sayılarını; 49 suşta *ermA*, 29 suşta *ermC* ve 3 suşta *ermB* olarak bildirmişlerdir (79).

Danimarka'da Westh ve ark. 1959-1988 yılları arasında yaptıkları çalışmada eritromisine dirençli 428 *S. aureus* suşa Southern Blot yöntemiyle *ermA* ve *ermC* gen analizini yapmışlar ve 428 suşun %78.7'sinde *ermA*, %17.9'unda ise *ermC* geni saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada önemli olan nokta 1971 yılına kadar suşlarda *ermA* genini saptadıklarını, *ermC* geninin ise 1971 yılından sonra izole edilen suşlarda bulunduğunu bildirmişlerdir (40).

Spiliopoulou ve ark. 1999-2001 yılları arasında topladıkları 1477 *S. aureus* suşu ile yaptıkları çalışmada eritromisine dirençli 173 (%11.7) *S. aureus* suşunda *ermA*, *ermC* ve *msrA* direnç genlerinin analizini yapmışlar ve 173 suşun 113'ü MRSA, 60'ı MSSA'dır. iMLS_B fenotipi 53 suşta (%30.6), cMLS_B fenotipi 106 suşta (%61.3) saptanmıştır. MS fenotipi 13 MSSA suşunda gösterilmiş ve bu suşların hepsinde *msrA* geni saptamışlardır. *S. aureus* suşlarında %70'inde *ermC*, %22'inde *ermA*, %7.5'inde *msrA* ve 1 izolatta da *ermA* ve *ermC* (%0.6) genini birlikte saptadıklarını bildirmişlerdir. En sık olarak *ermC* genini saptamışlardır (5).

Ülkemizde makrolidlere karşı oluşan direncin genetik temelini araştıran çalışma sayısı azdır.

Sarıbaş ve ark. 2010 yılında, eritromisine dirençli 87 MRSA ve 25 MSSA izolatu ile yaptığı çalışmada *ermA*, *ermB*, *ermC* ve *msrA* genlerinin varlığı araştırılmıştır. *ermA* ve *ermC* genleri 45 izolatta bir arada saptanmış, *ermB* geni ise *ermA* geni ile beraber tek bir MRSA izolatında saptanmıştır. Fenotipik profil ile birlikte değerlendirildiğinde, cMLSB fenotipine sahip izolatlarda genellikle *ermA* ve *ermC* genleri bir arada (35/45 izolat) bulunmuştur. *msrA* geni hiçbir izolatta saptanamamıştır. Bu izolatlarda saptanan direnç genlerinin daha önceki yaptıkları çalışmadakine benzer bir dağılım gösterdiğini belirtmişlerdir (72).

Ardıç ve ark. yaptıkları çalışmada, metisiline dirençli *S. aureus* izolatlarında eritromisin ve tetrasiklin direncinden sorumlu genleri araştırmışlardır. Toplam 56 metisilin dirençli 28 *S. aureus* ve 28 KNS izolatında eritromisin direncinden sorumlu *ermA* ve *ermC* genlerini multipleks PZR ile araştırmışlardır. *ermA* genini MRSA izolatlarının % 71.4'ünde pozitif, *ermC* genini ise hem MRSA hem de MRKNS izolatlarında aynı oranda % 64.3 olarak pozitif saptamışlardır. *S. aureus* izolatlarının %50'sinde her iki geni pozitif olarak belirlemişlerdir (80).

Aktaş ve ark. 2007 tarihinde yayınlanan çalışmasında, eritromisin dirençli 24 *S. aureus* ve 78 KNS izolatında *ermA*, *ermB*, *ermC* ve *msrA* genlerinin varlığı PZR ile araştırılmıştır. İzolatlarda *ermA*, *ermB* ve *ermC* genlerinin bulunma sıklığı sırasıyla % 50, % 8.3 ve % 62.5 olarak belirlenmiştir. Fenotipik olarak toplam 5 izolatta MS fenotipi saptanmış olmasına rağmen %12.5 oranında *msrA* geni belirlenmiştir. *S. aureus*'larda %58.3 cMLS_B, %20.8 iMLS_B fenotipi görülmüştür. *S. aureus* suşlarında %37.5 oranında hem *ermA* hem *ermC* geni bir arada tespit edilmiştir (81).

