



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2014-0002

**DERMATOFİTOZ ŞÜPHELİ KÖPEKLERDE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN ROLÜ**

Vet. Hek. Aylin AKTAŞ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA

AYDIN - 2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2014-0002**

**DERMATOFİTOZ ŞÜPHELİ KÖPEKLERDE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN ROLÜ**

Vet. Hek. Aylin AKTAŞ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA**

AYDIN - 2014

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Vet. Hek. Aylin AKTAŞ tarafından hazırlanan “**Dermatofitoz Şüpheli Köpeklerde *Staphylococcus aureus*’un Rolü**” başlıklı tez, 16/01/2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

1- Prof. Dr. Osman KAYA

2- Prof. Dr. Hakan YARDIMCI

3- Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniv.

Ankara Üniv.

Adnan Menderes Üniv.

İmzası:



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Stafilokoklar 100 yılı aşkın bir süredir infeksiyon etkeni olarak tıp dünyasında söz konusu olan bir mikroorganizmadır. Doğada çok yaygın olarak bulunan Gram pozitif bakterilerdir. Fizyolojik olmayan çevre koşullarına uzun süre dayanabilirler, yüksek tuz ve lipid içeren ortamlarda üreyebilirler. Fırsatçı patojen karaktere sahip olan bu etkenler, hayvanın stres altında kalması ve her türlü yaralanma sonucunda etkenin aktive olmasına ya da açılan port antrelerden vücuda girmesine sebep olur. İnsan ve hayvanlarda farklı klinik tablolarla seyreden hastalıklara neden olurlar. Stafilokoklar deri, yumuşak doku, yara infeksiyonu ve besin zehirlenmesi gibi tablolardan osteomyelit, septik artrit, pnömoni ve endokardite uzanan geniş bir infeksiyon yelpazesine sahiptirler. Bu bakterilerden etken olarak en sık rastlanılanı *S. aureus*'tur. *S. aureus*'u diğerlerinden ayıran en önemli özellik koagulaz pozitif olmasıdır. *S. aureus* insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanılan, virulansı yüksek bir mikroorganizmadır. Stafilokok türleri genel olarak birçok antibakteriyele karşı duyarlı olmalarına karşın antibiyotik dirençliliği, zamana bağlı olarak artmaktadır.

Yüksek antibiyotik direnci, tedavi başarısını azaltırken, hastaların mortalite, morbidite ve hastanede yatış sürelerinin artışına neden olmaktadır. *S. aureus* virulansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Köpeklerde neden olduğu deri hastalıklarının başında piyoderma gelmektedir. Dermatofit ve çeşitli deri enfeksiyonlarında etkili olduğu düşünülmektedir. Dermatofit etkenleri asıl kaynağı toprak olan özel bir grup küf mantarı olup, insan ve hayvanlarda deri, kıl ve tırnakları infekte ederek "dermatofitoz" olarak tanımlanan çeşitli kutanöz infeksiyonları oluştururlar. Bu etkenlerin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği infeksiyona 'Ringworm' da denilmektedir.

Sonuç olarak, *Staphylococcus aureus*, insan sağlığı için önemli bir patojendir. Hayatı tehdit eden nazokomiyal infeksiyonlardan en sık izole edilen etkenlerin başında gelmektedir. Ciddi ve hayatı tehdit edici infeksiyonlar başta olmak üzere (toksik şok sendromu, solunum sistemi infeksiyonları, endokardit, tromboflebit, besin zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, menenjit, sepsis, bakteriyemi) birçok vücut bölgesindeki bakteriyel yangılardan da sıklıkla izole edilmektedirler. Eksfoliyatif toksin, stafilokok infeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya çıkmıştır. Haşlanmış deri sendromu da bu toksinler oluşur.

Araştırmamızda, dermatofitoz şüpheli deri lezyonu olan köpeklerden izole edilmiş olan *Staphylococcus aureus* suşlarının dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tanım	3
1.2. Sınıflandırma	3
1.3. Morfoloji	7
1.4. Kültür Özellikleri	8
1.5. Virulans ve Patojenite	9
1.5.1. Hücre Duvarı	11
1.5.2. Kapsül ve Slime Tabakası	11
1.5.3. Peptidoglikan	12
1.5.4. Penisilin Bağlayan Protein (PBP)	12
1.5.5. Teikoik Asit	12
1.5.6. Protein-A	13
1.5.7. Koagulaz ve Diğer Yüzey Adezyon Proteinleri	13
1.6. Stafilokokların Enzimleri	14
1.6.1. Koagulaz	14
1.6.2. Katalaz	14
1.6.3. Hyalüronidaz	15
1.6.4. Fibrinolizin	15
1.6.5. Lipaz	15
1.6.6. Nükleazlar	15
1.6.7. Laktamazlar	16
1.7. İmmunite	19
1.8. Toksinler	19
1.8.1. Alfa Toksin	19
1.8.2. Beta Toksin	20
1.8.3. Delta Toksin	20

1.8.4. Gama Toksin ve Panton-Valentine (PV) Lökosidin	20
1.8.5. Eksfoliyatif Toksin (Eksfoliyatin)	21
1.8.6. Enterotoksinler	21
1.8.7. Toksik Şok Sendrom Toksin-1 (TSST-1)	22
1.9. <i>S. aureus</i> İdentifikasyonu	22
1.9.1. Koagulaz Testi	22
1.9.2. Lam Koagulaz Testi	23
1.9.3. Tüp Koagulaz	23
1.9.4. Mannitol Fermentasyonu	24
1.9.5. Basitrasin Direnci	24
1.9.6. Novobiocin Direnci	24
1.9.7. Glukoz Fermentasyonu Deneyi	24
1.9.8. Amplifikasyon ve Dizi Analizi	24
1.9.9. Lateks Aglütinasyon	25
1.9.10. Pasif Hemaglütinasyon	25
1.10. Epidemiyoloji	25
1.11. Antibiyotik Dirençliliği	27
1.12. Stafilokoklarda Metisilin Direncinin Mekanizmaları	29
1.12.1. mec DNA	29
1.12.1.1. mecA	29
1.12.1.2. mecI ve mecR1	30
1.12.2. Metisilin Dirençlilik Çeşitleri	31
1.12.2.1. İntrinsik Metisilin Direnci	31
1.12.2.2 “Borderline” Metisilin Direnci	32
1.12.2.3. “Intermediate” Metisilin Direnci	33
1.12.3. Metisilin Direncinin Düzenlenmesi	33
1.12.3.1. İç Faktörler	34
1.12.3.2. Dış Faktörler	35
1.13. Patogenez	35
1.14. Stafilokokların Dermatitislere Etkisi	37
1.15. Piyoderma	38
1.15.1. Yüzeysel Piyoderma	39
1.15.2. Piyotravmatik Dermatit (Akut Islak Dermatit)	39

1.15.3. Intertrigo Kompleksi	39
1.15.4. Derin Piyoderma	40
2. GEREÇ VE YÖNTEM	41
2. 1. Gereç	41
2. 1. 1. İzolasyon Örnekleri	41
2.1.2. Besiyerleri, Ayıraçlar, Solusyonlar ve Antibiyotik Diskleri	41
2.1.2.1. Besiyerleri	41
2.1.2.1.1. Blood Agar (Merck 1. 10886)	41
2.1.2.1.2. Mannitol Salt Phenol Red Agar (MSA) (Merck 1.05404)	42
2.1.2.1.3. Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid CM 129)	42
2.1.2.1.4. Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (% 20 Gliserinli) (Oxoid CM 0225)	42
2.1.2.1.5. Trypton Soya Broth (TSB) (% 7,5 Tuzlu) (Oxoid CM 129)	43
2.1.2.1.6. Stuart Transport Medium (Taşıma solusyonlu besiyeri) (BBL™)	43
2.1.2.1.7. DNase Test Agar (Merck 1.10449)	43
2.1.2.1.8. %4 Sabouraud Dextrose Agar	44
2.2. Yöntem	44
2.2.1. Örneklerin Alınması	44
2.2.2. <i>S. aureus</i> İzolasyonu	45
2.2.2.1. Fenotipik İdentifikasyon	45
2.2.2.1.1. Katalaz Testi	45
2.2.2.1.2. Basitrasin Duyarlılık Testi	45
2.2.2.1.3. Koagulaz Testi	45
2.2.2.1.4. Mannitol Fermentasyonu	46
2.2.2.1.5. Glukoz Fermentasyonu	46
2.2.2.1.6. DNase Testi	46
2.2.3. Antibiyotik Diskleri	46
2.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi	47
3. BULGULAR	48
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	48
3.2. Antibiyogram Bulguları	49
4. TARTIŞMA	51
5. SONUÇ	57

ÖZET	58
SUMMARY	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	67
TEŞEKKÜR	68

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Micrococcaceae Ailesinin Ayrımı	4
Çizelge 1.2.	Stafilokok Tür ve Alt Türleri İle Tanımlandıkları Konaklar	5
Çizelge 1.3.	<i>S. aureus</i> 'un virulans faktörleri	16
Çizelge 3.1.	Saptanan <i>S. aureus</i> suşlarının cinsiyet ve ırka göre dağılımı	48
Çizelge 3.2.	Kullanılan antibiyotiklerin etki derecelerine göre inhibisyon zon sınırları	49
Çizelge 3.3.	Antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılım oranı	50

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. *Staphylococcus aureus*'un mikroskopik ve kanlı agarda görünümü 7

1. GİRİŞ

Stafilokoklar 100 yılı aşkın bir süredir infeksiyon etkeni olarak tıp dünyasında söz konusu olan bir mikroorganizmadır. 1860 yılında İngiliz cerrah Joseph Lister, Louis Pasteur'un infeksiyon ajanları üzerinde yaptığı çalışmalardan etkilenerek ameliyat sonrası infeksiyonun önlenmesinde karbolik asiti yara ve cerrahi örtülere direkt kullanmıştır (Waldvogel ve ark 2000).

Stafilokokları ilk kez 1878'de Robert Koch tanımlamış, 1880 yılında İskoçyalı bir cerrah olan Alexander Ogston, insanlarda çeşitli piyojenik hastalıkların etkeni olarak tespit ettiği salkım şeklindeki kokları göstermiştir (Archer 1990). Ogston bu mikroorganizmayı Staphylococcus olarak isimlendirmiştir. 1880'de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiş ve 1881'de İskoçyalı cerrah Alexander Ogston fare ve kobaylar için patojen olduğunu vurgulamıştır (Waldvogel ve ark 2000).

İlk kez 1884'de Rosenbach tarafından hastalık örneklerinden izole edilmiştir. Stafilokokları saf kültür olarak üreten ve onların karakteristikleri üzerinde ilk laboratuvar çalışmalarını yapan kişidir. Hasta örneklerinden bu mikroorganizmaları izole etmiş ve beyaz renkli kolonileri "*Staphylococcus albus*", sarı-portakal rengi kolonileri ise "*Staphylococcus aureus*" olarak isimlendirilmiştir. Ogston irinli yaralardan elde ettiği stafilokokları farelere enjekte etmiş ve irinli yaraların oluşması da dahil olmak üzere bazı semptomların geliştiğini gözlemlemiştir. Enjeksiyon öncesi ısı işlemi uygulanan veya fenol ile muamele edilen irinden elde edilen kültürün, hastalık oluşturmadığını gözlemlemiştir (Cengiz 1999).

Bakterinin Kraus ve Clairmont tarafından 1900'da alfa toksini, Glenny ve Stevens tarafından 1935'te beta toksini bulunmuştur. Smith ve Price 1938'de gama toksin ve Williams ile Harper 1947'de delta toksin varlığını açıklamışlardır. Todd ve arkadaşları

tarafından 1978’de yeni bir hastalık olarak “Toksik Şok Sendromu” tanımlanmıştır (Akçam ve ark 2007).

Fleming’in 1928 yılında Penisilin’i bulmasına kadar Stafilokoklar ağır seyirli ve hatta ölümlü sonuçlanabilen tedavisi sorunlu infeksiyonlara sebep oluyordu. Stafilokok tedavisinde ilk adım, 1940 yılında Oxford’da Florey, Chain ve arkadaşları tarafından Penicillium kültürlerinden Penisilin’in saflaştırılmasıyla atılmıştır. Fakat penisilin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra penisiline dirençli stafilokoklar görülmeye başlanmıştır (Devriese ve ark 1975).

1960 yılında metisilin ve diğer penisilinaza dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle birlikte stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama daha kaydedilmiştir. Ancak 1961 yılında stafilokok suşlarında metisilin direnci de tanımlanmış ve 1970’li yıllardan itibaren de metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci problemi ortaya çıkmıştır. Direnç probleminin ortaya çıkması ile MRSA tüm dünyada nazokomiyal epidemilere yol açan ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Devriese 1975, Hartmann ve ark 1997).

Metisilin dirençli Stafilokokların, metisiline duyarlı saptanması tedavi başarısızlıklarına neden olmaktadır. Benzer şekilde metisiline duyarlı stafilokokların da dirençli olarak tanımlanması gereksiz yere glikopeptid antibiyotiklerin kullanılmasına yol açmaktadır. Son yıllarda Vankomisine orta derecede duyarlı *Staphylococcus aureus* (VRSA) suşlarının da rapor edilmesiyle bu konuda klinik önemi arttırmaktadır (Anonim 2).

İlk kez 1995 yılında Fransa’da vankomisine azalmış duyarlılık gösteren *S. aureus* (VISA), 1996’da Japonya’da hetero-VISA ve sonunda 2002 yılında A.B.D’de vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) suşlarının saptanması ile Stafilokoklarda çoğul antimikrobiyal direnç sorunu daha da ciddi hale gelmiştir (Baddour ve ark 2007).

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

1.1. Tanım

Stafilokoklar, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin son baskısında Staphylococcaceae familyasında yer alırlar. Staphylococcus genusu, Eubacteriales takımının, Micrococcaceae familyasına ait mikroorganizmalardır. Staphylococcus cinsi " Micrococcus", "Stomatococcus" ve "Planococcus" cinsleriyle birlikte aynı familyada yer alır. Yunancada bir salkım üzüm anlamına gelen "staphyle" (üzüm salkımı) ve coccus (tane) sözcüklerinden üretilmiştir. Stafilokoklar gram pozitif kokların üzüm tanelerinin kümelenmesine benzer şekildeki üremesini ifade etmek için kullanılır. Fakat klinik materyallerde bu mikroorganizma tek, çift veya kısa zincirler halinde de görülebilir (Bilgehan 2004).

1.2. Sınıflandırma

Staphylococcus genusu, Eubacteriales takımının Micrococcaceae familyası içinde yer alan, katalaz pozitif, Gram (+) koklardır. Stafilokok cinsi içinde 28 tür ve 32 alt tür bulunmaktadır. Bakteriyel taksonomide Firmicutes kolunda yer alırlar. Yeni toksinlerin bulunması sebebiyle bu sınıflandırma sıklıkla yenilenmektedir. Grubun en önemli üyesi koagulaz pozitif ve termostabil nukleaz (termonukleaz) pozitif bir bakteri olan *S. aureus*'dur. Stafilokoklar Macrooccus, Jeotgalicoccus, ve Salinicoccusgenuslarıyla birlikte Bacillus sınıfı Bacillales cinsi Staphylococcaceae familyası içinde yer alırlar (Bilgehan 2004).

Çizelge 1.1. Micrococcaceae Ailesinin Ayrımı (Lister 2000, Marples ve ark 1988, Kotilainen 1990).

	Mikrococcus	Staphylococcus	Rothia(Stomatococcus)
Katalaz	Pozitif	Pozitif	Zayıf Pozitif
Oksidaz	Pozitif	Negatif	Negatif
Yapışkan koloniler	Negatif	Negatif	Pozitif

Günümüzde hızlı tanı amacıyla, Micro Scan (Patrick ve ark 1990), API Staph Ident (Golmann 1990) gibi biyokimyasal testleri esas alan ticari sistemler mevcuttur. Bu şemaların yanısıra DNA hibridizasyonu, faj tiplendirmesi, plazmid profil analizi, restriksiyon enzim analizleri, izofonksiyonel enzimlerin elektroforetik karşılaştırılması (Mc Taggart ve ark 1989), bakteriyolojik aktivite paternleri, antibiyotik duyarlılık paternleri (Gemmell ve ark 1982) gibi yöntemlerle de tiplendirme yapılmaktadır.

Stafilokok türleri DNA/DNA ilişkileri ve fenotipik özelliklerine göre en az dört grup altında toplanabilirler.

Birinci grupta (*Staphylococcus epidermidis* grubunda); *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* ve *S. saccharolyticus* türleri,

İkinci grupta (*Staphylococcus saprophyticus* grubunda); *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* türleri,

Üçüncü grupta (*Staphylococcus simulans* grubunda); *S. simulans*, *S. carnosus* türleri,

Dördüncü grupta (*Staphylococcus sciure* grubunda); *S. sciure*, *S. lentus* türleri yer almaktadır.

S. aureus, *S. auricularis*, *S. intermedius*, *S. hyicus* ve *S. caseolyticus* herhangi bir gruba sokulamamıştır. Fırsatçı patojenler olan *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* da

sıklıkla enfeksiyona sebep olurlar. Daha nadiren *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *S. cohnii* ve *S. simulans* da fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır (Bilgehan 2004).

Çizelge 1.2. Stafilokok Tür ve Alt Türleri ile Tanımlandıkları Konaklar (Lister 2000).

TÜRLER ve ALT TÜRLER	KONAKLAR
<i>Staphylococcus aureus</i>	İnsan, memeli türleri, kus
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	İnsan, evcil hayvanlar
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	İnsan, memeli türleri
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	İnsan, evcil hayvanlar, maymun türleri
<i>Staphylococcus warneri</i>	İnsan, evcil hayvanlar, maymun türleri
<i>Staphylococcus hominis</i>	İnsan
<i>Staphylococcus simulans</i>	İnsan, memeli türleri
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	İnsan
<i>Staphylococcus capitis</i>	
<i>S.capitis subsp. capitis</i>	İnsan
<i>S.capitis subsp. ureolyticus</i>	İnsan ,maymun türleri
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	
<i>S.schleiferi subsp. schleiferi</i>	İnsan
<i>S.schleiferi subsp.coagulans</i>	Köpek

<i>Staphylococcus pasteurii</i>	İnsan ve memeli türleri
<i>Staphylococcus auricularis</i>	İnsan ve maymun türleri
<i>Staphylococcus cohnii</i> <i>S. cohnii subsp. cohnii</i> <i>S. cohnii subsp. ureolyticum</i>	İnsan ve maymun türleri
<i>Staphylococcus xylosum</i>	İnsan, memeli türleri, kuş
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	İnsan
<i>Staphylococcus caprae</i>	İnsan, keçi
<i>Staphylococcus pulvereri</i>	İnsan, tavuk
<i>Staphylococcus intermedius</i>	Memeli türleri, kuş
<i>Staphylococcus hyicus</i>	Domuz, keçi, sığır
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	Sığır, at, keçi
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Memeli türleri, kuş
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Kümes hayvanları, kuş
<i>Staphylococcus lentus</i>	Evcil hayvanlar, yunus
<i>Staphylococcus felis</i>	Kedi
<i>Staphylococcus muscae</i>	Evcil hayvanlar
<i>Staphylococcus piscifermentus</i>	Balıklar

<i>Staphylococcus vitilus</i>	Memeli türleri, balina, et ürünleri
<i>Staphylococcus equorum</i>	At
<i>Staphylococcus dephini</i>	Balık
<i>Staphylococcus carnosus</i>	Et ve balık ürünleri
<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	Süt ve süt ürünleri, balina, sığır
<i>Staphylococcus kloosii</i>	Memeli türleri
<i>Staphylococcus arlettae</i>	Memeli türleri, kuş

1.3. Morfoloji



Şekil 1.1. *Staphylococcus aureus*'un mikroskopik ve kanlı agarda görünümü (Anonim 1)

Stafilokoklar yuvarlak şekilli 0.5-1.5 µm çapında, hareketsiz, sporsuz, kısa zincirler ya da düzensiz kümeler oluşturan küresel şekle sahip Gram pozitif boyanan mikroorganizmalardır (Bilgehan 2004). Katalaz pozitif olup, optimal üreme ısıları 30-37 derecedir. Tekli, ikili, dörtlü hücreler halinde bulunabilirler, üç veya dört hücreden oluşan kısa zincirler yapabilirler ve düzensiz üzüm salkımı benzeri şekiller oluştururlar. Daha çok aerop üremeyi tercih ederler. Anaerobik ortamda glukozdan asit oluştururlar. Nispeten düşük su aktivitesi değerleri olan aw 0.83 üreme ve aw 0.85 toksin oluşturma yetenekleri

için limit değerlerdir (Marples ve ark 1988). Hücreler tek veya çiftler halinde veya üzüm benzeri salkımlar halinde form oluştururlar (Lister 2000).

Stafilokokal DNA düşük oranda Guanin ve Sitozin (G+C) içerir. G+C içeriği % 30-39 mol arasındadır. Bununla beraber *Micrococcus* soyu üyeleri % 68-74 mol arasında G+C içerirler. Stafilokokal hücre duvarı yapısı tipik Gram pozitif mikroorganizma yapısında olup kalındır (30-60 nm). *S. aureus*'un hücre duvarı kalınlığı 120 nm'nin üzerine de çıkabilir. Hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit ve proteinlerden oluşmuştur. Bu komponentlerden proteinler ökaryotik hücrelere bağlanma ve adezyon için önemli fibronektin, fibrinojen, laminin ve kollagen içerirler. Adezyon proteinlerinin bağlanması ile dokulara bakteriyel tutunma mekanizması gerçekleşmiş olur. Antijenik proteinlerden en çok çalışılmış olanı Protein A'dır ve *S. aureus* suşlarının % 90-98'inde mevcuttur (Kotilainen 1990).

Sporsuz bakteriler içerisinde dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı en fazla dayanabilen bakterilerdir. Kültürlerde, + 4 ° C'de 2-3 ay, - 20 °C'de 3-6 ay kadar canlı kalabilirler. Stafilokok türleri 60 °C'de ancak yarım saatte, % 2'lik fenolde 15 dakikada inaktive olup, % 9'luk sodyum klorüre ve sakkarozaya direnç gösterebilmektedirler (Lister 2000, Marples ve ark 1988, Kotilainen 1990).

1.4. Kültür Özellikleri

Stafilokoklar basit besi yerlerinde üreyebilirler. 18-24 saat içinde türe göre değişmekle beraber altın sarısı pigmentli "S" tipli koloniler oluştururlar (Akan 2006).

Yeni kültürlerde Gram pozitif olup, eskidikçe negatife dönüşebilirler. Laboratuvarada adi besi yerlerinde, aerob veya anaerob koşullarda kolayca üreyebilirler. 10-42 derecelerde üreyebilmelerine rağmen, optimum üreme derecesi 37 derecedir. Sıvı besi yerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalırlar. Katı besi yerlerinde 1-2 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Patojen stafilokoklar kanlı agarda hemoliz yaparlar, kan

plazmasını da koagüle ederler. MacConkey agarda da ürerler. Patojenik olanlar pembemsi-sarı, patojen olmayanlar kırmızı- menekşe koloniler oluştururlar. Anilin boyaları ile iyi boyanırlar (Akan 2006).

Stafilokoklar, sporsuz bakteriler içerisinde, dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı, en fazla dayanıklı olanlardandır. Kültürlerde 4 derecede 2-3 ay, -20 derecede 3-6 ay kadar canlı kalabilirler. 60 derecede yarım saatte. % 2 'lik fenolde 15 dakikada inaktive olurlar. Çoğu % 7,5-10 NaCl içeren basit besiyerlerinde, 18-45°C'de kolaylıkla ürerler. Birçok türünde karotenoid pigment bulunabilir (Waldvogel 2000, Bilgehan 2004). Basitrasin, furazolidon, lizostafine duyarlı olmakla birlikte lizozime direnç gösterirler. Gram (+) görünümünde olan streptokokların stafilokoklardan laboratuvar ayırımındaki en önemli fark streptokokların katalaz enzimi üretmemeleridir (Tünger 2004).

Stafilokoklara laboratuvarlarda yapılacak en önemli invitro test plazma koagülaz testidir. Bunun yanında kümeleştirici faktör (clumping factor) de araştırılabilir. Antijenik yapı olarak serbest koagülazdan farklı olması testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagülaz açısından tüp testi ile de kontrolü gerekmektedir (Marples ve ark 1988, Kotilainen 1990).

1.5. Virulans ve Patojenite

S. aureus virulansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Ancak infeksiyon olup olmaması mikroorganizmanın virulansı ile konak savunma sisteminin oluşturacakları dengeye bağlıdır. Stafilokokların virulansında rol oynayan faktörler hücre duvar yapıları, kapsül, yüzey proteinleri, toksinleri ve enzimleridir (Akan 2006).

Stafilokoklar memelilerin derisinde geçici kontaminant olabilirler, kısa süre kalıcı olabilirler ya da uzun süre kolonize olabilirler. Çoğu enfeksiyonlar deri ya da mukoz membranların çeşitli yollarla zedelenmesi sonucu oluşur. Stafilokok enfeksiyonları sıklıkla keratinize, mukozal ya da konjunktival epitel bariyerlerinde bozulma ile başlar ve kateter,

dikiş ipliği ve hatta debris dibi yabancı cisimler infeksiyonun ortaya çıkmasını kolaylaştırır (Akan 2006).

Evcil hayvanlar için stafilokokların virulansı hemen daima birden fazla faktöre bağlıdır, fakat hayvan konakları ile etkileşim genellikle birkaç adımı kapsar. Onlar organizmanın temel adhezinlerini içeren adhezif matriks moleküllerini tanıyan mikrobik yüzey bileşenleri üretirler ve kollajeni bağlayan protein, fibronektini bağlayan proteinler, fibrojeni bağlayan protein, elastini bağlayan protein, kümelenme faktörü ve matriks adezyon faktörü içerir. Diğer 12 yüzey proteini kadar çok membran bağlantı alanı içerebilir ve büyük olasılıkla MSCRAMMs olarak nitelendirilebilir. Virülansta rol oynadıkları varsayılabilir ancak evcil hayvanların infeksiyonları için doğrulanmamıştır (Leonard ve ark 2008).

Stafilokoklar nötrofiller tarafından öldürülür, bu nedenle virulansla ilişkili birçok özellikleri hücre içi öldürme ya da fagositozdan kurtulma üzerine odaklanmıştır. Bu durum büyük oranla protein ve kapsül üretimi ile sağlanmaktadır. 12 immunotip halinde üretilen kapsüller, antifagositiktir ve tip 1'e ait olanlar virulansı artırma ile ilgilidirler. Tip 1 makrokapsül oluşturmeyen suşlar polisakkarid bir mikrokapsül oluşturabilirler; kapsülsüz suşlar fagositoza büyük ölçüde daha duyarlıdır ve in vivo örneklerde daha az virulansdır. *S. aureus* suşlarının çok büyük çoğunluğunun üzerinde bulunan protein A fagositoz için opsonizasyon derecesini sınırlandırarak immunglobulinlere Fc kısımları ile bağlanır. Mutantlar bazı in vivo sistemlerde virulansı azaltmışlardır. Benzer şekilde teikoik asitler ve peptidoglikan parçaları, normalde bakteri yüzeyinde yerleşmek için hazır bulunacak olan kompleman bileşenlerini serbest çözeltiliye salan kompleman etkisini önleyen antijenler olarak rol oynayabilirler. Bu bakteri yaklaşımına karşı iki taraflı konak yanıtı vardır; bunlar kompleman aktivasyonuna klasik ya da alternatif yollarla yol açan konak faktörleri ile peptidoglikanın karşılıklı etkileşimi ve nötrofil kemotaksisidir (Leonard ve ark 2008).

1.5.1. Hücre Duvarı

Protein A, peptidoglikan ve teikoik asit kompleksinden oluşmuştur. Fagositoza karşı bakterinin direncini artırır. Protein A, immunolojik ve teşhis yönünden önem taşır. Hücre duvarının önemli bir kısmını da peptidoglikan maddesi teşkil eder. Hücre duvarındaki polisakkarit kompleksi olan peptidoglikan tabakası ve sitoplazmik membranla bağlantıları bulunan teikoik asit yer almaktadır. Bu polisakkarit, stafilokok türlerine göre ayrı özellik gösterir (Akan 2006).

Protein, lipid ve karbonhidrat kompleksi bir yapıya sahip olan sitoplazmik membran hücreye girip çıkan maddeleri kontrol eder. Aynı zamanda solunum ve biyosentetik enzimleri de bünyesinde bulundurur (Akan 2006).

Peptidoglikan tabaka makrofajlardan sitokin salınımını uyarır, komplemanın aktivasyonuna yol açar ve trombosit agregasyonuna neden olur. Sadece Gram (+) bakterilerde bulunan teikoik asit stafilokokların hücre duvarında da yer alır ve mukozalarda bulunan özgül reseptörleri ile birleşerek stafilokokların konağa aderansını sağlar (Tünger 2004).

1.5.2. Kapsül ve Slime Tabakası

Stafilokokların hücre duvarının en dış tabakası polisakkarit bir kapsül ile örtülebilmektedir. *S. aureus*'da 11 kapsül serotip tanımlanmaktadır. İnfeksiyonların çoğu serotip 5 ve 7 ile ilişkilidir. Serotip 1 ve 2 çok kalın bir kapsüle sahiptir ve mukoid görünümlü koloniler oluşturur. Kapsül, bakteriyi fagositozdan korur ve kateterler gibi yabancı cisimlere aderansını sağlar (Tünger 2004).

Genetik faktörler ve üreme ortamlarına bağlı olarak, çoğu Stafilokoklar tarafından monosakkarit, protein ve küçük peptidlerin oluşturduğu, suda çözünebilir, gevşek bağlı ince bir tabaka (slime tabakası) üretilir. Bu ekstrasellüler yapı bakteriyi dokulara ve

kateter, greft, protez kapak, protez eklem ve şant gibi yabancı cisimlere bağlar. Bu da özellikle kısmen avirulant Koagulaz Negatif Stafilokoklar'ın hayatta kalması için önemlidir (Muray ve ark 2005).

1.5.3. Peptidoglikan

Gram (+) bakteriler için en genel özellik, hücre duvarı ağırlığının yarısını peptidoglikan tabakasının oluşturmasıdır. Glikan zincirlerin tabakalarından oluşan peptidoglikan iskelet N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukozaminin 10-12 değişken subünitesinden meydana gelir. N-asetilmuramik asit subünitlerine bağlanan oligopeptid yan zincirler pentaglisin köprüleriyle çapraz bağlanırlar. Gram (-) bakterilerin aksine, Gram (+) bakterilerde peptidoglikan tabaka hücre duvarını daha rijit yapan birçok çapraz bağlı tabakadan meydana gelir (Muray ve ark 2005).

1.5.4. Penisilin Bağlayan Protein (PBP)

PBP'ler hücre duvarında bulunan, transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz gibi enzimlerdir. Bu enzimler bakterinin büyüme ve bölünmesi sırasında hücre duvarının bir araya gelmesi ve şekil almasından sorumludurlar. Bakteriler yapıları birbirine benzer dört ayrı özellikte PBP yaparlar. Değişik bakteri türlerinde PBP'lerin sayı, büyüklük, değişik penisilinlerin bunlara afinitesi ve inaktivasyonları sonucunda bakteride oluşan etki açısından farklılık vardır. Penisilinler bağlandıkları PBP'lere göre bakterilerde farklı etki gösterir. PBP'nin beta-laktam antibiyotiklere olan affinitesindeki azalma dirence neden olur (Muray ve ark 2005).

1.5.5. Teikoik Asit

Hücre duvarı kuru ağırlığını % 30-50'sini oluşturan bir diğer önemli komponentidir. Teikoik asit, fibronektine spesifik olarak bağlanarak stafilokokların mukozal yüzeylere yapışmasına aracılık eder. Teikoik asitler eksik immunojen olmasına

rağmen peptidoglikana bağlandığında spesifik bir antikor cevabını uyarır. Bu antikor cevabının izlenmesi sistemik stafilokok infeksiyonlarının saptanmasında kullanılmaktadır. Fakat bu diğer tanısıl testlerden daha az duyarlıdır ve bugün kullanılmamaktadır (Muray ve ark 2005).

1.5.6. Protein-A

Çoğu *S. aureus*'un yüzeyi peptidoglikan tabakasına ya da stoplazmik membrana bağlanan protein-A ile kaplanmıştır. İmmunglobulin (Ig) G1, IgG2 ve IgG4'ün Fc reseptörlerine bağlanır. Bu da organizmanın antikor aracılı immun klirensini etkili bir şekilde önler. Kompleman aktivasyonu ve immunkompleks oluşumuna yol açar. Protein-A antifagositik, kemotaktik ve mitojenik etkiler de gösterir. Koagulaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon gösterir ve virulans faktörüdür (Cottagnoud 2002). Ayrıca Protein-A'nın saptanması, *S. aureus* için spesifik bir identifikasyon testi olarak da kullanılabilir (Muray ve ark 2005).

1.5.7. Koagulaz ve Diğer Yüzey Adezyon Proteinleri

Stafilokoklarda çok sayıda yüzey proteini tanımlanmaktadır. Çoğu *S. aureus* suşunun en dış yüzeyinde clumping faktör (bağlı koagulaz) bulunmaktadır. Bu protein *S. aureus*'da önemli bir virulans faktörüdür. Clumping faktör, fibrinojene bağlanarak fibrine dönüştürür ve stafilokokların kümeleşmesine sebep olur. Bu proteinin saptanması, *S. aureus*'un tanımlanmasında temel bir testtir (Anonim 3).

Fibronektin, fibrinojen, elastin, kollojen gibi diğer yüzey proteinleri de konak matriksproteinlerine tutunmada önemlidir. Stafilokoklarda ve diğer bakterilerde bulunan yüzey adezyon proteinleri yeni tedavi yaklaşımlarında hedef oluşturmaktadır (Muray ve ark 2005).

1.6. Stafilokokların Enzimleri

Stafilokoklar lipaz, hiyaluronidaz, fibrinolizin, penisilinaz, katalaz, koagulaz ve DNaz gibi birçok enzim üretirler. Bu enzimler özellikle stafilokokların komşu dokulara yayılımını kolaylaştırarak infeksiyon patogenezinde rol alırlar (Tünger 2004).

1.6.1. Koagulaz

Stafilokoklar bağlı ve serbest olmak üzere 2 tip koagulaza sahiptir. Stafilokok hücre duvarına bağlı koagulaz doğrudan fibrinojeni fibrine dönüştürebilir ve stafilokoklarda kümelenmeye sebep olur. Serbest koagulaz ise bir plazma globulin faktörü ile reaksiyona girerek bir trombin benzeri faktör oluşturur. Koagulaz, stafilokok absesinin çevresinde fibrin oluşumuna sebep olur ve böylece infeksiyon lokalize edilerek organizma fagositozdan korunur. Koagulaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı sağladığı ileri sürülmektedir (Tünger 2004).