Gül ve ark. tarafından 2008 yılında toplam 225 eritromisin dirençli MRSA kökeninde *ermA*, *ermC*, *msrA* genlerinin varlığı saptanmıştır. İzolatların % 37.7'sinde *ermA*, % 26.6'sında *ermC*, %18.6'sında *ermA* ve *ermC* pozitif bulunurken, izolatların % 18.6'sında tek başına veya diğer genlerle birlikte *msrA* geni belirlenmiştir (68).

Çetin ve ark. 2009 yılında, eritromisine dirençli 301 suş ile yaptığı çalışmada direnç fenotipleri belirlenmiş ve yine aynı çalışmada dirençten sorumlu genler moleküler olarak tanımlanmaya çalışılmıştır. Yapılan çalışmanın fenotipik sonuçları %63.5 oranında cMLS_B, %36.5 oranında iMLS_B olarak bulunmuştur. *S. aureus* suşlarında en sık saptanan gen %62 oranında *ermA* olarak bulunmuştur (82).

Bizim çalışmamızda, makrolid dirençli 104 MRSA ve 32 MSSA izolatında *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* ve *msrB* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Çalışmaya alınan suşların %81.6'i iMLS_B, %13.9'u cMLS_B, %3.7'si MS direnç fenotipi ve %0.7'si klindamisin dirençli ve eritromisin duyarlı olarak saptanmıştır. iMLS_B fenotipi gösteren 111 suşun 91'inde (%81.9) *ermA*, 12'sinde (%10.8) *ermC*, 12'sinde (%10.8) *msrA*, 2'sinde (%1.8) *msrB* ve 1'inde (%0.9) *ermB*, 19 cMLS_B fenotipi gösteren suşların 11'inde (%57.9) *ermA*, 7'sinde (%36.8) *ermC* ve 3'ünde (%15.8) *ermB*, 5 MS fenotipi gösteren suşların 4'ünde (%80.0) *ermA*, 3'ünde (%75.0) *msrA*, 2'sinde (%50.0) *msrB* ve 1'inde (%25.0) *ermC* geni saptanmıştır. *ermA* ve *ermC* genleri 14 izolatta, *ermA*, *ermC* ve *msrA* genleri 1 izolatta, *ermA* ve *msrA* genleri 11 izolatta, *ermA*, *msrA* ve *msrB* genleri 3 izolatta, *ermA* ve *ermB* genleri 3 izolatta birlikte saptanmıştır. Moleküler olarak direnç genlerinin araştırıldığı pek çok çalışmada da birden fazla gen kombinasyonları saptanmıştır. Sarıbaş ve ark. *ermA* ve *ermC* genlerini %63.9 oranında, Gül ve ark. *ermA* ve *ermC* genlerini %18.6

oranında, Sarıbaş ve ark. *ermA* ve *ermC* genlerini %40 oranında, Aktaş ve ark. *ermA* ve *ermC* genlerini %37.5 oranında bir arada saptamışlardır. (35, 68, 72, 81). Bizim çalışmamızda da *ermA* ve *ermC* genleri %10.3 oranında bir arada saptanmıştır. Lina ve ark., Martineau ve ark., Schmitz ve ark., Gül ve ark., Vandendriessche ve ark., Ardiç ve ark. ve Çetin ve ark. en sık *ermA* genini saptamışlardır (45, 47, 65, 68,76, 80, 82). Bizim çalışmamızda da en sık *ermA* geni saptanmıştır.

Genel olarak yapılmış çalışmalara bakıldığında *S. aureus* suşlarında *ermB* geni saptanma oranı oldukça düşük olduğu görülmüştür. *ermB* geni streptokoklar ve enterekoklarda ise yaygın olarak bulunur (3, 36). Sarıbaş ve ark. 1 MRSA suşunda, Lina ve ark. 1 MSSA ve 1 MRKNS suşunda *ermB* genini saptamışlardır (35, 45). Bizim çalışmamızda da 4 MRSA suşunda *ermB* geni saptanmıştır.

Çalışmamızda, 23 (%16.9) *S. aureus* izolatu fenotipik olarak eritromisine dirençli saptanmasına rağmen, bu izolatlarda sorgulanan direnç genlerinden hiçbirisi belirlenememiştir. Benzer sonuçlar bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da bildirilmiştir. Eady ve ark. çalışmasında eritromisine dirençli 10 (%4.5) suşta *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA/B*, *ereB* genlerinden hiçbirini saptamadıklarını bildirmişlerdir (38). Sarıbaş ve ark. yaptıkları çalışmada eritromisin dirençli 8 (%6.5) suşta moleküler testlerle araştırılan *erm* genlerini saptamadıklarını bildirmişlerdir (35). Bu izolatlarda araştırılan genlerin dışında makrolid direncine neden olabilecek *ereA/B*, *vat* gibi genlerin bulunmasının olası olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, klindamisine dirençli, eritromisine duyarlı olan 1 MRSA suşunda direnç genleri saptanmamıştır, bu dirençten *linA* geninin sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Eritromisine duyarlı, klindamisine dirençli kökenlerde ilaç inaktivasyon mekanizması (L fenotipi) düşünülmelidir.

Çalışmamızda D-testi negatif olan, MS fenotipindeki 5 suşta *msrA* ve *msrB* genine ilaveten *erm* genlerini de içeren suşlar olduğu görülmüştür. Ülkemizde yapılan tez çalışmalarında ise MS fenotipi gösteren KNS izolatlarında *msr* genlerine ilaveten *erm* genleri bir arada saptanmıştır (83, 84). Bu durum D-test sinerji testi negatif olsa bile bazı suşlarda *erm* genlerinin olabileceğini göstermektedir. Direnç genlerini taşıyan bu suşlarda gen ekspresyonunun hangi mekanizma ile gerçekleştiği henüz tam olarak bilinmediğinden, in vitro olarak duyarlı görünen suşlar in vivo

şartlarda direnç geliştirebilmektedirler. Bu durumdan dolayı klindamisine duyarlı gözükten suşların oluşturduğu enfeksiyonlarda tedavi başarısızlığı görülebilmektedir.

Eritromisine dirençli olduğu halde gen saptanamayan suşlar için Chaieb ve arkadaşları 2007 yılında yaptığı çalışmanın sonuçlarında bu durumu; MLS_B direncinden sorumlu *erm* genlerinin, plazmit üzerinde küçük bir bölgede taşındığından bunların aktarımı sırasında kaybolabileceğini düşündüklerini ve yakın zamanda yapılan çalışmalara göre antimikrobiyal ilaç tedavisinin floradaki bakterilerin biotipini etkileyerek, uzun vadede kolonizasyonu ile dirençli popülasyonların olmasına neden olacağını ifade ederek açıklamaya çalışmışlardır (85).

Çalışmamızda moleküler tiplendirme RAPD PZR yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntemde *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* ve *msrB* genleri pozitif suşlara ayrı ayrı OLP6, OLP11 ve OLP13 primerleri kullanılmıştır. *ermA* pozitif 106 suş arasında 13, *ermC* pozitif 20 suş arasında 5, *msrA* pozitif 15 suş arasında 3 farklı RAPD tipinin olduğu saptanmıştır. Spiliopoulou ve ark. yaptıkları çalışmada klonal tiplendirme için “pulsed-field gel electrophoresis” (PFGE) yöntemini kullanmışlar ve MLS_B direnç genlerine sahip 173 *S. aureus* suşunda tek bir klonal tip hakimiyeti saptamamışlardır (5). Janapatla ve ark. yaptıkları çalışmada, MLS_B direnç genlerine sahip 27 MRSA ve 55 MSSA suşları arasındaki klonal ilişkiyi saptamak için PFGE yöntemini kullanmışlardır. MRSA suşlar arasında 8 farklı tip, MSSA suşlar arasında da 14 farklı tip paterni saptamışlardır. Suşlar arasında tek bir klonal tip hakimiyeti saptamamışlardır (6). Ülkemizde yapılan bir tez çalışmasında da 254 *S. aureus* ve 477 KNS suşları arasındaki klonal ilişkiyi saptamak için RAPD PZR yöntemini kullanmışlardır ve tek bir RAPD tipi hakimiyeti saptamamışlardır (84). Bu çalışmalardaki sonuçlara benzer şekilde, çalışmamızda da *S. aureus*'larda bir veya birkaç RAPD tipinin hakimiyeti gözlenmemiştir. Fakat RAPD analizi sonucu benzerlik oranları yüksek olan suşların, genelde aynı bölümlerden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edildiği bulunmuştur. Çalışmamızda tek bir RAPD tipinin baskınlığı gözlenmemesine rağmen, elde edilen RAPD tipleri kullanılarak bir veritabanı oluşturulduğu takdirde, zamanla gelişebilecek epidemilerde epideminin nereden kaynaklandığı ve nasıl tedbirlerle önlenileceği konusunda faydalı olacağı düşünülmüştür.