1.6.2. Katalaz

Tüm Stafilokoklar katalaz enzimine sahiptir. Hemoprotein yapısındadır. Süperoksit dismutaz ve indirgenmiş flavoproteinlerin oksitlenmesi sırasında bakteri hücresi içerisinde açığa çıkan toksik hidrojen peroksiti su ve oksijene katalize eder (Cauwelier ve ark 2004).

Tüm stafilokok türleri toksik hidrojen peroksidi, toksik olmayan oksijen ve suya ayırıştırarak katalaz enzimi üretir. Bakteriler, bu enzim sayesinde fagositlerin içindeki toksik oksijen radikalleri tarafından fagositoza karşı direnç kazanır (Tünger 2004).

1.6.3. Hyalüronidaz

S. aureus'ların % 90'dan fazlası tarafından üretilen bu enzim, bağ dokunun asellüler matriksinde bulunan asidik mukopolisakkaritler olan hyalüronik asiti hidrolize eder. *S. aureus*'un dokulara yayılımını kolaylaştırır (Cauwelier ve ark 2004).

1.6.4. Fibrinolizin

Stafilokinaz olarak da adlandırılan bu enzim, *S. aureus* suşlarının neredeyse tamamı tarafından üretilir. Fibrin pıhtısını çözer (Cauwelier ve ark 2004).

1.6.5. Lipaz

S. aureus'un tüm suşları ve Koagulaz Negatif Stafilokoklar'ın % 30'undan daha fazlası birkaç farklı lipaz üretirler (Cauwelier ve ark 2004). Lipaz, yağları hidrolize ederek vücudun lipid içeren bölgelerinde stafilokokların yaşamasını sağlamakta ve stafilokokların yüzeysel dokuları invaze ederek frunkül ve karbonkül gibi infeksiyonlarının gelişimine neden olmaktadır (Tünger 2004).

1.6.6. Nükleazlar

Diğer bazı türler de bu enzimi üretiyor olmasına rağmen, termostabil nükleaz enzimi, *S. aureus* için önemli bir markerdir. Bu enzimin infeksiyon patogenezindeki fonksiyonu bilinmemektedir (Chambers 1997).

1.6.7. Laktamazlar

Klinik kullanıma girdiği dönemlerde hemen tüm stafilokok kökenleri penisiline duyarlı iken, günümüzde özellikle hastane kaynaklı izolatlarda bu oran % 5'in altına düşmüştür. Stafilokoklarda penisilin direncine neden olan mekanizma beta-laktamaz üretimidir (Tünger 2004). Penisilinaz (Beta laktamaz); penisilinin tedavide ilk olarak kullanıldığı 1941'de Stafilokok izolatlarının %90'dan fazlası bu antibiyotiğe duyarlıydı. Ancak, bu organizmaların primer olarak penisilinaz (beta-laktamaz) üretebilmeleri, penisiline çok hızlı bir şekilde direnç gelişmesine sebep oldu (Tünger 2004).

Beta-laktamaz enzimi, Penisilinler, Sefalosporinler ve benzeri Beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek, bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olur. Betalaktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü oluşturan bu enzimler, siklik amid bağımlı bozar ve bir açıl-enzim türevi oluştururlar. Bu reaksiyonları sonucunda beta-laktam antibiyotiklerle reaksiyona giren üç grup protein vardır:

- 1- Karboksi peptidazlar (Düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinler (PBP)).
- 2-Transpeptidazlar (Yüksek molekül ağırlıklı PBP'ler)
- 3-Beta-laktamazlar (Berger-Bachi ve ark 2002).

Çizelge 1.3. *S. aureus*'un virulans faktörleri (Cengiz ve ark 2004)

	Kapsül	Kemotaksisi, fagositozu ve mononükleer hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder, aderansı kolaylaştırır.
	Peptidoglikan	Osmotik dengelyi korur, endojen pirojenlerin üretimini stimüle

YAPISAL BİLEŞENLER		eder(endotoksine benzer aktivite). Lökosit kemoatraktanıdır. Fagositozu inhibe eder.
	Teikoik asit	Hücre membranındaki katyonik konsantrasyonu düzenler, fibronektine baglanır.
	Protein A	IgG1, IgG2 ve IgG4'ün Fc reseptörlerine bağlanarak antikor aracılı atılımı(klirensi) inhibe eder, lökosit kemoatraktanıdır.
	Sitoplazmik membran	Osmotik bariyerdir, hücre içi ve dışına transportu düzenler, biyosentetik ve solunum enzimlerinin içerir.
	Sitotoksinler (α , β , γ , P-V lökositidin)	Lökosit, eritrosit, makrofaj, trombosit ve fibroblastları içeren birçok hücreye toksik etki gösterir.
	Eksfoliatif toksin (ETA, ETB)	Serin proteazlar, epidermisin stratum granulosum tabakasındaki interselüler köprülerin ayrılmasına neden olurlar.
	Enterotoksinler	Süperantijenlerdir (sitokin salınımını

TOKSİNLER	(A-E, G-I)	ve T hücrelerin proliferasyonunu stimüle ederler); mast hücrelerinden inflamatuvar mediatörlerin salınımını uyarırlar; bulantı-kusma, intestinal peristaltizmde artma ve sıvı kaybına neden olurlar.
	Toksik Sok Sendrom Toksin-1	Süperantijendir. Endotelyal hücrelerde sızıntı veya hücre yıkımına neden olurlar.
ENZİMLER	Koagulaz	Fibrinojeni fibrine çevirir.
	Katalaz	Hidrojen peroksiti su ve oksijene katalize eder.
	Hyaluridaz	Bag dokuda bulunan hyaluronik asitin hidrolizi ve mikroorganizmanın dokuda yayılımının kolaylaştırılmasını sağlar.
	Fibrinolizin	Fibrin kümesinin çözülmesini sağlar.
	Lipaz	Lipitleri hidrolize eder.
	Nükleaz	DNA'yı hidrolize eder.
	Penisilnaz	Penisilini hidrolize eder.

1.7. İmmunite

Stafilokokal infeksiyonların patogenezi, konak dokularına bakterinin tutunmasını sağlayan yüzey proteinlerinin üretimi ile spesifik toksinler ve hidrolitik enzimler gibi ekstrasellüler proteinlerin üretilmesine bağlıdır (Muray ve ark 2005).

1.8. Toksinler

S. aureus, konak hücre morfolojisini ve/veya fonksiyonunu etkileyen çok sayıda ekstrasellüler toksin üretebilir. Bunlardan bir kısmı toksik etkilerini enzimatik aktivite ile gösterirken, diğerleri superantijen özellikleri nedeniyle sitokin salınımını indükler. Ayrıca, bu toksinler sayesinde stafilokoklar yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde bile üremelerini sürdürebilirler. *S. aureus* beş sitolitik veya membran hasarlayıcı toksin (alfa, beta, delta, gama ve Panton-Valentin (P-V) lökosidin, iki eksfoliyatif toksin (A ve B), sekiz enterotoksin (A, B, C, D, E, G, H ve I) ve toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1)'i içeren çok sayıda virulans faktörü üretir. Sitotoksinlerin nötrofilleri parçalaması sonucu salınan lizozomal enzimler çevre dokuda yıkıma neden olabilirler. Sitotoksinlerden biri ve P-V lökosidin şiddetli pulmoner ve kutanöz infeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. Eksfoliyatif toksin A, TSST1 ve enterotoksinler süper antijenler olarak bilinen polipeptitler sınıfına aittir (Muray ve ark 2005). Stafilokokların salgıladığı, eritrositler ve çeşitli hücreler üzerinde sitolitik, deney hayvanlarında öldürücü, nekrotik etkileri olan ekzotoksinlerdir. İyi antijen yapısındaki bu toksinlere karşı organizmada nötralizan antikorlar oluşmaktadır. Bu toksinler dört tiptir (Cengiz 1999).

1.8.1. Alfa Toksin

Bakteriyel kromozom ve plazmidlerin her ikisi tarafından da kodlanabilen, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan *S. aureus*'un çoğu suşları tarafından üretilen 33 kD'luk bir polipeptittir. Bu toksin damar düz kas hücrelerini bozar ve eritrosit, lökosit, hepatosit ve trombositlere zarar verir. Alfa toksinin stafilokokal hastalıklarda doku hasarında önemli bir

mediyatör olduğuna inanılır (Muray ve ark 2005). *S. aureus* insan suşlarının ana hemolizindir. Hemolitik, dermonekrotik, lizozom parçalayıcı ve doku kültürlerinde sitolitik etkileri vardır. Tavşan eritrositleri için hemolitik aktivitesi en fazladır, insan eritrositlerine fazla bir etkisi yoktur. İnsan makrofajları ve trombositleri üzerine litik etkisi vardır, monositlere etkisizdir. Dolaşım, kas ve böbrek korteksi dokuları toksine karşı duyarlıdır, bu dokularda tahribat yapar (Cengiz 1999).

1.8.2. Beta Toksin

İnsan ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen *S. aureus*'un çoğu suşu tarafından üretilen, 35 kD'lik ısıya duyarlı bir proteindir. Bu enzim sfingomiyelin ve lizofosfotidilkolin için spesifiteye sahiptir ve eritrosit, fibroblast, lökosit ve makrofajları da içeren çoğu hücre için toksiktir. Beta toksinin insan hastalıklarındaki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak alfa toksinle birlikte Stafilokok hastalıklarının karakteristik abse formasyonu ve doku yıkımından sorumlu olabileceğine inanılmaktadır (Muray ve ark 2005).

1.8.3. Delta Toksin

S. aureus suşları ve diğer Stafilokoklar tarafından üretilen 3 kD'luk bir polipeptittir. Bu toksin eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositler üzerine etkilidir. Diğer memeli hücreleri ve hücre içi membran yapılarını da içeren geniş bir sitolitik aktiviteye sahiptir. Delta toksin kısmi nonspesifik membran toksitesiyle deterjan benzeri etki gösterir. Antijenik özelliğe sahip değildir (Pereira ve ark 2007).

1.8.4. Gama Toksin ve Panton-Valentine (PV) Lökosidin

Hemen hemen tüm *S. aureus* suşları tarafından üretilen gama toksin ve *S. aureus* suşlarının % 5'inden azı tarafından üretilen P-V lükosidin iki polipeptit zincirinden oluşan çift komponentli S (yavaş) ve F (hızlı) toksinlerdir. Nötrofil ve makrofajları parçalayabilir.

P-V lökositin toksini lökotosiktir ancak hemolitik aktivitesi yoktur. Şimdiye kadar üç S ve iki F protein tanımlanmıştır. Her iki toksini üretme yeteneğindeki bakteri bu proteinlerin tümünü 6 farklı toksin üretme potansiyeli ile kodlayabilir (Pereira ve ark 2007).

1.8.5. Eksfoliyatif Toksin

Haşlanmış deri, bu toksinle oluşur. Epidermolitik toksin olarak da bilinen bu toksin, stafilokok infeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumludur. Eksfoliyatif toksinin iki farklı şekli (ETA ve ETB) tanımlanmıştır. Her ikisi de hastalık yapabilir. ETA ısıya dirençli ve geni kromozomaldır. ETB ise ısıya duyarlı ve plazmid aracılıdır (Bilgehan 2004). Ultrastrüktürel çalışmalar, serin proteazlar olan bu toksinlere maruz kalma sonucunda epidermisin stratum granulosum tabakasındaki intrasellüler köprüler (desmozomlar)'in ayrılmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Bu olayın tam mekanizması hala bilinmemektedir. Bu toksinler hücre yıkımı veya inflamasyonla ilişkili değildir. Bu yüzden epidermisin etkilenen tabakasında ne Stafilokoklar ne de lökositler bulunmamaktadır. Epidermisin toksine maruz kalması sonucu koruyucu nötralizan antikorlar gelişir. Haşlanmış deri sendromu çoğunlukla küçük çocuklarda ve nadiren de büyük çocuklar ve erişkinlerde görülür (Arbuthnott ve ark 1990).

1.8.6. Enterotoksinler

Enterotoksinler 100°C'de 30 dakika ısıtmaya, mide ve jejunum enzimlerine karşı dirençlidir. Gıda ürünleri enterotoksin üreten Stafilokoklar ile kontamine olduktan sonra toksin üretimi gerçekleştiğinde, gıdanın yeniden hafifçe ısıtılması ve gastrik asite maruz kalması koruyucu olmamaktadır. Bu toksinler tüm *S. aureus* suşlarının % 30-50'si tarafından üretilmektedir. Enterotoksin A hastalıkla ilişkili en yaygın toksindir. Toksin aktivitesinin tam mekanizması ise bilinmemektedir. Bu toksinler süperantijen olup; sitokin salınımı ve T hücrelerinin nonspesifik aktivasyonunu da sağlayabilmektedirler. Mide ve jejunumdaki karakteristik histolojik değişiklik epitelium ve altındaki lamina propria'da nötrofil infiltrasyonunu içermesidir. Ayrıca bu toksinler, jejunum epitelindeki fırçamsı kenar kaybı ve mast hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salınımının uyarılmasıyla

stafilokokal gıda zehirlenmesinin karakteristik özelliği olan kusmanın oluşmasından sorumlu olabilir (Livermore 2000).

1.8.7. Toksik Şok Sendrom Toksin-1 (TSST-1)

Önceden pirojenik ekzotoksin C ve enterotoksin F olarak isimlendirilen TSST1, ısı ve proteolize dirençli, 22 kD'luk kromozom aracılı bir ekzotoksindir. Menstruasyonla ilişkili toksik şok sendromundan (TSS) *S. aureus* suşlarının % 90'ı, diğer TSS şekillerinden ise *S. aureus* suşlarının yarısının sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Enterotoksin B ve nadiren enterotoksin C menstruasyonla ilişkili olmayan TSS'lerin yaklaşık olarak yarısından sorumlu tutulmaktadır. TSST-1'in mukozal bariyerlerden penetre olma kabiliyeti TSS'nin sistemik etkisinden sorumludur. TSS'li hastalarda ölüm, multiorgan yetmezliğine neden olan hipovolemik şok nedeniyledir (Livermore 2000).

1.9. *S. aureus* İdentifikasyonu

S. aureus'u tanımlamada en güvenli testlerden biri koagulaz testidir. Serbest koagulaz "tüp koagulaz" ve bağlı koagulazda "lam koagulaz" yöntemleriyle tespit edilir.

1.9.1. Koagulaz Testi

Koagulaz enzimi plazmanın pıhtılaşmasında görev alır. Trombin katalizörlüğü ile meydana gelen fibrinojenden fibrin oluşumunu sağlar. Bakteriler bu enzim sayesinde plazmayı pıhtılaştırır. Oluşturdukları fibrin zırhı ile kaplanarak fagositoza karşı korunurlar. Koagulaz testi, *S. aureus*'un diğer stafilokoklardan ayırt edilmesinde en çok önem taşıyan deneydir. Stafilokok kolonisi görüntüsü veren ve Gram boyasında Gram (+) koklar saptanan tüm izolatlarda yapılmalıdır. Pigment hemoliz, mannitole etki gibi deneylerin hiç birisi *S. aureus*' un ayırımında bu kadar değerli değildir. Tüp deneyi ve lam deneyi olmak üzere iki şekilde yapılabilir. Tüp deneyinde stafilokokların besiyerine saldıkları serbest koagülaz; lam deneyinde ise kümeleştirme faktörü olarak da bilinen bağlı koagülaz

araştırılmaktadır. Lam deneyi hızlı sonuç vermekle birlikte, *S. aureus* suşlarının % 10-15'i bu yöntemle negatif sonuç verebilir. Mannitolü yalnız *S. aureus* parçaladığı halde koagülaz negatif olanlar parçalamazlar (Bilgehan 2004, Waldvogel 2000).

1.9.1.1. Lam Koagulaz Testi

S. aureus suşlarının çoğu hücre duvarında bağlı koagulaza veya 'clumping faktör'e sahiptir. Bu faktör hızlı hücre aglütinasyonuna sebep olan plazmadaki fibrinojen ile direk tepkimeye girer. Bu test kanlı agar, Columbia Colistin Nalidixic Agar ya da diğer nonselektif nutrient besiyerinde üreyen kolonilerden yapılabilir. Fakat yüksek tuz oranı *S. aureus*'un bazı suşlarında otoaglütinasyona sebep olduğu için bu test, yüksek tuz içeren besiyerlerinden (mannitol salt agar gibi) yapılmamalıdır. Clumping faktöre sahip olmayan suşlar serbest koagulaz üretebileceği için, herhangi bir suş lam koagulaz testinde negatif çıkarsa bu sonuç bir tüp koagulaz testi ile doğrulanmalıdır (Winn ve ark 2006, Brown 2005).

1.9.1.2. Tüp Koagulaz

Bu metot ile saptanan koagulaz ekstrasellüler olarak salınır ve bir kompleks oluşturmak için plazmadaki Koagulaz Reaktif Faktör-Coagulase Reacting Factor (CRF) ile reaksiyona girerek stafilotrombin oluşturur. Stafilotrombin de fibrinojenle reaksiyona girerek fibrin oluşumunu tetikler. Bazı suşlar, 35°C'de uzayan inkübasyon periyodunda pıhtının çözülmesine sebep olan fibrinolizin üreteceği için testler 35°C'de 4 saat inkübasyondan sonra oda ısısına alınmalıdır ve 18-24 saat sonra tekrar okunmalıdır. Nadiren bazı *S. aureus* suşları koagulaz negatif olabilmektedir. Yukarıda sözü edildiği gibi hem tüp hem de lam koagulaz testi için önerilen ortam EDTA'lı tavşan plazmasıdır. Enterococcus türleri gibi organizmalar sitratı kullanabildiği için sitratlı plazma kullanılmamalıdır. Tüp koagulaz testi *S. aureus* identifikasyonu için referans testdir. Bu test, pozitif sinyal veren kan kültüründen doğrudan tavşan plazması içerisine inokule edilerekte yapılabilir (Winn ve ark 2006).