MLS_B grubu antibiyotiklerin ülkemizde genel olarak kullanıldığı enfeksiyonlar sıklıkla stafilocokların dışındaki gram pozitif bakterilerin neden olduğu, toplum kaynaklı, komplike olmayan solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Bu tip enfeksiyonlarda MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanımının, florada mevcut stafilocok türlerinde de direnci indüklemesi muhtemeldir. Stafilocok enfeksiyonlarının çoğu, hastanın kendi florasındaki bakterilerden köken almaktadır. Bu şekilde dirençli bir popülasyonun gelişmesi, hastanın kendi florasından kaynaklanabilecek stafilocok enfeksiyonlarının da tedavisinde kullanılabilir bu antibiyotik grubunun kullanımını engelleyecektir.

S. aureus suşlarında makrolid direnç fenotiplerinin belirlenmesi, bu suşların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilir antibiyotiklerin seçimi açısından çok önemlidir. Stafilocokların neden olduğu enfeksiyonlarda önemli bir yeri olan klindamisin direnç durumu bildirilmeden önce MLS_B direnç fenotipi belirlenmelidir. Standart antibiyotik duyarlılık testleri ile iMLS_B direnci gösteren stafilocok suşlarında klindamisin için yanlış duyarlı sonuç verilebileceği için D-test ile iMLS_B direnç varlığının araştırılması oldukça önemlidir. MLS_B direncinin sıklığı ülkeden ülkeye hatta aynı ülkede merkezler, hasta grupları ve bakteri türleri arasında değişiklikler göstermektedir. Direnç mekanizmasının bilinmesi klindamisin ve diğer MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanılabilmesi açısından önemlidir. İndülenebilir klindamisin dirençli bir stafilocok suşu ile oluşan enfeksiyonda klindamisin kullanımı klinik başarısızlığı getirecektir. Buna karşılık, çapraz dirençten çekinilerek MLS_B grubu antibiyotiklerin kullanımından vazgeçilmesi ise enfeksiyon tedavisinde gereksiz yere diğer pahalı antibiyotiklerin devreye sokulması neticesinde maddi kayba, bunun yanı sıra bu antibiyotiklerin yaygın kullanımı neticesinde maruz kalan organizmalarda yeni direnç gelişimine neden olacaktır. Bu nedenle, direnç mekanizmalarının ayrıntılı bir şekilde izlenmesi, hem hasta tedavisinin doğru yönlendirilerek morbidite ve mortalitenin azaltılması, hem de hasta ve ülke ekonomisinin zarara uğratılmaması açısından önemlidir.

Makrolid direnç mekanizmaları, dünya üzerinde belirli bir coğrafi yayılım göstermektedir. Türkiye’de klinik *S. aureus* izolatlarında görülen makrolid direncinden hangi direnç genlerinin sorumlu olduğunu ortaya koyan çalışma sayısı kısıtlıdır. Yerinde ve doğru antibiyotik seçimi için iyi çalışılmış duyarlılık testlerine

ihtiyaç vardır. Direnç görüldüğü takdirde bu direncin gen düzeyinde doğrulanması, ileriye dönük çalışmalarda yönlendirici olacağı kanısındayız.

SONUÇLAR

1. Klinik materyallerden izole edilen 404 *S. aureus* suşu çalışmaya alındı. Suşların % 50.0'ı yara, %14.9'u trakea, %8.4'ü ameliyat materyali, %7.2'si balgam, %6.4'ü kan, %5.4'ü idrar, %3.2'si BAL, %2.2'si konjunktivaya ait örneklerden izole edildi. İzole edilen suşların %41.9'u Cerrahi Bölümlere, %36.9'u Dahili Bölümlere, %10.1'i Yoğun Bakım Ünitesi'ne ve %11.1'i Pediatri Bölümüne aitti.

2. Suşların antibiyotiklere duyarlılıkları değerlendirildiğinde eritromisine %67.8, klindamisine %93.3, kinupristin/dalfopristine %99.5, azitromisine %68.8, klaritromisine %68.0, telitromisine %95.8, gentamisine %69.3, siprofloksasine %64.1, trimetoprim-sülfametoksazole %99.0, penisiline %12.8, tetrasikline %64.1, kloramfenikole %99.0, rifampisine %67.3, moksifloksasine %67.6 oranında duyarlı olduğu saptandı.

3. Çalışmaya alınan 404 *S. aureus* suşunda MLS_B direnci fenotipik olarak belirlendi ve suşların %66.3'ü S fenotipi, % 27.5'i iMLS_B fenotipi, %4.7'si cMLS_B fenotipi ve %1.2'si MS fenotipi olarak saptandı.

4. Çalışmaya alınan 404 *S. aureus* suşun %39.1'i MRSA ve %60.9'u MSSA olarak saptandı.

5. Fenotipik olarak MLS_B direnci pozitif 136 suşta direnç genleri (*ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*) PZR ile belirlendi.

6. *S. aureus* izolatlarında en fazla %77.9 oranında *ermA*, daha sonra sırasıyla %14.7 oranında *ermC*, %11.0 oranında *msrA*, %2.9 oranında *ermB* ve %2.9 oranında *msrB* geni tespit edildi.

7. MS direnç fenotipi gösteren 4 *S. aureus* izolatında *erm* genleri tespit edildi. Bu durum *S. aureus*'larda D-test negatif olsa bile bazı izolatlarda *erm* genlerinin

olabileceği ve buna bağlı olarak da klindamisine duyarlı gözüken bu izolatlarda tedavi başarısızlığı gelişebileceğini gösterdi.

8. Fenotipik olarak dirençli olduğu belirlenen 23 suşta hiçbir direnç geni belirlenemedi. Bu bulgu, bu çalışmada değerlendirilemeyen diğer direnç genlerinin veya dirençten sorumlu olabilecek henüz tanımlanmamış farklı mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir.

9. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla OLP6, OLP11, OLP13 primerleri kullanılarak RAPD PZR yapıldı. Direnç genleri pozitif *S. aureus* izolatları ayrı ayrı değerlendirildi. OLP6, OLP11 ve OLP13 primerleri ile suşlar ayrı ayrı değerlendirildi. OLP11 ve OLP13 primeri ile suşlar arasındaki benzerliğin daha iyi değerlendirildiği saptanmıştır. *ermA* pozitif 106 suş arasında 13 farklı, *ermC* pozitif 20 suş arasında 5 farklı, *msrA* pozitif 15 suş arasında 3 farklı RAPD tipinin olduğu belirlendi.

KAYNAKLAR

1. Uyanık M, Yazgı H, Bilici D, Özden K, Karakoç E. Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* türlerinde makrolid-linkozamid-streptogramin B direncinin araştırılması. *Ankem Derg* 2009;23:66-70.
2. Gönüllü N, Karaköse A, Çatal F, Küçükbasmacı Ö, Altinkum S, Torun M. Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının makrolid ve linkozamid direnç fenotipleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009;39:12-5.
3. Duygu E. Streptokoklarda makrolid, linkozamid, streptogramin B direnci. 6. Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri Program ve Özet kitabı 2004;47:22-28. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:47*.
4. Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, Jorgensen JH. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2003;41:4740-4.
5. Spiliopoulou I, Petinaki E, Papandreou P, Dimitracopoulos G. *erm(C)* is the predominant genetic determinant for the expression of resistance to macrolides among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:814-7.
6. Janapatla R, Yan J, Huang A, Chen H, Wu H, Wu J. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates causing bacteremia at a university hospital in southern Taiwan. *Diagn Microb and Infect Dis* 2007;58:203-9.
7. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2004:9-38.