1.9.2. Mannitol Fermentasyonu

Karışık bakteri florası içeren materyalden stafilokokların ayırımı için kullanılmaktadır. *S. aureus* mannitolü daima kullanır. Reaksiyon mannitolün asit bileşiklere dönüşmesine dayanır. *S. epidermidis* mannitol fermentasyonu yönünden nadiren pozitifdir. Mannitole etki etmesi, koagülaz testinden sonra *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yararlı testtir (Bilgehan 2004, Waldvogel 2000).

1.9.3. Basitrasin Direnci

Micrococcaceae familyasındaki *Micrococcus* cinsi basitrasine duyarlı, *Staphylococcus* cinsi basitrasine dirençlidir (Waldvogel 2000).

1.9.4. Novobiocin Direnci

S. saprophyticus ve çok nadir olarak izole edilen bazı koagülaz olumsuz stafilokoklar (*S. cohnii*, *S. lentus*, *S. sciuri* ve *S. xylosus*) bu antibiyotiğe dirençli olduğu halde *S. epidermidis* ve *S. aureus* duyarlıdır (Bilgehan 2004).

1.9.5. Glukoz Fermentasyonu Deneyi

Micrococcaceae familyasındaki *Micrococcus* genusu oksidatif, *Staphylococcus* genusu fermantatif etki verir (Bilgehan 2004).

1.9.6. Amplifikasyon ve Dizi Analizi

Moleküler tanısal yöntemler, geleneksel yöntemler kullanarak identifikasyon yapılması zor veya imkânsız olan infeksiyöz etkenlerin tanımlanmasında en değerli

yöntemler olarak kabul edilmektedirler. İnfeksiyöz hastalıkların moleküler tanısı çoğunlukla nükleik asit odaklıdır (Bilgehan 2004).

1.9.7. Lateks Aglütinasyon

Bu yöntemde plazma ile kaplanmış lateks parçacıkları kullanılır. Latekse bağlı fibrinojen clumping faktörü saptar. Ayrıca parçacıklarda bulunan immunglobulin molekülleri stafilokokal hücre duvarı proteini olan protein A'yı da saptayabilir. Bu protein, IgG moleküllerinin Fc reseptörü ile bağlanabilmektedir. Bir agar plağından alınan kolonilerin test materyali ile karışması sonucu lateks-mikroorganizma süspansiyonu hızlı bir kümeleşme gösterir. Ayrıca *S. lugdunensis* ve *S. schleiferi*'nin bazı suşları da clumping faktör üretir ve bu test ile pozitif reaksiyon verebilir (Winn ve ark 2006).

1.9.8. Pasif Hemaglütinasyon

Eritrositler ya da sentetik olarak hazırlanmış polistiren lateks gibi parçacıklar, çeşitli yöntemlerle çok çeşitli antijenlerle kaplanabilirler. Bu şekilde kaplanmış olduğu antijenin taşıyıcısı durumuna gelen eritrosit ya da parçacıklar, elektrolitli ortamda bu antijenlerin antikoları ile karşılaştıklarında aglütinasyon verirler. Dolaylı hemaglütinasyon denilen bu testler çok duyarlı olup, ortamda çok az antikor bulunması bile sonuç vermek için yeterlidir. *S. aureus* hücrelerinin yüzeyindeki clumping faktörü saptamak için fibrinojen ile sensitize edilmiş koyun eritrositleri bu amaçla kullanır (Winn ve ark 2006).

1.10. Epidemiyoloji

Stafilokoklar doğada çok yaygın olarak bulunan Gram pozitif bakterilerdir. Fizyolojik olmayan çevre koşullarına uzun süre dayanabilirler, yüksek tuz ve lipid içeren ortamlarda üreyebilirler (Bilgehan H. 2004). Fırsatçı patojen karaktere sahip olan bu etkenler, hayvanın stres altında kalması ve her türlü yaralanma sonucunda etkenin aktive olmasına ya da açılan portantrelerden vücuda girmesine sebep olur. İnsan ve hayvanlarda

farklı klinik tablolarla seyreden hastalıklara neden olurlar. Hayvanlarda stafilocoklardan ileri gelen başlıca infeksiyonlar; dermatitis, mastitis, botriyomikozis, enzootik piyemi, artrit ve gıda zehirlenmeleridir (Waldvogel 2000). Stafilocoklar her yerde bulunabilirler. İnsan ve hayvanların derilerinde Koagulaz Negatif Stafilocoklar vardır ve nemli deri kıvrımlarının *S. aureus*'la geçici kolonizasyonu yaygındır. *S. aureus* ve Koagulaz Negatif Stafilocoklar'ın orofarinks, gastrointestinal sistem (GİS) ve ürogenital sistemde de bulunurlar. Büyük çocuk ve erişkinlerde kısa süreli veya kalıcı *S. aureus* taşıyıcılığı, ön nazofarinkste orofarinksten daha yaygındır. Normal sağlıklı erişkinlerin yaklaşık % 15'inde nazofaringial *S. aureus* taşıyıcılığı bulunmakla birlikte yatan hastalar, sağlık personeli, ekzematöz deri hastalığı olanlar ve sürekli ilaç kullananlarda daha yüksektir. Mukozal epitele bu mikroorganizmaların yapışması stafilocokal hücre yüzey adezinleri tarafından sağlanır (Murray ve ark 2005). Burun girişi ve nazal kavitede normal folara elemanı olarak % 39 oranında *Staphylococcus epidermidis*, % 11 oranında *Staphylococcus aureus* tespit edilebilir (Murray ve ark 2005). *S. aureus* infeksiyonlarının insanlarda doğal seyri özetlenecek olursa; pek çok yenidoğan, çocuk, yetişkinler ve hayvanlarda *S. aureus* ile kolonize olurlar ve bu mikroorganizmayı tercihen nazofarenkslerinde, bazen cilt ve giysilerinde, daha nadiren vajinalarında ya da rektum ya da perineal bölgelerinde barındırırlar. Bu bölgelerdeki *S. aureus* cilt veya müköz membranlardaki herhangi bir bölgeyi hayvandan hayvana transfer yoluyla, aerosol yolla veya direk kontakt yoluyla diğer konakları kontamine ederler. Müköz membranlar ve cilt, yerel doku invazyonuna karşı çok etkili bir mekanik bariyer oluştururlar. Bu bariyer incinme ya da cerrahi ile bozulursa, *S. aureus* alttaki dokuya girebilir ve nekrotik doku, fibrin ve çok sayıda canlı ve ölü polimorfonükleer lökositten oluşan lokal bir abse lezyonuna yol açabilir. Daha sonra çoğalan bakteriler lokal fagositik mekanizmaları aşabilir ve lenfatik kanallara ve kan dolaşımına girebilirler. Bunu izleyen stafilocokal bakteriyemi korkutucu bir komplikasyondur ve metastatik infeksiyonlara ve ölüme yol açabilir (Waldvogel 2000). Metisiline dirençli *S. aureus* infeksiyonları 1970'lerin sonlarına doğru öncelikle Avrupa'da daha sonra Amerika'da endemik olarak görülmeye başlanmıştır. Daha az sıklıkta olmakla birlikte, MRSA'lar yaşlı bakım evleri, kreşler ve kronik intravenöz ilaç kullanıcıları gibi toplum kaynaklı infeksiyonlarda da etken olabilmektedir. Nazokomiyal infeksiyonların yaklaşık 2/3'ü yoğun bakım birimlerinde görülmektedir. Metisiline dirençli Stafilocokların kolonizasyon veya infeksiyon oluşturmasında, uzun süreli hospitalizasyon, çeşitli antibiyotiklerle ve uzun süreli tedavi, Metisiline dirençli stafilocoklarla kolonize veya infekte hastalarla aynı kapalı ortamda bulunma hastalara ait önemli risk faktörlerini

oluşturmaktadır. Yanık vakalarındaki bireylerde bu risk oldukça yüksektir. Bu nedenle, nazokomiyal kökenli *S. aureus* infeksiyonlarının identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık paternlerinin erken ve doğru olarak tespiti son derece önemlidir (Derbentli 2005).

1.11. Antibiyotik Dirençliliği

Stafilokoklar deri, yumuşak doku, yara infeksiyonu ve besin zehirlenmesi gibi tablolardan osteomyelit, septik artrit, pnömani ve endokardite uzanan geniş bir infeksiyon yelpazesine sahiptirler. Bu bakterilerden etken olarak en sık rastlanılanı *S. aureus*'tur. Ondan sonra sırasıyla *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* gelir. *S. aureus*'u diğerlerinden ayıran en önemli özellik koagülaz pozitif olmasıdır. Bu bakteri dışındakiler, genel olarak koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olarak adlandırılırlar. *S. aureus* insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanılan, virulansı yüksek bir mikroorganizmadır. Köpeklerdeki dermatitis nedenlerinin tespiti zordur ve klinik olarak da inatçı ve nüks etme ihtimali yüksek olgulardır. Dermatitisin gelişiminde deride hassasiyet yaratan faktörlerin elimine edilmesi ve özellikle diyetinde yapılacak düzenlemeler ile derinin kendini yenileyebilmesine yardımcı olmak tedavi başarısını artırır. Stafilokok türlerinin Penisiline karşı direnç geliştirmesi klinik açıdan tedavi başarısını düşürmektedir. Metisilin rezistans Stafilokoklar dünya çapında nazokomiyal infeksiyonlar açısından önemli bir yere sahiptir. Klinik görünüm olarak dermatofitlere benzer deri lezyonları oluşması nedeniyle yanlış tedavi uygulanması hastalık tablosunu daha da olumsuz etkileyerek antibiyotik dirençliliğin artmasına neden olmaktadır (Derbentli 2005). Stafilokok türleri genel olarak birçok antibakteriye karşı duyarlı olmalarına karşın antibiyotik dirençliliği, zamana bağlı olarak artmaktadır. Antibiyotik çağının başlamasından günümüze doğru kronolojik olarak incelendiğinde, Stafilokoklar ile gelişen infeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçların büyük bir değişim geçirdiği gözlenmektedir. Bunun başlıca 3 nedeni vardır;

1. Stafilokoklar nazokomiyal patojen olarak önemli morbidite ve mortalite nedenidir,
2. Hastanelerdeki hasta popülasyonu (çok yaşlı, bağışıklık yetmezliği olanlar, bağışıklığı baskılanmış olanlar) tipi infeksiyon riskini artırma yönünde değişmektedir,
3. Stafilokoklar kendilerine karşı kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmeyi sürdürmektedir (Derbentli 2005).

İlk kez 1945 yılında penisilinaz oluşturarak penisiline direnç kazanmış olan *S. aureus* suşları ortaya çıkmış ve bu suşlar 1950'li yılların sorun yaratan bakterileri olmuştur. Penisilinaza dirençli penisilinlerin 1960'da kullanıma girmesinden iki yıl sonra ilk metisiline dirençli *S. aureus* izolatu saptanmıştır. İlk kez 1995 yılında Fransa'da VISA (vancomycin intermediate *S. aureus*), 1996'da Japonya'da hetero-VISA ve sonunda 2002 yılında A.B.D.'nde VRSA (vancomycin resistant *S. aureus*) suşlarının saptanması ile, Stafilocoklarda çoğul antimikrobiyal direnci sorunu daha da ürkütücü hale gelmiştir (Baddour ve ark 2007). Koagulaz Negatif Stafilocoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi, özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisi ve eradikasyonu açısından problem oluşturmaktadır (Franciulli ve ark 1991, Maple ve ark 1989, Auwera ve ark 1990, Gray ve ark 1984, Kotilainen ve ark 1990, Younger ve ark 1987). Stafilocoklar sporsuz bakteriler içerisinde en dirençli bakterilerdendir (Boussard ve ark 1993). Penisilinlerin kullanılmaya başlandığı yıllarda *S. epidermidis* suşlarının % 80'i penisiline duyarlıyken, 1940'lardan sonra bu direnç giderek artmış, bugün için % 85-90 oranlarına ulaşmıştır (Kloos ve ark 1994). Ülkemizde Ulusoy ve arkadaşlarının 1995 yılında çeşitli klinik örneklerden izole ettiği Koagulaz Negatif Stafilocok suşlarında penisilin direncini % 79.9, Kurt ve arkadaşları 1992 yılında % 64 olarak bildirmişlerdir. Böylesine yüksek oranda direnç oluşum mekanizmasıyla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda en büyük rolü plazmidler aracılığı ile aktarılabilen beta laktamaz enziminin oynadığı saptanmıştır (Boussard ve ark 1993, Degener ve ark 1994, Johnson ve ark 1986). Araştırma sonuçları ülkemizde yüksek oranda bulunan penisilin direncinin önemli bir sorun olduğunu göstermekte ve beta laktamaz içeren Stafilocokların sebep olduğu enfeksiyonlarda bilinçsizce penisilin grubu antibiyotik kullanımının antibiyotik duyarlılık testleri yapılarak önlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Koagulaz Negatif Stafilocok'larda 1980'li yıllarda penisilin direnci % 41-74 olarak bildirilmiştir. Diğer yandan Koagulaz Negatif Stafilocoklar'ın (KNS) girişimsel tanı ve yöntemlerinin kullanımının artması ile fırsatçı enfeksiyon etkeni olarak artan sayıda saptanmakta, bu bakterilerdeki metisilin direncide önem kazanmaktadır (Willke 1998). Bazı hastanelerde Stafilocok prevalansının endemik hale gelmesiyle problemin boyutları dramatik olarak büyümüştür. Bu da tedavide kullanılacak antimikrobiyalleri önemli ölçüde sınırlandırmıştır. Metisilin dirençli Stafilocokların etken olduğu infeksiyonların morbidite ve mortalitesinin yüksek olması ve yüksek ek maliyet, çoğul antimikrobiyal dirençli Stafilocokların hemen her ülkede izlenmesine yol açmıştır (Derbentli 2005).

1.12. Stafilokoklarda Metisilin Direncinin Mekanizmaları

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında metisilin direncini saptamak için disk difüzyon, tüp dilüsyon veya mikro dilüsyon, agar dilüsyon, otomatize duyarlılık testleri, DNA hibridizasyon teknikleri ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanılmaktadır (Chambers 1997).

1.12.1. mec DNA

Stafilokokların duyarlı suşlarında bulunmayan yaklaşık 30-50 kb ilave kromozomal DNA, mec metisilin dirençli suşlarda vardır. Mec mecA, penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a) için strüktürel gen; mecI ve mecR1, mecA transkripsiyonun regülatör element kontrolü; ve 20-45 kb mec-birleşik DNA içerir (Chambers 1997).

1.12.1.1. mecA

mecA metisilin dirençliliği belirleyen indüklenebilir 76-kDa PBP olan PBP2a'yı (ayrıca PBP2' de denir) kodlar. Duyarlı suşlarda mecA'nın homoloğu bulunmaz. Hem duyarlı hem de dirençli *S. aureus* suşları 4 major PBPs (PBPs1, 2, 3, 4) içerir. PBPs serin proteazdan evrimselleşmiş membran engelli DD-peptidazdır ve onların biyokimyasal yapısı serin proteazlara benzemektedir. Bu enzimler bakteriyel hücre duvarının çapraz bağ peptidoglikan olan transpeptidasyon reaksiyonunu katalizler. Beta-laktam antibiyotikler serin aktif bölge PBP'sine kovalent bağlarla bağlanmış substrat analoglarıdır, enzim yaklaşık olarak minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ile aynı konsantrasyon oranlarında inaktive olur. Çoğu beta-laktam atibiyotiklere yüksek affinitesi olan PBPs 1, 2, 3 hücre büyümesinde ve duyarlı suşların hayatta kalabilmesinde esansiyeldir ve bu PBPs'ler ile bağlanmış beta-laktamlar ölümcül olabilmektedir. Metisilin dirençli hücrelerde, beta-laktam anitibiyotiklere düşük affinite ile bağlanan PBP2a, diğer letal antibiyotiklerin konsantrasyonlarında yüksek affiniteli PBPs'lerin esansiyel fonksiyonlarını yapabilir (Weller 1999). mecA geni, Stafilokok türleri arasında oldukça iyi korunmuştur.

mecA gen ürünü olan PBP2a yüksek moleküler ağırlıklı PBP'dir (Chambers 1997). Yüksek affiniteli PBP'lerde mevcut olan Penisilin bağlayıcı bölgenin aynısı PBP2a'da da bulunmaktadır. mecA geninin ilk 300 nükleotidlik promotor bölgesi ve regulator genleri dizi olarak Stafilocokların Beta-laktamaz bölgeleriyle benzerdir (Mallorqu ve ark 2004). mecA'nın orjininin anlaşılması güçtür. Metisiline dirençli Stafilocokların mecA molekülü ile % 88 oranında aminoasit benzerliği taşıyan bir mecA homoloğu Staphylococcus sciuri'de tespit edilmiştir (Chambers 1997, Couto ve ark 2000, Lowy 2003, Japoni ve ark 2004). İlginçtir ki, mecA homoloğu bu türlerde yaygındır, fakat onun fenotipi duyarlıdır. Bunlar ve diğer veriler mecA'nın S. scuri'ye yakın bir Koagulaz Negatif Staphylococcus türünden meydana geldikleri tezini desteklemektedir. Metisiline dirençli tüm S. aureus suşları mecA'yı kazanan 50k az sayıdaki ata suşların soyundan gelen klonal suşlardır. mecA'nın Metisiline dirençli Stafilocoklar tarafından nasıl kazanıldığı tam olarak bilinmemektedir (Chambers 1997).