8. Cengiz AT. *Staphylococcus aureus*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1.Baskı Ustaçelebi Ş. Ankara: Güneş Kitabevi 1999:339-49.
9. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase positive cocci that grow aerobically, “Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8th ed., ASM Press, Washington D.C. 2003: 384-404.
10. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları İzmir: Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları 2000:239-68.
11. Öztürk R. Penisilinler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds.) Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:223-37.
12. Ünal S. *Staphylococcus aureus*: Direnç mekanizmaları. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds.) Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:23-38.
13. Schmitz FJ, Jones ME. Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? Int J Antimicrob Agents 1997;9:1-19.
14. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Gram positive cocci, PartI: Staphylococci and related gram positive cocci. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed. Philadelphia: Lippincott 2006:623-62.
15. Garrity G, Holt JG. Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology: An overview of the road map to the manual. New York: Bergey’s Manual Trust, 2000.
16. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Medical Bacteriology: Taxonomy, Morphology, Physiology, and Virulence. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed. Philadelphia: Lippincott 2006:167-210.

17. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone 2000:2069-92.
18. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS et al. *Staphylococcus* and related organisms. Medical Microbiology 4th ed. St. Louis Mosby Inc, 2002:202-16.
19. Valeva A, Palmer M, Bhakdi S. Staphylococcal exotoxin: formation of the heptameric pore is cooperative and proceeds through multiple intermediate stages. Biochemistry 1997;36:13298-304.
20. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev 2000;13:16-34.
21. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Stafilokoklar ve Benzer Bakteriler. İzmir: Asya Mikrobiyoloji 2005:72-81.
22. Dündar V, Öztürk Dündar D. Stafilokok İnfeksiyonları. In Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2002:1507-16.
23. Usluer G. *Staphylococcus aureus*'un Neden Olduğu İnfeksiyonlar. Usluer G, Ulusoy S, Ünal S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2004:39-52.
24. Dokuzoğuz B. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a bağlı hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Usluer G, Ulusoy S, Ünal S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2004:55-71.
25. Gülay Z. Koagülaz-negatif Stafilokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds.) Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:73-102.

26. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Web Sitesi. Ulusal Hastane Enfeksiyonları Surveyans Kontrol Birimi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. Klinik Örneklerden *Staphylococcus aureus* Tanımlaması ve Metisilin Direncinin Belirlenmesi İçin Laboratuvar Standart Uygulama Prosedürleri. Klinik Örneklerden *Staphylococcus aureus* İdentifikasyonu 2005.
27. Costa AM, Kay I, Palladino S. Rapid Detection of *mecA* and *nuc* Genes in Staphylococci by real-time multiplex polymerase chain reaction. *Diagn Microbiol and Infect Dis* 2005;51:13-7.
28. Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community- associated strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 2006; 193:1495-503.
29. Yalçın AN. Makrolidler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds.). Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:325-33.
30. Joseph DC, Moellering Y, Moellering RC. Antibacterial Agents. In:Murray PR,Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC(eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. ASM press 2003:1039-73.
31. Kayaalp O. Makrolid ve Linkozamid antibiyotikler. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farkoloji, 7. baskı, Ankara: Güneş kitap evi 1994:719-34.
32. Kılıç SS. Linkozamidler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds.). Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003:345-57.
33. Çolakoğlu Ş, Alışkan H, Turunç T, ve ark. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında indüklenebilir klindamisin direnç prevalansı. *Mikrobiyol Bul* 2008;42:407-12.

34. Lewis JS, Jorgensen JH. Inducible clindamycin resistance in Staphylococci: Should clinicians and microbiologists be concerned? *Clin Infect Dis* 2005;40:280-5.
35. Saribaş Z, Tunçkanat F, Pınar A. Prevalence of *erm* genes encoding macrolidelincosamide-streptogramin (MLS) resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital. *Clin Microbiol Infect Dis* 2006;12:797-9.
36. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agent Chemother* 1999;43:2823-30.
37. Malbruny B, Nagai K, Coquemont M, Bozdogan B, Andrasevic AT, Hupkova H, Leclercq R, et al. Resistance to macrolides in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* due to ribosomal mutations. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:935-9.
38. Eady EA, Ross JI, Tipper JL, Walters CE, Cove JH, Noble WC. Distribution of genes encoding erythromycin efflux pump in epidemiologically distinct groups of staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1993;31:211-7.
39. Sutcliffe J, Grebe T, Taitkamradt A, Wondrack L. Detection of erythromycin resistant determinants by PCR. *J Antimicrob Agent Chemother* 1996;40:2562-6.
40. Westh H, Hougaard DM, Vuust J, Rosdahl VT. Prevalance of *erm* gene classes in erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated between 1959 and 1988. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:369-73.
41. Westh H, Hougaard DM, Vuust J, Rosdahl VT. *Erm* genes in erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus* and *coagulase-negative staphylococci*. *APMIS* 1995;103:225-32.

42. Thakker-Varia S, Jenssen WD, Moon-McDermott L, Weinstein MP, Dubin DT. Molecular epidemiology of macrolides-lincosamides-streptogramin B resistance in *Staphylococcus aureus* and *coagulase-negative staphylococci*. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:735-43.
43. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides. *J Clin Infect Dis* 2002;34:482-92.
44. Poole K. Effluks-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:20-51.
45. Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R. Distribution of Genes Encoding Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramins among Staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1062-6.
46. Yücesoy M. Gram Olumlu Bakterilerdeki Direncin Moleküler Temelleri. Yüce A, Çakır N (eds.). *Hastane Enfeksiyonları*. İzmir: Güven Kitapevi 2003:78-86.
47. Martineau F, Picard FJ, Lansac N, Menard C, Roy PH, Ouellette M, et al. Correlation between the resistance genotype determined by multiple PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:231-8.
48. Allignet J, Aubert S, Morvan A, El Solh N. Distribution of genes encoding resistance to streptogramin A and related compounds among *staphylococci* resistant to these antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2523-8.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-First Informational Supplement. Wayne, PA. 2011.

50. Dündar V. Metisiline dirençli stafilokok infeksiyonları. *Klimik Derg* 2000;13:26-7.
51. Kılıç A, Baysallar M, Küçükkaraaslan A, Aydoğan H, Doğancı L. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının kinupristin/dalfopristine in vitro duyarlılığı. *Infek Derg* 2004;18:453-6.
52. Duman Y, Serindağ A, Tekerekoğlu MS. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus*'ların antimikrobiyallere direnç durumu. İnönü Univ Tıp Fak Derg 2009;16:145-8.
53. Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Gazi H. Metisilin dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. *Infek Derg* 2007;21:187-91.
54. Arıdoğan A, Atasever L, Bal C. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri. *Turk Mikrobiyol Cem Derg* 2004;34: 20-3.
55. Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotik direnci. *Ankem Derg* 2003;17:56-9.
56. Levin TP, Suh B, Axelrod P, Truant AL, Fekete T. Potential clindamycin resistance in clindamycin - susceptible, erythromycin - resistant *Staphylococcus aureus*: Report of a clinical failure. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 1222-4.
57. Çetin ES, Güneş H, Kaya S, Arıdoğan BC, Demirci M. Macrolide-lincosamide streptogramin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:364-8.
58. Fernandes JC, O'Sullivan MVN, Cai Y, et al. Agar dilution method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2007;40:18-20.

59. Adrian MZ, Ferraro MJ, Glennen A, et al. Selection of strains quality assessment of the disk induction method for detection of inducible clindamycin resistance in staphylococci: a CLSI collaborative study. *J Clin Microbiol* 2005;26:13-5.
60. Schreckenberger PC, Ilendo E, Ristow KL. Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase - negative staphylococci in a community and a tertiary care hospital. *J Clin Microbiol* 2004;42:2777-9.
61. Otsuka T, Zaraket H, Takano T, Saito K, Dohmae S, Higuchi W, et al. Macrolide – lincosamide - streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:325-7.
62. Siberry GK, Tekle T, Carroll K, Dick J. Failure of clindamycin treatment of methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro. *Clin Infect Dis* 2003;37:1257-60.
63. Patel M, Waites KB, Moser SA, Cloud GA, Hoesley CJ. Prevalence of inducible clindamycin resistance among community- and hospital-associated *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2006;44:2481-4.
64. Fokas S, Tsironi M, Kalkani M, Dionysopouloy M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus spp.* *Clin Microbiol Infect* 2005;11:337-40.
65. Schmitz FJ, Sadurski R, Kray A. Prevalence of macrolide – resistance genes in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* isolates from 24 European university hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:891-4.