1.12.1.2. mecI ve mecRI

mecl ve mecRI genleri, mecA promotorunun hemen yukarı kısmında lokalize olup farklı yönde eksprese olan düzenleyici genlerdir (Kuwahara ve ark 1996, Hakenbeck ve Coyette 1998, Kobayashi ve ark 1999, Weller 1999, Mallorqu ve ark 2004). Moleküler düzen, yapı, fonksiyon ve regülasyon mekanizması açısından Stafilocokal Beta-laktamaz regülatör elemanları olan blal ve blaRI'e benzerlik gösterirler. blal, Beta-laktamaz geninin transkripsiyonunu baskı altında tutan DNA bağlayıcı bir proteindir. BlaRI ise Beta-laktam antibiyotiklerinin varlığında Beta-laktamaz geninin transkripsiyonunu indükleyen bir PBP'dir. Mecl ve MecRI da blal ve BlaRI'ye benzer bir mekanizma ile mecA'nın regülasyonunda rol oynarlar (Chambers 1997).

1970'ten önceki klinik izolatların büyük kısmında mecRI'in Penisilin bağlayıcı bölgesinde ve tam mecl geninin büyük bir kısmında delesyonlar mevcuttur. Bu suşlarda PBP2a üretimi sürekli olmaktadır. 1980'den beri izole edilen suşların çoğunda ise düzenleyici genlerdeki delesyonların yerini mecl genindeki polimorfizmler ve mecA promotor bölgesindeki mutasyonlar almıştır (Chambers 1997).

1.12.2. Metisilin Dirençlilik Çeşitleri

1.12.2.1. İntrinsik Metisilin Direnci

Bu tip direnç gösteren Stafilokoklara MRS denir. MRS suşlarındaki dirençlilik; bu bakterilerin normal penisilin bağlayan proteinlerden (PBP) farklı olarak beta-laktam antibiyotiklere daha düşük affinitesi olan, PBP2a veya PBP2 adı verilen PBP'leri nedeniyle. Bilindiği gibi PBP'ler hücre membranında bulunan, bakteride penisilin etkisinin primer biyokimyasal hedefleridir. Bu proteinler aynı zamanda hücre duvar sentezi sırasında peptidoglikan polimerlerinin çapraz bağlanma reaksiyonunu katalizleyen enzimlerdir. Beta-laktamlar PBP'lerin aktif kısımlarından kovalent bağlarla bağlanırlar. Metisiline duyarlı Stafilokoklarla arasındaki esas farklılık PBP'lerindeki farklılıktır. MRS'lardaki PBP2a'nın diğer PBP'lerden molekül ağırlığı çok az farklıdır, ancak beta-laktam antibiyotiklere bağlanma eğilimi düşüktür. Diğer yandan PBP2a yüksek antibiyotik yoğunluğunda muhtemelen bakterideki diğer PBP'lerin fonksiyonunu da üstlenmektedir, aksi takdirde normal PBP fonksiyon eksikliği nedeniyle bakterinin ölümü söz konusu olacaktır (Lyon ve ark 1987, Hackbarth ve ark 1989). Metisilin dirençli Stafilokoklarda PBP2a oluşturulması kromozomal kontroldedir; çoğu zaman metisilin veya diğer beta-laktamların varlığında indüklenebilir (inducible), bazen de yapısaldır (constitutive) (Lyon ve Skurray 1987, Hackbarth ve ark 1989). Yapısal oluşturulan PBP2a içeren MRS'ların direnç fenotipi homojendir, yani bakteri topluluğundaki tüm bireyler dirençlidir (Lyon ve ark 1987, Hackbarth ve ark 1989). İndüklenebilir PBP2a içeren MRS'larda direnç fenotipi heterojendir, aynı bakteri topluluğunda dirençli suş oranı 103-106 arasında değişir (Dündar 2000). Buna heterorezistans da denir (Hackbarth ve ark 1989). Heterojen popülasyondaki yüksek seviyede direnç gösteren bu hücre azınlığı, mec elementi dışında oluşan chr olarak belirtilen ilave kromozomal mutasyonları taşırlar. Chr'deki mutasyonların homojen metisilin direncine katkısı bilinmemekle beraber yeni tanımlanan hmr lokusundaki mutasyonlar bazı direnç mekanizmalarının sorumlusu olabilir (Berger-Bachi ve ark 2002, Akcam ve ark 2007). Heterojenik suşlarda hücrelerin çoğunluğu (genelde % 99.9 veya daha fazlası) beta-laktam antibiyotiklere düşük konsantrasyonlarda duyarlıdır. Bütün klinik izolatlar rutin üreme şartlarında bu heterojen yapıyı sergilemektedir. Bununla birlikte heterojen suşlar kültür koşullarında (NaCl veya sükröz veya 30°C ile desteklenen

hipertonik kültür besiyerinde üreme gibi) homojen görülebilir (50µg/ml metisilin konsantrasyonunda üreyen hücreler). 37-43°C’de inkubasyon veya EDTA ilavesi (pH5.2) heterojen yapıyı destekler ve bütünüyle dirençliliği bastırabilir. Bu değişim geçici ve fenotiptir. Beta-laktam antibiyotiklerin varlığında heterojen suşların pasajı yüksek dirençli mutant klonları seçerek direnç fenotipini değiştirir. Bu klonlar yüksek dirençli hücrelerin homojen suşlarından üretilir ve bu yüksek dirençli hücreler 50-100µg/ml’deki metisilin konsantrasyonlarında üreyebilir. Antibiyotik bulunan besiyerinde tekrarlanan subkültürler ile yüksek dirençli hücrelerin oranı kademeli olarak azalır ve orijinal heterojen örnekler yeniden ortaya çıkar (Chambers 1997). Yapılan genetik çalışmalarda PBP2a’nın mecA ya da mecA geni adı verilen bir kromozomal genin 2.1 kilobase’lik bir kısmı ile kodlandığı gösterilmiştir. Kontrandüksiyon çalışmaları ile MSS’larda mecA’ya alel gösterilememiştir (Lyon ve ark 1987). Yapılan çalışmaların verileri PBP2a geninin, Stafilokokların beta-laktamaz geni ile diğer cins bakterilerin PBP genlerinin füzyonu ile oluştuğunu düşündürmektedir. MRS’larda mec geninin ekspresyonunu etkileyen, fenotipi belirleyen en az 3 regülasyon mekanizması vardır. Birincisi; PBP2a oluşumunun bakteride hem mecA geni hem de beta-laktamaz plazmidi varsa, beta-laktamlar tarafından indüklendiği gözlemine dayanmaktadır. Bu nedenle beta-laktamaz geninin kontrolü ile PBP2a geninin benzer olduğu düşünülmektedir. İkincisi; mec geni içindeki bir kısmın PBP2a yapımını regüle ettiği, bunun da fenotipi etkilediği, üçüncüsü ise mecA dışında bir yerde lokalize olan femA geni tarafından metisilin direncinin ekspresyonunun belirlendiğidir (Lyon ve ark 1987, Hackbarth ve ark 1989).

1.12.2.2 “Borderline” Metisilin Direnci

Buna kazanılmış metisilin direnci de denmektedir. Metisiline karşı bakteri direncinin azalmasının bir diğer mekanizması 1984’de McDougal ve Thornsberry tarafından tanımlanan, Stafilokokların aşırı beta-laktamaz üretimine bağlı dirençliliğidir. Bu suşlar metisiline sınırda bir direnç gösterdiği için bunlara “borderline” denmektedir. Penisilinaza dirençli penisilinler (PRP) aslında Stafilokokların penisilinaz enzimlerinin hidrolitik etkilerine dayanıklıdır. Ancak bazı Stafilokok suşları aşırı miktarda penisilinaz oluşturarak metisilin ve oksasilini yavaş fakat önemli ölçüde parçalar. Ortama sulbaktam veya klavulanat eklendiğinde bu suşlara karşı PRP’lerin minimum inhibitör

konsantrasyonları (MİK) birkaç misli düşmektedir. BORS suşları PBP2a oluşturmamaları ve direnç kontrolünün plazmide bağımlı olmasıyla MRS'lardan farklıdır (McDougal ve Thornsberry 1986). Borderline suşlar mecA'nın olup olmaması baz alınarak ikiye ayrılabilir. mecA içeren suşlar PBP2a üreten aşırı derecede heterojen metisilin dirençli suşlardır. Bu suşlar yüksek ilaç konsantrasyonunda üreyebilir ve küçük oldukları halde hücreler dirençli subpopulasyonlara sahiptir. mecA içermeyen suşları heterojen mecA pozitif suşlardan fenotipik olarak farklı olabilir. mecA negatif suşlardaki borderline dirençlilik Stafilokokkal beta-laktamaz'ın aşırı üretiminin veya normal PBP genlerinin modifikasyonunun sonucu olduğu varsayılmaktadır (McDougal ve Thornsberry 1986). Modifiye PBP'sinin borderline dirençliliğini üretebildiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Tomasz ve arkadaşları mecA negatif, beta-laktamaz negatif klinik izolatlarında, PBP's 1, 2, ve 4 tarafından penisilin bağlamanın değişimini rapor etmiştir. Berger-Böchi ve arkadaşları antibiyotik içinde pasaj ile seçilmiş dirençli mutantlarda PBP's 2 ve 4'ün değişimlerini bulmuştur (Chambers 1997).

1.12.2.3. "Intermediate" Metisilin Direnci

Stafilokoklarda modifiye PBP'lere bağlı metisiline duyarlılık azalmasıdır. Bu tip dirençli suşlara MODS denmektedir. MODS suşları normal yapıda PBP1 ve PBP2 içerirler; ancak bu PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere affinitesi düşüktür. Ayrıca MODS suşlarında normalden fazla miktarda PBP4 vardır (Willke 1992).

1.12.3. Metisilin Direncinin Düzenlenmesi

PBP2a'nın sentezi MecI ve MecR1 proteinleriyle ve eğer varsa regülatör blaZ sistem proteinleriyle düzenlenir. Aynı zamanda iç ve dış faktörler de metisilin direncini etkiler (Berger-Bachi ve ark 2002, Stapleton ve ark 2002).

1.12.3.1. İç Faktörler

PBP2a metisilin direncini düzenlemede esas olduğu için, mecA geninin ekspresyonu ile ya da PBP2a'nın aktivitesi ile ilişkili olan her faktör metisilin direncine etkili olabilir. Genetik ve biyokimyasal çalışmalar PBP2a'nın katı bir substrat gereksinimine sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak bu substratların oluşumunu etkileyen herhangi bir faktör metisilin direncine müdahale edebilir. Bu durumda fosfomisin, β -kloro-D-alanin ve D-sikloserin gibi hücre duvar sentezinin erken inhibitörlerinin metisilin direncini azalttığı bulunmuştur. Çalışmalar PBP2a'nın aşağıdakilere gereksinim duyduğunu göstermektedir. Belli uzunlukta glikan zinciri: PBP2a, PBP2'nin transglikozilaz aktivasyonuna bağımlıdır. beta-laktamlar yüksek moleküler ağırlıklı PBP'lerin transpeptidaz bölgelerini inhibe ederler. Ancak transglikozilaz bölgesini etkilemezler. PBP2'nin transglikozilaz bölgesinin inaktivasyonu, uzunluğu daha kısa glikan zincirlerinde bir artışa ve metisilin direncinde belirgin bir düşüşe sebep olur. Ana peptidlerin normal peptid konfigürasyonuna sahip olması gerekir: Besiyerine glisin eklenmesi, peptidoglikan ana peptidlerinin iki alanin rezidüsü yerine, iki glisin rezidüsünde son bulmasına yol açar. Bu da metisilin direncinde azalmaya ve çok dirençli homojen suşların heterojen fenotiplere dönüşmesine yol açar. Pentaglisin çapraz köprülerinin sağlam olması gerekir: femA, femB ve femX'in hepsi glikan zincirlerini birbirine bağlayan, pentaglisin çapraz köprülerinin kurulmasında rol oynarlar. femX ilk glisini ekler, femA glisin 2 ve 3'ü ve femB glisin 4 ve 5'i ekler. femA ve femB birbirlerinin görevini yapamaz. Bu proteinleri kodlayan genlerin herhangi birinin inaktivasyonu, sırasıyla mono ya da triglisin çapraz köprüleri içeren hücre duvarlarıyla sonuçlanır. femA ve femB genlerinin herhangi birisinin inaktivasyonunun letal olduğu düşünülmektedir ancak tamamlayıcı mutasyonlar hücre canlılığını yeniden düzenleyebilir. femA ya da femB'nin inaktivasyonu metisilin direncinde büyük oranda azalmaya yol açar. Sonuç olarak femA ve femB proteinleri, MRSA infeksiyonları için yeni ilaç çalışmalarının hedefi olabilirler. femA ve femB'nin inaktivasyonunun ek bir avantajı da aynı zamanda virulans faktörlerin sekresyonunu etkileyerek infeksiyon yapabilme özelliğini kısıtlar. Peptidoglikan sentezi, biosentetik enzimlerin eşgüdümlü fonksiyonlarının yanı sıra, aynı zamanda peptidoglikanın yeniden şekillenmesini ve hücre bölünmesi ile ilgili var olan litik enzimlerin fonksiyonlarını da gerektirir. Metisilin direnci, hücrelerin otolitik enzim aktivitelerini etkileyen genlerin inaktivasyonundan da etkilenir. Bilinmeyen fonksiyonlu

proteinleri kodlayan *ilm* geninin inaktivasyonu homojen suşları, heterojen fenotipe dönüştürür ve artan sayıda otolitik aktivite ile ilişkilidir. *Sar*, *Agr* ve *SigmaB* gibi global düzenleyici proteinlerin aktivitelerinin metisilin direncini etkilediği bilinmektedir. Bu proteinlerin etkileri muhtemelen hücre duvarı ve ekzoproteinlerin sentezinde görev yapan kontrol genleri aracılığıyla (Stapleton ve ark 2002).

1.12.3.2. Dış Faktörler

Tuz konsantrasyonu, pH, besiyeri kompozisyonu, osmolarite ve ısı belli başlılarıdır. Bu dış etkenlerden bazıları, heterojen metisilin direnci gösteren suşların tespitini kolaylaştırmak için laboratuvarlarda kullanılır. İzolatlar yüksek NaCl konsantrasyonu (% 2) ve düşük sıcaklıklarda (30-35°C) üretilir. NaCl konsantrasyonu ve ısının bu etkiyi nasıl yaptığı bilinmemektedir. Metisilin direnç seviyelerinin multiple kromozomal faktörlere bağlı olduğu gösterilmiş olsa da, klinik izolatlarda yüksek seviyeli dirence yaptığı katkı ispatlanamamıştır. Transkriptom veya proteom analizi gibi yeni geliştirilen teknikler, bu sorunun çözülmesine yardımcı olacaktır (Stapleton ve ark 2002).

1.13. Patogenez

Yangı, derinin kan ve lenf damarlarının yoğun olduğu bağ dokuda ve corium tabakasında gelişir. Hastalığın gelişimi ve seyri, oluşum nedenlerine bağlı olarak değişiklik gösterir ve buna bağlı olarak farklı isimler alır. Etkenin deri hücrelerinde yarattığı hasara göre; dermatitis erythematosa, dermatitis vesiculosa, dermatitis pustulosa, dermatitis madidans, dermatitis phlegmonosa olarak adlandırılabilir. Stafilokoklar nötrofiller tarafından öldürülür, bu nedenle virulansla ilişkili birçok özellikleri hücre içi öldürme ya da fagositozdan kurtulma üzerine odaklanmıştır. Bu durum büyük oranla protein ve kapsül üretimi ile sağlanmaktadır. 12 immunotip halinde üretilen kapsüller, antifagositiktir ve tip 1' e ait olanlar virulansı artırma ile ilgilidirler. Tip 1 makrokapsül oluşturmayan suşlar polisakkarid bir mikrokapsül oluşturabilirler; kapsülsüz suşlar fagositoza büyük ölçüde daha duyarlıdır ve in vivo örneklerde daha az virülansdır. *S. aureus* suşlarının çok büyük çoğunluğunun üzerinde bulunan protein A fagositoz için opsonizasyon derecesini

sınırlandırarak immunglobulinlere Fc kısımları ile bağlanır. Mutantlar bazı in vivo sistemlerde virulansı azaltmışlardır. Benzer şekilde teikoik asitler ve peptidoglikan parçaları, normalde bakteri yüzeyinde yerleşmek için hazır bulunacak olan kompleman bileşenlerini serbest çözeltiliye salan kompleman etkisini önleyen antijenler olarak rol oynayabilirler. Bu bakteri yaklaşımına karşı iki taraflı konak yanıtı vardır; bunlar kompleman aktivasyonuna klasik ya da alternatif yollarla yol açan konak faktörleri ile peptidoglikanın karşılıklı etkileşimi ve nötrofil kemotaksisidir (Waldvogel 2000). Koagulaz trombini aktive ederek fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar. Bazı stafilokoklar koagulaz oluşturmalarına karşın, çoğu oluşturmaz. Koagulaz negatif stafilokokların yara enfeksiyonlarının ve kateter prostetik kalp kapakçıkları, eklem protezleri ve kalp atış hızını ayarlayan elektrodları kapsayan yabancı cisimler ile ilgili enfeksiyonların önemli bir nedeni olduğu anlaşılınca kadar, koagulaz oluşturma özelliğinin, patojen türleri patojen olmayan türlerden ayırttığı düşünülmüştür; bu nedenle koagulaz artık patojenitenin ayrıcalıklı bir göstergesi değildir (Winn ve ark 2006, Brown 2005). Koagulaz mutantlar ve patent suşlar enfeksiyonun farklı hayvan modellerinde eşdeğer virulansa sahiptir; bununla birlikte enzimin enfeksiyon bölgesini çepeçevre sararak enfeksiyöz süresince katıldığı (lökosit infiltrasyonunu kısıtlayarak ya da organizmaları fagositoza karşı koruyarak) ya da stafilokokları konak proteinlerinde gizlediği ve immun sistem tarafından yabancı olarak tanımlanmasını önlediği düşünülmektedir (Arbuthnott ve ark 1990).