66. Azap OK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruc E, Gagir U. Incidence of inducible clindamycin resistance in staphylococci: First results from Turkey. Clin Microbiol Infect 2005;11:582-4.
67. Yılmaz G, Aydın K, Iskender S, Caylan R, Koksall I. Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci. J Med Microbiol 2007;56:342-5.
68. Gül HC, Kılıc A, Guclu AU, Bedir O, Orhon M, Başustaoğlu AC. Macrolide - Lincosamide - Streptogramin B resistant phenotypes and genotypes for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. Polish J Microbiol 2008;57:307-12.
69. Juyal D, Pal S, Sharma MK, Prakash R, Sharma N. The prevalence of inducible clindamycin resistance among staphylococci in a tertiary care hospital-a study from the Garhwal Hills of Uttarakhand, India. J Clin Diagn Res 2013;7:61-5.
70. Seifi N, Kahani N, Askari E, Mahdipour S, Naderi Nasab M. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Mashhad, Iran. Iran J Microbiol 2012;4:82-6.
71. Prabhu K, Rao S, Rao V. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. J Lab Physicians 2011;3:25-7.
72. Sarıbaş Z, Tunçkanat F, Özçakır O, Ercis S. Stafilokok klinik izolatlarında Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLS_B) ve telitromisin direncinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2010;44:177-86.
73. Delialioğlu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. Jpn J Infect Dis 2005;58:104-6.

74. Dogruman Al F, Akça G, Aykan B, Sipahi AB, Çağlar K. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında kinupristin/dalfopristin, linezolid duyarlılıkları ve makrolid – linkozamid – streptogramin B direnci. *Infek Derg* 2008;22:153-63.
75. Dinç BM, Karabiber N, Arca EA. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarında makrolid – linkozamid – streptogramin B direnci ve fusidik asit duyarlılığı. *Turk Hijy Deny Biol Derg* 2009;66:89-94.
76. Vandendriessche S, Kadlec K, Schwarz S, Denis O. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* ST398-t571 harbouring the macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance gene *erm*(T) in Belgian hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:2455-9.
77. Lim J, Kwon A, Kim S, Chong Y, Lee K, Choi E. Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital. *Int J Antimicrob Agents* 2002;49:489-95.
78. Gherardi G, de Florio L, Lorino G, Fico L, Dicuonzo G. Macrolide resistance genotypes and phenotypes among erythromycin-resistant clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, Italy. *FEMS Med Microbiol Immunol* 2009;55:62-7.
79. Coutinho VLS, Paiva PM, Reiter KC, Paris F, Barth AL, Beatriz A, et al. Distribution of *erm* genes and low prevalence of inducible resistance to clindamycin among staphylococci isolates. *Brazil J Infect Dis* 2010;14:564-8.
80. Ardic N, Ozyurt M, Sareyyupoğlu B, Haznedaroğlu T. Investigation of erythromycin and tetracycline resistance genes in methicillin resistant staphylococci. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26:213-8.

81. Aktaş Z, Arıdoğan A, Kayacan CB, Aydın D. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey. J Microbiol 2007;45:286-90.
82. Çetin ES, Güneş H, Kaya S, Arıdoğan BC, Demirci M. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin among clinical staphylococcal isolates in a Turkish university hospital. Microbiol Immunol Infect 2010;43:524-9.
83. Kaya I. Koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilocok suşlarında makrolid, linkozamid, streptogramin B (MLSB) grubu antibiyotiklere direncin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2011.
84. Balaman N. Klinik materyallerden izole edilen stafilocoklarda makrolid, linkozamid ve streptogramin B direnci sıklığının disk yaklaşırma testi ve moleküler yöntemler kullanılarak araştırılması (Doktora Tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi; 2008.
85. Chaieb K, Zmantar T, Chehab O, Bouchami O, Hasen AB, Mahdouani K, et al. Antibiotic resistance genes detected by multiplex PCR assays in *Staphylococcus epidermidis* strains isolate from dialysis fluid and deedless in a dialysis service. Jpn J Infect Dis 2007;60:183-7.