Hücre içinde canlı kalma ve yayılma büyük oranda toksin üretimi aracılığı ile olmaktadır. Bazı membran aktif toksinler mikroorganizmayı konak yanıtından korumakta ve konaktan gıda erişimi sağlamaktadır. Tek bir bakteriyel ürün, hastalığın gelişiminde ender olarak çok fazla öneme sahiptir. Alfa toksin alt birimleri hücre membranlarına bağlanır ve nekroza yol açan porlar oluşturur. Prostoglandinler ve diğer yangısal mediyatörler bazı hedef hücrelerden serbest bırakılırlar ve makrofaj fonksiyonu tehlikeye atılır (Arbuthnott ve ark 1990).

1.14. Stafilokokların Dermatitislere Etkisi

Stafilokok'lar doğa koşullarına dayanıklı olması ve insan ve hayvanların doğal florasında bulunması sebebiyle deri, burun boşluğu ve lezyonlarında üreyebilen mikroorganizmalardır. Hava, su, toprak ve bitkilerde çok sayıda stafilokoklara rastlanır. İnsan ve hayvanların derileri ve mukoz membranları üzerinde doğal flora oluştururlar. Bu nedenle fırsatçı bir patojendir. Hayvanların iç ve dış stres faktörleri ile korunma mekanizmasının bozulması, travma şekillenmesi, mekanik ve fiziksel faktörlere bağlı olarak deri bütünlüğünün bozulması veya kaşıntı hissine neden olabilecek herhangi bir etken sonucu oluşan portantrelerden girerek infeksiyona neden olabilmektedir (Scott ve ark 1987).

Stafilokoklar memelilerin derisinde geçici kontaminant olabilirler, kısa süre kalıcı olabilirler ya da uzun süre kolonize olabilirler. Çoğu infeksiyonlar deri ya da mukoz membranların çeşitli yollarla zedelenmesi sonucu oluşur. Stafilokok infeksiyonları sıklıkla keratinize, mukozal ya da konjuktival epitel bariyerlerinde bozulma ile başlar ve kateter, dikiş ipliği ve hatta debris gibi yabancı cisimler infeksiyonun ortaya çıkmasını kolaylaştırır. İnsan ve hayvanlarda değişik klinik tablo ile seyreden, birçok hastalığın etkeni olarak önem taşımakla birlikte en sık deri infeksiyonlarına neden olan bakteri grubu olarak bilinmektedir. Köpeklerde de neden olduğu deri hastalıklarının başında piyoderma gelmektedir. Dermatofit etkenleri asıl kaynağı toprak olan özel bir grup küf mantarı olup, insan ve hayvanlarda deri, kıl ve tırnakları infekte ederek ‘‘dermatofitoz’’ olarak tanımlanan çeşitli kutanöz infeksiyonları oluştururlar. Bu etkenlerin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği infeksiyona ‘Ringworm’da denilmektedir. İnfeksiyon genel olarak kutanözdür ve cansız kornifiye dokularla sınırlıdır (Quinn ve ark 1999). Köpek ve kedilerde dermatofitoza neden olan etkenler arasında *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Microsporum gypseum* en önemlilerdir (Scott ve ark 1987).

1.15. Piyoderma

Stafilokoklar mukozaların özellikle de nasal, anal ve genital mukozaların doğal konakçısı olarak düşünülür ve tüylerin taranması veya diğer manipulasyonlar sırasında etrafa saçılır. Dermatitler sistemik bir hastalığa da eşlik edebileceği gibi olaya genetik faktörler de dahil olabilir. Sebep ne olursa olsun dermatit evcil hayvanlar için ciddi bir rahatsızlık olarak seyredilmektedir. Dermatitin oluşumunda görülebilen bulgular oluşum nedenine göre spesifik farklılıklar gösterir. Genel olarak dermatitlerin başlangıcında görülen ilk belirti kaşıntı hissiyle beraber şekillendiği bölgede kızarıklık, lokal ısı artışı, ağrı, deride kalınlaşma ve tüy dökülmesidir. İlerleyen dönemlerde vezikül ve pustül şekillenir. Piyodermalar, derinin bakteriyel infeksiyonudur. Küçük hayvan pratiğinde ve özellikle köpeklerde yaygındır. Piyoderma yüzeysel, süperfisial ve derin piyoderma diye sınıflandırılır. Yüzeysel piyodermada bakteriler derinin en dış tabakasında kolonize olmuştur. Süperfisial piyodermada bakteriyel infeksiyon kıl folüküllerini bozmayacak düzeydedir ve sarı lekelenmeler görülebilir. Derin piyodermada bakteriyel infeksiyon kıl folüküllerini etkilemiş ve daha derinlere kadar ilerlemiştir. Bazı türlerde yaygın olarak görülen atopi, ektoparazitler, gıda alerjileri, deri travmaları, kötü tımar, seborrhea ve yalanma ve tırmalamaya bağlı akut sulu dermatitis (hot-spot) durumlarında görülür (Medleau ve ark 1986). Piyoderma sıklıkla sekonder olarak meydana gelir. Piyoderma'ya en sık *Staphylococcus spp.* daha az yaygın olarak da *E. coli* bakterisi sebep olur. Hayvanlarda birçok risk faktörü piyoderma gelişimine zemin hazırlar. Bu risk faktörleri olarak aşırı tımar ya da taramaya bağlı travma, pire ya da uyuz etkenleri gibi parazitler, gıda, kontakt ya da herediter alerjiler, hipotiroidizm gibi hormonal bozukluklar ve immun sistemin zayıflaması sayılabilir. Ayrıca, kısa tüylü, kıvrımlı ya da sertleşmiş bir deriye sahip hayvanlar, piyoderma gelişimine predispozitedir. Piyoderma da *Staphylococcus intermerdius* predominat tip olarak olarak terspit edilmiştir. Veteriner hekimlikte yakın zamanlarda kabul edilmiş koagulaz pozitif bir stafilokok olan *Staphylococcus schlieferi ssp. coagulans* köpeklerdeki piyodermanın bir diğer nedenidir. Stafilokok peptidoglikanına aşırı duyarlılık, deri mast hücrelerinin IgE sensitizasyonu nedeniyle olur. Stafilokok antijenlerinin varlığında ortaya çıkan degranulasyon, eritem ve kaşıntının eşlik ettiği lokal bir yangısal yanıt sağlar (Scott ve ark 1987).

1.15.1. Yüzeysel Piyoderma

Epiderminin en dış tabakasının superficial erozyonuyla karakterize olup papül ve püstül oluşumuna yol açmaz. Eritem, alopesi, eksudasyon, pururitis ve seconder bakteriyel kolonizasyon gelişir. Bu tür olgulardan predominant olarak stafilokoklar izole edilse de bakteriyel gelişme sekonderdir. Yüzeysel piyodermanın 2 tipi mevcuttur (Voss ve ark 1994).

1.15.2. Piyotravmatik Dermatit (Akut Islak Dermatit)

Genellikle yaz ve sonbahar aylarında sıcak ve nemli mevsimlerde gelişir. Primer nedenlerden kaynaklanan lokal irritasyonun yol açtığı kendini yalama, ısırma gibi travmalar nedeniyle gelişmektedir. Lezyonların geliştiği bölge neden olarak ipucu verebilir. Hijyen şartlarının ve kıl kondüsyonunun kötü olması, yetersiz tarama ve fırçalama hastalığa zemin hazırlar. Allerjik hastalarda (gıda ve pire allerjisi gibi) ve özellikle açık renk deri ve tüy rengine sahip hayvanlarda predispozisyon vardır (Voss ve ark 1994).

1.15.3. Intertrigo Kompleksi

Intertrigo kompleksi köpeklerde yaygın görülen kronik bir rahatsızlıktır. Hayvanlardaki belirli anatomik bölgelerde yetersiz ventilasyonun olması ve kendi kendini yaralamaya bağlı olarak bu bölgede bulunan mikroorganizmaların üremesi için uygun bir ortam sağlar ve hastalık şekillenir. Genellikle salya, gözyaşı ve idrara maruz kalan bölgelerdir. Bu nedenle sıcak, nemli ve doku sıvılarından zengin bu bölgelerde kolaylıkla seconder bakteriyel kolonizasyon oluşur. Aşırı kilolu hastalarda deri kıvrımı dermatitisi oluşma eğilimi vardır (Voss ve ark 1994).

1.15.4. Derin Piyoderma

Derin piyodermalar subcutis ve dermisin daha derin dokularının infeksiyonu olması nedeni ile daha inatçı ve daha ciddi cilt infeksiyonlardır. Şiddetli olgularda foliküler duvar şişer, zayıflar ve ruptura uğrayarak dermis içine kıl kökü keratini, bakteri ve bakteriyel ürünlerin salınımı oluşur. Bunun sonucu pyogranulomatöz perifollukulitis veya frunkulozis gelişir. Spontan olarak oluşmaz ve infeksiyonun her zaman bir nedeni vardır. Derin piyodermalar lokalize veya generalize olabilir. Özellikle Alman çoban köpeklerinde şiddetli generalize derin piyoderma gözlenir. Derin piyodermalı kedilerde alopesi, ülserasyonlar, hemorajik kabuklar ve fistüller bulunur. Alerjik hastalıklara bağlı sekonder olarak görülen derin piyoderma'nın klinik görünümünde eosinofilik plaklar bulunur. Kedilerde iyileşmeyen ve sık sık nüks eden derin piyoderma genellikle feline immundefisiensi virus, feline leukemia virus ya da atipik mikobakteri gibi sistemik bir hastalık ile ilişkilidir. Lokalize derin piyodermada infeksiyon küçük bir bölgede belirlenir. Kedilerde subcutan abse oluşturan en yaygın piyoderma formudur. Şiş bölge küçük bir kabukla örtülüdür. Bölge sıcak ve ağrılıdır. Generalize derin piyoderma vücudun daha geniş bölgelerine yayılır. Immunosupresyona neden olan sistemik infeksiyonlar, uygun olmayan hormon sağaltımları (progestagen ve glikokortikoid uygulamaları gibi), etkisiz antibiyotik sağaltımı predispozisyon oluşturur. Kedilerde ise generalize piyoderma olgularında sekonder bir hastalık aranmalıdır. Köpeklerde frunkulozis, potratmatik dermatitis, nasal follukulitis/frunkulozis, akne, pododermatitis, Alman çoban köpeği piyoderması, acral lick granuloma ve anaerobik selulitis olmak üzere değişik tipleri mevcuttur (Voss ve ark 1994).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2. 1. Gereç

2. 1. 1. İzolasyon Örnekleri

Tez çalışmamızda 2013 yılı yaz aylarında İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli, karma ve kuduz yönünden aşılansmış olan dermatofitozis şüpheli köpeklerin deri lezyonlarından alınan 100 adet svap örnekleme yapıldı.

2.1.2. Besiyerleri, Ayıraçlar, Solusyonlar ve Antibiyotik Diskleri

2.1.2.1. Besiyerleri

2.1.2.1.1. Blood Agar (Merck 1. 10886)

Blood Agar.....	40 g
Distile su.....	1000 ml

Karışımın pH'sı 7,2–7,4'e ayarlanmış, onbeş dakika otoklav edildikten sonra, 50°C'ye kadar soğutulup, içine % 7 oranında steril insan kanı ilave edildi.

2.1.2.1.2. Mannitol Salt Phenol Red Agar (MSA) (Merck 1.05404)

MSA ayırt edici ve seçici bir besi yeridir. Stafilokokların saf olarak elde edilmesi ve laboratuvarında tanımlanabilmesi açısından önemli olan mannitol fermantasyonunun gözlenebilmesi için MSA kullanıldı.

Mannitol Salt Phenol Red Agar.....	108 g
Distile su.....	1000 ml

Karışımın pH'sı 7,2–7,4'e ayarlanıp, onbeş dakika otoklavda sterilize edildikten sonra, 50°C'ye kadar soğutulup petrilere döküldü.

2.1.2.1.3. Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid CM 129)

Mueller-Hinton Agar.....	38 g
Distile su.....	1000 ml

pH: 7,3±0,2

Besiyeri 38 g olacak şekilde distile su içinde kaynatılarak eritilip 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. 45–50°C'a soğutulup steril petri kutularına 12,5 ml döküldü.

2.1.2.1.4. Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (% 20 Gliserinli) (Oxoid CM 0225)

BHIB	8 g
Gliserin	20 ml
Distile su.....	80 ml

Karışımın pH'sı 7,2–7,4'e ayarlanıp, 0,5 ml miktarda ependorf tüplere dağıtıldıktan sonra 121°C'de onbeş dakika otoklavda sterilize edildi

2.1.2.1.5. Trypton Soya Broth (TSB) (% 7,5 Tuzlu) (Oxoid CM 129)

TSB.....	8 g
NaCl.....	75 g
Distile su.....	1000 ml

Karışımın pH'sı 7,2–7,4'e ayarlandı. 5 ml miktarda tüplere dağıtıldı. 121°C'de onbeş dakika otoklavda sterilize edildi.

2.1.2.1.6. Stuart Transport Medium (Taşıma solusyonlu besiyeri) (BBL™)

Kullanılan besi yerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Sodium Thioglycollate	1.0 g
Sodium Glycerophosphate	10.0 g
Calcium Chloride	0.1 g
Methylene Blue	2.0 mg
Agar	3.0 g

2.1.2.1.7. DNase Test Agar (Merck 1.10449)

Triptoz.....	20 g
NaCl.....	75 g

Deoksiribonükleik asit.....	2 g
Agar agar.....	15 g
Distile su.....	1000 ml

Karışımın pH'sı 7,2–7,4'e ayarlandı. 121°C'de onbeş dakika otoklavda sterilize edildi. 12,5'er ml miktarda steril petrilere döküldü.

2.1.2.1.8. % 4 Sabouraud Dextrose Agar

% 4 Sabouraud Dextrose Agar.....	65 g
Distile Su.....	1000 ml

Karışımın pH' sı 5.6'ya ayarlanıp, 15 dakika otoklav edildikten sonra, 50°C'ye kadar soğutulup, içerisine antibiyotik ilave edilip steril petrilere döküldü.

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin Alınması

Sürüntüler servical bölge ve yüz bölgesinden serum fizyolojikle ıslatılmış steril pamuk eküvyonlarla sağa ve sola birkaç kez çevirmek suretiyle alınarak Stuart Transport Medium'a konuldu.

Alınan tüm örnekler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına aynı gün getirilip laboratuvar çalışmalarına başlandı. İncelemesi yapılan tüm svap materyalleri hayvan sahipleri bilgilendirilip, izin alınarak temin edildi.

2.2.2. *S. aureus* İzolasyonu

Laboratuvara getirilen örneklerden stafilokokların saf olarak elde edilmesi amaçlandı. Bunun için, deri sıvap örnekleri önce % 7.5 tuzlu TSB'a ekilip, 37°C'de 24 saat inkübe edildi, buradan MSA'a geçildi. MSA'da 24-48 saatlik inkübasyon sonunda üreyen stafilokok suşları, fenotipik özelliklerinin incelenebilmesi için kanlı agara pasajlandı. Stafilokok suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri standart laboratuvar işlemleri uygulanarak gerçekleştirildi (Murray ve ark 2003).

2.2 2.1. Fenotipik İdentifikasyon

İzolatların fenotipik identifikasyonlarında kullanılan katalaz, basitrasin duyarlılık, tüp koagulaz testleri aşağıdaki anlatıldığı şekilde yapılarak gerçekleştirildi.

2.2.2.1.1. Katalaz Testi: Bu test için besiyerinde üreyen kolonilerden steril öze ile alınıp temiz bir lam üzerine aktarıldıktan sonra üzerine 1–2 damla % 3'lük hidrojen peroksit damlatıldı. Katalaz enzimi oluşturan bakteriler hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırdığı için ortamdaki oksijen çıkışı kabarcık oluşumu ile belirlendi. Bu nedenle test sonucu kabarcıklar meydana geldiğinde katalaz pozitif, kabarcıklar oluşmadığında ise katalaz negatif olarak değerlendirildi (Murray ve ark 2003).

2.2.2.1.2. Basitrasin Duyarlılık Testi: Katalaz pozitif mikroskopik olarak Gram pozitif kok görünümündeki mikroorganizmalar Micrococcaceae grubunda kabul edildi. Bu suşlardan tek bir koloni TSB'da üretildikten sonra MHA'a ekim yapıldı ve ekim bölgesinin üzerine basitrasin diski yerleştirildi. 37°C'de 18–24 saat inkübe edildikten sonra basitrasine dirençli suşlar *Staphylococcus* spp. olarak ayrıldı (Koneman ve ark 1997).

2.2.2.1.3. Koagulaz Testi: Çalışmada, kullanılan bakterilerin koagulaz testleri tüpte gerçekleştirildi. Bunun için incelenecek koloni, içerisinde 0,8 ml serum fizyolojik ve 0,2 ml EDTA'lı tavşan plazması (Bactident Coagulase, 1.13306.0001 Merck) bulunan bir tüpe

ekildi. 37°C'deki benmaride bırakılarak 1, 2, 4, 8 ve 24. saatlerde pıhtının oluşması gözlemlendi. Koagülaz enzimine sahip türlerin kan plazmasını koagüle etmesi sonucunda test tüpünde katılaşma meydana gelirse, test sonucu pozitif, katılaşma meydana gelmiyorsa negatif olarak değerlendirildi. Elde edilen tüm koagülaz pozitif suşlar daha sonra kullanılmak üzere, % 20 gliserinli BHIB içerisinde -80°C'de saklandı.

2.2.2.1.4. Mannitol Fermentasyonu: Katalaz ve koagülaz testi pozitif olan bakterilerin mannitol salt agara ekimleri yapıldı. 37 ° C'de 24 saatlik inkubasyondan sonra izole edilen *S. aureus* kolonileri, çevresinde mannitolden asit oluşumunu gösteren sarı bir zon varlığı ile saptandı.

2.2.2.1.5. Glukoz Fermentasyonu: Yarıkatı glukoz besiyerine *S. aureus* kolonilerinden ekimler yapıldı. 37 °C'de 24 saatlik inkubasyondan sonra besiyerinin sarı renge dönüşmesi ile *S. aureus* identifikasyonu doğrulandı.

2.2.2.1.6. DNase Testi: DNA'lı besiyerine *S. aureus* kültüründen çizgi ekimi yapıp 35°C'de 24 saat bekletildi, daha sonra agar yüzeyine 1 N HCl damlatıldı. Ekim çizgisinin çevresinde saydam bir zon oluşması ile *S. aureus* identifikasyonu doğrulandı.

2.2.3. Antibiyotik Diskleri

Antibiyotik direncinin belirlenmesinde Oxoid marka Ampisilin (AMP; 10 µg), Amoksisilin+Klavulanik asit (AMC; 10 µg), Eritromisin (E; 15 µg), Enrofloksasin (ENR; 5 µg), Neomisin (N; 25 µg), Ceftizoksım (ZOX; 30 µg), Gentamisin (CN; 25 µg), Kanamisin (K; 30 µg) disklerinden yararlanılmıştır.

2.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Müeller-Hinton Agar (Oxoid) kullanılarak Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi uygulandı (Bauer ve ark 1966). Hazırlanan Müeller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra donmaya bırakıldı. *Staphylococcus aureus* suşlarının 0.5 Mc Farland değerindeki buyyon kültürlerinden plak besiyerinin yüzeyine her tarafa yaydırılarak ekimleri yapıldı. Ekim yüzeyinin kuruması için birkaç dakika beklenildikten sonra diskler ucu alevden geçirilerek steril edilmiş pensetle kenardan 1.5 cm, birbirlerinden 1.5 cm olacak şekilde yerleştirildi. Antibiyogram testlerinde kullanılan antibiyotik diskleri Oxoid firmasına ait olup diskler ve disk içerikleri şunlardır: Ampisilin (AMP; 10 µg), Amoksisilin+Klavulanik asit (AMC; 10 µg), Eritromisin (E; 15 µg), Enrofloksasin (ENR; 5 µg), Neomisin (N; 25 µg), Ceftizoksim (ZOX; 30 µg), Gentamisin (CN; 25 µg), Kanamisin (K; 30 µg). Plaklar 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra, 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek, disk çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2007) standartlarına göre yorumlandı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada 2013 yılı yaz aylarında İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli, karma ve kuduz aşıları tamamlanmış olan dermatofitozis şüpheli köpeklerin deri lezyonlarından alınan 100 adet svap örnekleme yapılarak Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ait laboratuvarında *S. aureus* yönünden incelendi. İzole edilen etkenlerin tür düzeyinde identifikasyonları ve fenotipik özellikleri incelenerek gerçekleştirildi.

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

İncelenen 100 örneğin toplam 51'inde (% 51) *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 18 adet küçük ırk dişi köpeklerden 6 (% 12), 15 adet küçük ırk erkek köpeklerden 9 (% 18), 31 adet büyük ırk dişi köpeklerden 13 (% 25) ve 36 adet büyük ırk erkek köpeklerden ise 23 (% 45) adet *S. aureus* izole ve identifiye edilmiştir. (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Saptanan *S. aureus* suşlarının cinsiyet ve ırka göre dağılımı

İncelenen Köpek Örneği Sayısı			<i>S. aureus</i> İzolasyon Sayısı	<i>S. aureus</i> İzolasyon Yüzdeleri (%)
Küçük Irk	Dişi	18	6	12
	Erkek	15	9	18
Büyük Irk	Dişi	31	13	25
	Erkek	36	23	45
TOPLAM		100	51	100

3.2. Antibiyogram Bulguları

Tez çalışmasında yapılan antibiyotik duyarlılık testine göre izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının % 25.4 oranında Eritromisine; % 54.9 oranında Amoksisilin+Klavulanik aside; % 3.9 Enrofloksasine; % 74.5 Ampicilline; % 5.8 Gentamisine; % 80 Seftizoksime; % 13.7 Neomisine; % 13.7 Kanamisine dirençli olduğu bulunmuştur.

Tez çalışmasında kullanılan antibiyotiklerin etki derecelerine göre inhibisyon zon sınırları Çizelge 3.2.'de, tespit edilen antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılım oranı ise Çizelge 3.3.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Kullanılan antibiyotiklerin etki derecelerine göre inhibisyon zon sınırları (CLS 2007).

ANTİBİYOTİKLER	DİRENÇLİ (R)	AZ DUYARLI (I)	DUYARLI (S)
AMP	≤ 28	-	≥ 29
AMC	≤ 19	-	≥ 20
E	≤ 13	14-22	≥ 23
ENR	≤ 17	18-20	≥ 21
N	≤ 13	14-15	≥ 16
ZOX	≤ 14	15-19	≥ 20
CN	≤ 12	13-14	≥ 15
K	≤ 13	14-17	≥ 18

AMP: Amoksisilin +Klavulanik asit , AMC:Ampicillin , E:Eritromisin , ENR:Enrofloksasin , N:neomisin , ZOX:Ceftizoksime , CN:Gentamisin , K:Kanamisin.

Çizelge 3.3. Antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılım oranı

İzolatlar	AMP			AMC			E			ENR			N			ZOX			CN			K		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>S. aureus</i> (n=51)	38	-	13	28	-	23	13	18	20	2	3	46	7	18	26	41	9	1	3	-	48	7	7	37

4. TARTIŞMA

İnsanlarda birçok yere kolonize olabilmesine karşın, *S. aureus* için en sık taşıyıcılık yeri burnun ön boşluğudur. Bunun dışında deri, perineum, farenkste etken lokalize olabilmektedir. Pet hayvanlarında da *S. aureus* burun, deri ve anal bölgelerden izole edilmektedir ve etkenlerin özellikle burun ve ağızdan deri ya da diğer bölgelere geçtiği düşünülmektedir (Boost ve ark 2008, Wertheim ve ark 2005).

Evlerde beslenen kedi, köpek gibi pet hayvanlarının insanlardaki stafilokokkal infeksiyonlar için bir kaynak olabileceği çok uzun zamandır belirtilmektedir. Ayrıca kontamine çevrenin de ortak kullanımı stafilokokların kross-kontaminasyonu ile sonuçlandığı vurgulanmaktadır. *S. aureus*'un burun boşluğuna ulaşmasında da en önemli yollardan biri ellerdir. Kontamine yüzeylerden ellere geçen etken buradan da burun boşluğuna yerleşebilmektedir. Diğer yol direkt hava yolu ile etkenin yerleşmesidir ki bu durum daha az gözlenmektedir (Wertheim ve ark 2005).

Sonuç olarak, *Staphylococcus aureus*, insan sağlığı için önemli bir patojendir. Hayatı tehdit eden nazokomiyal infeksiyonlardan en sık izole edilen etkenlerin başında gelmektedir. Ciddi ve hayatı tehdit edici infeksiyonlar başta olmak üzere (toksik şok sendromu, solunum sistemi infeksiyonları, endokardit, tromboflebit, besin zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, menenjit, sepsis, bakteriyemi) birçok vücut bölgesindeki bakteriyel yangılardan da sıklıkla izole edilmektedirler. Eksfoliyatif toksin, stafilokok infeksiyonlarının vezikuler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya çıkmıştır. Haşlanmış deri sendromu da bu toksinle oluşur. (Bilgehan 2004). Tedavilerinde yanlış antibiyotik seçimi ve kullanılmasından dolayı bu mikroorganizma yüksek ve geniş spektrumlu direnç oluşturmakta ve büyük sorunlar yaşanmaktadır (Waldvogel 1995, Gündeş ve ark 2000).

Bu çalışmada 2013 yılı yaz aylarında İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli, karma ve kuduz yönünden aşılanmış olan dermatofitozis şüpheli köpeklerin deri lezyonlarından alınan 100 adet svap, örnekleme yapılarak Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda *S. aureus* yönünden incelendi. İzole edilen etkenlerin tür düzeyinde identifikasyonları ve fenotipik özellikleri incelenerek gerçekleştirildi.

Dermatofit yönünden de incelenen bu örneklemelerde dermatofitozis varlığı tespit edilemedi. Konuyla ilgili olarak, Sparkes ve arkadaşları (1993) kedi ve köpeklerden aldıkları 8349 materyalin dermatofit yönünden 1368 (% 16)'inde pozitiflik saptamışlardır. Mancianti ve arkadaşlarının (2002) İtalya'da yaptıkları bir çalışmada ise, 10678 hayvandan alınan materyaller; dermatofit yönünden incelenmiş ve sonuçta 2456 (% 23) örnekte dermatofit varlığı saptanmıştır. Brezilya'da yapılan çalışmalarda, Paixao ve arkadaşları (2001) dermatofitoz şüpheli 74 köpek ve 18 kediden alınan materyallerde, % 22,8; Brilhante ve arkadaşları (2003) ise, 1 yıl boyunca inceledikleri 189 köpek ve 38 kedi materyalinde % 18,1 oranında dermatofit izolasyonu bildirmişlerdir. Hırvatistan'da 9 yıllık periyod boyunca, incelenen 3353 köpek ve 1838 kedi materyalinin 1263 (% 24,3)'ünde dermatofit izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Pinter 1999). Yine 2008 yılında Ankara Üniversitesinde köpek ve kedilerin derilerinden alınan örneklerle yapılan çalışmada 211 köpek materyalinden alınan 16 (% 7.5)'sında dermatofit saptanmıştır (Tel 2008). Fakat yaptığımız bu araştırmada köpeklere ait izolasyon bulgularında dermatofitozis üremesi gerçekleşmemiştir. Bu durum dermatofit üreme oranının düşük olması, materyal sayısının diğer çalışmalara göre daha düşük olması ve tüy uzunluğu ile açıklanabilir. Ayrıca çalışmamızda, büyük ırk dişi (% 25) ve erkek (% 45) köpeklerde, küçük ırk dişi (% 12) ve erkek (% 18) köpeklerden daha fazla oranda *S. aureus* izole edildiği, genel olarak da erkek (% 63) hayvanlardan, dişi (% 37) hayvanlara oranla daha sık olarak *S. aureus* izole edildiği ortaya konulmuştur. Bu bulgular, hasta hayvanlara klinik yaklaşım ve antibiyotik tedavisi açısından Veteriner Pratisyen Hekimlere ışık tutmaktadır.

Hastalık her mevsimde, her yaşta ve ırkta görülmesine karşın özellikle kışın artmaktadır. Gençler erginlere göre, erkekler dişilere göre hastalığa daha çok yakalanmaktadır (Noorudin 1986). Hastalığın ortaya çıkışında kalıtsal faktörler, mikrobiyal, mikotik ve fokal infeksiyonlar, derinin yağlı oluşu, alerjenler, gebelik,

hormonal dengesizlik, hatalı beslenme ve sindirim sistemiyle ilgili bozukluklar gibi etkenlerin rol oynadığı bildirilmektedir (Thoday 1989).

Dermatofitozun prevalansı; ülkeler, coğrafik bölgeler, mevsimler, iklim farklılıkları, bakım ve beslenme koşulları ile kentler ve kırsal alanlarda yaşamaya göre değişmektedir. Özellikle nem oranı yüksek, ılık iklime sahip ve sokak hayvanlarının sayısının fazla olduğu bölgelerde prevalansın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kedi ve köpeklerde dermatofitozun mevsimsel dağılımının incelendiği araştırmalarda infeksiyonun çoğunlukla sonbahar ve kış aylarında belirgin olarak arttığı gözlenmiştir (Mancianti 2002).

Son yıllarda, deri hastalıklarında antioksidatif metabolizmanın rolüne ilişkin çalışmalarda önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada, köpeklerde gözlenen deri hastalıkları içerisinde önemli bir yere sahip olan piyoderma ile antioksidatif metabolizma arasındaki ilişkinin incelenmesi ve oksidatif hasarının boyutunun 8-OHdG üzerinden gösterilmesi amaçlanmıştır. 8-OHdG düzeylerine göre, piyoderma özellikle erkek köpekleri etkilemektedir. Dişi köpeklerde piyodermanın etkisi oksidatif hasar yönü ile sınırlı kalmış ve dişi köpeklerde sadece MDA düzeylerinde önemli artış gözlenmiştir. Sağlıklı erkek ve dişi köpekler arasında 8-OHdG yönünden önemli fark tespit edilememiş olması ve sağlıklı ve piyodermalı dişi köpekler arasında 8-OHdG yönünden farklılığın önemsiz bulunması, piyoderma ve cinsiyet ilişkisini vurgulamaktadır. Piyodermalı köpeklerde oksidatif stresin etkilerinin bir DNA hasarı markeri olarak 8-OHdG üzerinden gösterildiği başka çalışmaya rastlanmamıştır. Piyodermalı köpekler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, piyoderma ile oksidatif DNA hasarının bir ürünü olan 8-OHdG'in idrardaki düzeyleri arasında özellikle ciddi bir ilişki olduğu görülmektedir. Dişi köpeklerde bir veya birçok koruyucu faktör rol oynamakta ve 8-OHdG düzeyleri erkek köpeklerden olduğu üzere bir artış kaydetmemektedir. Köpeklerde deri hastalıkları ile antioksidatif metabolizma arasındaki ilişkinin gösterilmesi için yeni çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekli görülmektedir (Ercan 2012).

1952'de ilk bulunduğu tüm Stafilokok suşlarına etkili olan eritromisin, penisilin ve tetrasikline dirençli *S. aureus* infeksiyonlarında geniş çapta kullanılmıştır (Lepper 1954). Hastalarda kısa süreli eritromisin tedavisi uygulandığında Eritromisine dirençli suşların çıkması gecikmektedir. Eritromisine dirençli suşların oranı % 43 olduğu görülmüş

ve bu suşların aynı zamanda çoğul dirençli olduğu da tespit edilerek Kanamisine de dirençli olduğu gözlemlenmiştir. (Anğ ve ark 1987).

10 yıla yakın tedavide kullanıldığı halde Gentamisin'e karşı direnci pek rastlanmamakla birlikte 1976'da İngiltere'nin çeşitli yerlerinde Gentamisine dirençli *S. aureus* ile hastane infeksiyonu salgınları ortaya çıkmıştır. 1970'ler deki gentamisin direncinin artışının nedeni olarak bu antibiyotığın toplumdaki yaygın yüzeysel kullanımı gösterilmiştir (Roberts ve ark 2005).

Boost ve arkadaşları (2008), *S. aureus* izolatları arasında eritromisinin dirençlilik oranının yüksek olduğunu saptamışlar bu direnç oluşumunu bu preparatların veteriner hekimlik alanında kullanımının fazla olmasından kaynaklandığını düşünmüşlerdir. Bu hem düzensiz antibiyotik kullanımının bir yansıması olarak değerlendirilebileceği gibi özellikle belli infeksiyonların tedavisinde ilk akla gelen bu ajanların kullanımını da sınırlandırmaktadır. Eritromisine karşı saptanan direnç oranı *S. aureus*'ta % 21.5 olarak bulunmuştur. Tedavide klinik yönden uygun durumlarda bu antibiyotik kullanılabilir (National Committee for Clinical Laboratory Standarts Performance Standarts for antimicrobial disk susceptibility tests 1997).

Enrofloksasin, ülkemizde pet hayvanlarında kullanımı olan bir antibiyotiktir. Özellikle kedilerde ve köpeklerde enrofloksasine direnç % 50'ler civarında seyretmekteydi. Günümüzde pet hayvanlarında özellikle Gram pozitif kok infeksiyonlarında β -laktam grubu anti-biyotiklerin kullanımının daha yoğun olması; henüz enrofloksasine çok yüksek bir direnç gelişmediği gözlenmiştir, ancak daha ileri dönemlerde bu grup antibiyotiklere direnç de önemli sorun oluşturabilecek gibi görünmektedir (Bağcıgil ve ark 2011).

Varges ve arkadaşları (2009), çoğul direncin % 40'ların üzerinde olduğu çalışmalarında, amoksisilin+klavulanik asit kombinasyonuna direncin % 20 seviyelerinde olduğunu, köpeklerde stafilokokkal infeksiyonlarda klinik açıdan kullanımının daha yararlı olabileceğini gözlemlemişlerdir. Bu çalışmadaki elde edilen izolatlar arasında

amoksisilin+klavulonik aside direnç % 15 ile % 25 arasında değişmekteydi ki bu da gerekli durumlarda tedavide laboratuvar sonuçları çıkana kadar bu antibiyotiğin kullanımına olanak vermektedir.

Stafilokok infeksiyonlarının tedavisi amacıyla uzun yıllardan beri Beta-laktam grubu antibiyotikler kullanılmıştır. Beta-laktam grubu antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımı bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimini de beraberinde getirmiştir. Penisilin ve amoksisiline karşı ise yüksek oranda direnç görülmüş, bu nedenle Beta laktamaz aktivitesinden en fazla etkilenen antibiyotiklerin penisilin ve amoksisilin olduğu saptanmış ve bu antibiyotiklere karşı dirençlilikte Beta laktamaz enziminin etkili olabileceği düşünülmüştür (Sevinti 2009).

1987 yılında yapılan bir çalışmada KPS suşlarının % 31.85'i ampisiline duyarlı bulunurken, sulbaktam+ampisilin kombinasyonunda bu oran % 85.5 olarak bulunmuştur (Gün 1988).

Ulutan ve arkadaşları (1990) yaptıkları bir çalışmada *S. aureus*'un amoksisilin+klavulanik asite %82.4, seftizoksim %95.4 oranında duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde, amisillin+sulbaktam ve amoksisilin+sulbaktam ve amoksisilin+kalvulanik asit kombinasyonları ile yapılmış çeşitli araştırmalarda, her iki betalaktamaz inhibitörü substratın kombine oldukları penisilinlerin etkisini çok arttırdıkları gösterilmiştir. Koagulaz pozitif stafilokoklarla yapılan çeşitli çalışmalarda, ampisilin+sulbaktam ve amoksisilin+klavulanik asitin etkinliğini Wilke ve arkadaşları (1988), sırasıyla % 96 ve % 98 olarak saptamışlardır.

Yapılan bu çalışmada izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının % 25.4 oranında Eritromisine; % 54.9 oranında Amoksisilin+Klavulanik aside; % 3.9

Enrofloksasine; % 74.5 Ampicilline; % 5.8 Gentamisine; % 80 Seftizoksime; % 13.7 Neomisine; % 13.7 Kanamisine dirençli olduğu saptanmıştır.

5. SONUÇ

İnsanlara en yakın hayvan türü olan köpeklerde deri infeksiyonlarından sorumlu stafilokokların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmasının yanı sıra enfekte köpeklerden sahiplerine geçerek zoonotik infeksiyonlara neden olabilecekleri çalışmamız ile birlikte ortaya konmuştur. Pyodermalardaki rollerinin iyi bilinmesinin önlem ve tedavi için önemini ortaya koymak adına çalışmaların çeşitlendirilmesi ve saha araştırmaları daha da önem kazanmaktadır.

Önceki yıllara oranla antibiyotik dirençliliği ve yapılan bu çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında özellikle veteriner hekimlikte sıkça kullanılan; amoksisilin+klavulanik asit, ampicilline ve ceftizoksimin direnç düzeylerinde artma meydana geldiği görülmüştür. Özellikle de seftizoksime karşı direnç düzeyindeki artış diğer antibiyotiklere göre oldukça fazla orandadır. Veteriner hekimlikte ampisilin, amoksisilin gibi geniş spektrumlu penisilinlerin yaygın kullanım sonucu bu antibiyotiklerin antibakteriyel etkinliğinde önemli derecede azalma ortaya çıkmıştır. Son yıllarda beta-laktamaz inhibitörü olan klavulanik asit kombinasyonları hazırlanarak bu antibiyotiklerin etkinliğinde artma sağlanmıştır. Buna karşın eritromisin, enrofloksasin ve gentamisin direnç düzeylerinde azalma meydana gelmiştir. Bu bulgular ışığında özellikle küçük hayvan hekimliğindeki deri lezyonları ve infeksiyonlarında en etkili antibiyotiğin enrofloksasin olduğu ve büyük ırk hayvanlarda küçük ırklara göre, ayrıca erkek hayvanlara dişilere göre daha sık oranda *S. aureus* izole edilebileceği ortaya konmuştur.

ÖZET

Dermatofitlerde *Staphylococcus aureus*'un Rolü

Bu çalışmada 2013 yılı yaz aylarında İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli ve aşıllı olan dermatofitozis şüpheli köpeklerin deri lezyonlarından alınan 100 adet svap örnekleme yapılarak Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda *S. aureus* yönünden incelendi.

İncelenen 100 örneğin toplam 51'inde (% 51) *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 18 adet küçük ırk dişi köpeklerden 6 (% 12), 15 adet küçük ırk erkek köpeklerden 9 (% 18), 31 adet büyük ırk dişi köpeklerden 13 (% 25) ve 36 adet büyük ırk erkek köpeklerden ise 23 (% 45) adet *S. aureus* izole ve tanımlanmıştır.

Yapılan bu çalışmada izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının % 25.4 oranında Eritromisine; % 54.9 oranında Amoksisilin+Klavulanik aside; % 3.9 Enrofloksasine; % 74.5 Ampicilline; % 5.8 Gentamisine; % 80 Seftizoksime; % 13.7 Neomisine; % 13.7 Kanamisine dirençli olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dermatofit, *Staphylococcus aureus*, antibiyotik duyarlılığı, köpek.

SUMMARY

The Role of *Staphylococcus aureus* in Dermatophytes

In this study, 100 swabs, which were collected from skin lesions of owned, vaccinated and dermatophytosis suspected dogs found in Izmir region were examined for *S. aureus* in Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Department of Microbiology Laboratory.

As a result 51 (51 %) *S. aureus* were isolated out of 100 samples. *S. aureus* strains were identified from 6 (12 %) of 18 smallbreed female dogs, 9 (18 %) of 15 smallbreed male dogs, 13 (25%) of 31 bigbreed female dogs and 23 (45 %) of 36 bigbreed dogs.

The *Staphylococcus aureus* strains isolated in this study found to be resistant to Erythromycin in the ratio of 25.4 %, Amoxicillin-clavulanic acid in the ratio of 54.9 %, Enrofloxacin in the ratio of 3.9 %, Ampicillin in the ratio of 74.5 %, Gentamicin in the ratio of 5.8 %, Ceftiofur in the ratio of 80 %, Neomycin in the ratio of 13.7 and Kanamycin in the ratio of 13.7 %.

Keywords: Dermatophyte, *Staphylococcus aureus*, antibiotic susceptibility, dog.

KAYNAKLAR

Akan M. Staphylococcus infeksiyonları. In: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), Ed.: N. Aydın, J. Paracıkoğlu, Ankara: İlke-Emek Yayınları, Bölüm 2, 2006.

Akcam FS, Tinaz BG, Kaya O, Tigli A, Türe E, Hoşoğlu S. Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in mecA-positive *Staphylococcus aureus* and comparison of mecA with femA, femB, femX positivities. Microbiol Res. 2007.

Anğ Ö, Güvener Z. *Staphylococcus aureus*, ve beta hemolitik streptokok suşlarının troleandomisin'e duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg 1987; 17:41-4).

Anonim 1. Metisilin Dirençli Stafilokoklarda Glikopeptid Antibiyotiklere Duyarlılık Durumunun Araştırılması. Erişim Adresi: <http://tez.sdu.edu.tr/Tezler/TT00405.pdf> Erişim Tarihi: 01.12.2012

Anonim 2. Erişim Adresi: www.textbookofbacteriology.net. Erişim Tarihi: 10.12.2012

Anonim 3. Erişim Adresi: www.hospitaliumgroup.com Erişim Tarihi: 10.12.2012

Arbuthnott JP, Coleman DC, De Azavedo JS. Staphylococcal Toxins In Human Disease. *J. Appl. Bacteriol. Sym. Suppl.* 1990; 101s- 107s.

Auwers PV, Godard C, Denis C. In vitro activities of new antimicrobial agents against multiresistant *Staphylococcus aureus* isolated from septicemic patients during a Belgian national survey from 1983 to 1985. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990. 34: 226.

Baddour MM, Kheir MM, Fatani AJ. Comparison of mecA polymerase chain reaction with phenotypic methods for the detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol.* 2007. 55: 473-479.

Bağcıgil AF. Hayvanlardan, Klinik Ortamından ve Klinik Çalışanlarından İzole edilen Metisilin Dirençli Stafilokokların Tür Dağılımları, 2011.

Ball P. Emergent resistance to ciprofloxacin amongst *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: clinical significance and therapeutic approaches. *J Antimicrob Chemother.* 1990; 26: 165-179

Berger-Bachi B, Rohrer S. Factor influencing methicillin resistance in *Staphylococci*. *Arch Microbiol.* 2002; 178: 165-171

Bilgehan H. Gram Olumlu Koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Fakülteler Kitabevi, İzmir, TÜRKİYE; 2000. s: 239-68.

Bilgehan H. Gram olumlu koklar. Bilgehan H., Klinik Mikrobiyoloji Tanı, 4. Basım, İzmir Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 2004;31:507-509.

- Boost MV, O'Donoghue MM, James A. Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. *Epidemiology and Infection*, 2008; 136 (7), 953-964.
- Boussard P, Pithsy A. Relation between slime production, antibiotic sensitivity and the phaetype of coagulase negative *Staphylococci*. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*; 1993; 18: 271-274.
- Brilhant RSN, Cavalcante CSP, Soares-Junior FA, Cordeiro RA, Sidrim JJC, Rocha MFG. High rate of *Microsporum canis feline* and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia*, 2003; 156, 303-308.
- Brown FJ. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*; 2005. 56: 1000-1018.
- Bryan S. Fairfield Hospital Historical Collection. Diagnosis and management of *Staphylococcus aureus* infections of the skin and soft tissue. *Internal Medicine Journal*, Melbourne 2005; 35:S97-S105.
- Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004; 23(5): p. 389-92.
- Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustacelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabından*. Güneş Kitabevi, Ankara: 339-346, 1999.
- Cengiz SA. *Koagülaz Negatif Stafilokoklar*. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Cengiz AT, editör. Ankara: Güneş Kitabevi, TÜRKİYE; 2004. s: 351-60.
- Chambers HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*; 1997. 10(4):781-91.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey EH. Adherence of Coagulase-Negative *Staphylococci* to Plastic Tissue Culture Plates. A Quantitative Model For The Adherence of *Staphylococci* to Medical Devices. *J Clin Microbiol*; 1985. 22: 996-1006.
- Cottagnoud P. Cellular and molecular aspects of drugs of the future, 2002
- Couto L, Sanches IS, Saleao R, Lencastre H. Molecular Characterization of *Staphylococcus sciuri* Strains Isolated from Humans. *JCM.I*, 2000; 136-1143.
- Degener JE, Heck MEOC, Leeuwen WJ, Heemsherk C, Crelaard A, Joosten P, Caesar P. Nosocomial infection by *Staphylococcus haemolyticus* and typing methods for epidemiological study. *Journal of Clinical Microbiology*; 1994; 32: p. 2260-2265
- Derbentli Ş. Stafilokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. *ANKEM Derg*, 2005; 19 (EK 2): 54-60.
- Devries LA, Laevens H, Haesebroek F. A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*, 1994; 57 (2): 240-244.

- Dündar V. Metisiline dirençli Stafilokok infeksiyonları. *Klimik Dergisi*, 2000; s. 13: 26-27.
- Ercan N. Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri. *Ankara Üniv.Vet. Fak. Derg.*, 59,163-168, 2012.
- Francioli M, Bille J, Glauser MP. Betalactam resistance mechanisms of methicilin resistance *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.*, 1991; 163: p. 514-523.
- Gray ED, Peers G, Verstegen M, Regelman WE. Effect of extracellular slime substance from *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response. *The Lancet*, 1984; 18: p. 365-367.
- Greene RT, Schwartz S. Small antibiotic resistance plasmids in *Staphylococcus intermedius*. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1992; 276, 380-389
- Gün H, Yılmaz E, Kocabeyoğlu Ö, Güngör S, Emekdaş G, Küçükkaaslan A. Çeşitli klinik materyalden stafilokok izolasyon sıklığı ve bunların antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi, *GATA Bült.*, 1988; 30:871.
- Gündeş G, Karadenizli A, Willke A. Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında çoğul antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 2000; 15: 303- 306.
- Hackbarth CJ, Chamber HF. Methicillin resistant *Staphylococci*: Detections methods and treatment of infections, *Antimicrob Agents Chemother*, 1989; p. 33: 995.
- Hakenbeck R, Coyette J. Resistant Penicilin-binding proteins. *CMLS*, 1998; p. 54, 332-340.
- Hartmann FA, White DG, West SEH, Walker RD, Deboer DJ. Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Vet. Microbiol.*, 2005; 108: 119-131.
- Japoni A, Alborzi A, Orafa F, Rasouli M, Farshad S. Distribution paterns of methicillin resistance genes *mecA* in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens; 2004. p. 173-178.
- Johnson GM, Lee PA, Regelman WE, Gray ED, Peters G, Quie PG. Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* slime. *Infection and Immunity*, 1986; p. 54: 13-20.
- Kernodle DS, Classen DC, Burke JP, Kiser AB. Failure of cephalosporins to prevent *Staphylococcus aureus* surgical wound infections. *JAMA*, 1990; 263: 961-966
- Kobayashi N, Alam MM, Urasawa S. Genomic Rearrangement of the *mec* Regulator Region Mediated by Insertion of IS431 in Methicillin-Resistant *Staphylococci*. *American Society for Microbiology*, 2001; p. 45-335-338.

Kloos WE, Smith PB. *Staphylococci*. In: Lenette, E.H, Balows, A., Hausler, W.J., Shadomy, H.J. (eds): *Manuel of Clinical Microbiology*. 4th ed., Washington D.C., ASM Press, 1994; p. 143-153.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Gram-positive cocci: Part-1: Staphylococci and related organisms. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth Edition. New York: The Lippincott, 1997; p.539-76.

Kotilainen P, Maki J, Oksman P, Viljanen MK, Nikoskelaainen J, Huovinen P. Immunochemical analysis of the extracellular slime substance of *Staphylococcus epidermidis*. *European Journal of Clinical Microbiology, Infectious Diseases*, 1990; 9: p. 262-270.

Kuwahara-Arai K, Kondo N, Hori S, Tateda-Suzuki E, Hiramatsu K. Suppression of Methicillin Resistance in a *mecA* -Containing Pre-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain is Caused by the *mecl* -Mediated Repression of PBP 2' Production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1996; p. 2680-2685.

Leonard FC, Markey BK. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Animals. A review. *Vet J*, 2008; 175:27-36

Leonard FC, Abbott Y, Rossney A, Quinn PJ. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice*. *Vet Rec*, 2006;158(5):155-59

Lepper MH, Moulton B, Dowling HF, Jackson GC, Kofmon S. Epidemiology of erythromycin-resistant staphylococci in a hospital population; effect on therapeutic activity of erythromycin. In *Antibiotics Annual 1953-1954*, New York: Medical Encyclopedia Inc, 1954:308-13)

Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43: 1062-1066

Lister PD. Emerging resistance problems among respiratory pathogens. *Am. J. Manag. Care*, 2000; 6 (8): 409-18.

Liwwmore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int J Antimicrob Agents*, 2000; 16 Suppl 1: S3-10.

Lowy R, Franklin D. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus* *Jou. Microbiol*, 2003; p. 111, 1265-1273.

Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and methods laboratory detection, *Infect Control HOSP Epidemiol*, 1987; 12: p. 14.

Mancianti F, Nardoni S, Cecchi S, Corazza M, Taccini F. Dermatophytes isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year-period. *Mycopathologia*, 2002; 156, 13-18.

- Mallorqu Fernandez G, Marrero A, Gomis RC. Staphylococcal Methicillin Resistance: fine focus on folds and functions. Institut de Biologia Molecular de Barcelona, 2004; p. 18-26.
- Marples RR, Cooke EM. Current problems with methicilin resistance *Staphylococcus aureus*. J. Hosp. Infec., 1988; 11: 381-392.
- McDougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in *Staphylococci* resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins, J Clin Microbiol, 1986; 23: 832
- Mc Taggart LA, Elliot TSJ. Is resistance to novobiocin a reliable test for confirmation of the identification of *Staphylococcus saprophyticus*. Journal of Medical Microbiology, 1989; 30: 253-266.
- Medleau L, Long RE, Brown J, Miller WH. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. *Am. J. Vet. Res.*, 1986; 47: 229-231.
- Murray PR, Tenover FC, Tenover FC. Manual of clinical microbiology, 8th ed. Clin Microbiology, Bölüm 1. Washington DC: ASM Pres, 2003; p3.
- Murray PR, Tenover FC, Tenover FC. Medical Microbiology; 4th ed. Philadelphia: Elsevier, 2005; 203-12;221-36.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Document: M2-A6, 6 ed, 1997.
- Noorudin, M and Singh, B.(1986). Dermatophytosis in buffaloes, cattle and their attendants. *Mykosen*.30, (12), 594-600.
- Paixao GC, Sidrim JJC, Campos GMM, Brilhante RSN, Rocha MFG. Dermatophytes and saprobes fungi isolated from dogs and cats Fortaleza. Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 2001; 53, 568-573.
- Pereira SF, Henriques AO, Pinho MG, de Lencastre H, Tomasz. A Role of PBP1 in cell division of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2007; 189(9):3525-31.
- Pinter L, Jurak Z, Ukalovic M, Susic V. Epidemiological and clinical features of dermatophytoses in dogs and cats in Croatia between 1990 and 1998. *Veterinarski. Arhiv*, 1999; 69, 261-270.
- Roberts S, Chambers S. Diagnosis and management of *Staphylococcus aureus* infection of the skin and soft tissue; *Internal Medicine Journal*, 2005; 35: S97-S105.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. London, England: Mosby-Wolfe. P:381-390, 1999.
- Scott DW, Horn RT. Zoonotic dermatoses of dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract*, 1987; 17,117-144.
- Sevinti DA, Şahin M. Sığır Mastitislerinden İzole Edilen Stafilokok Suşlarının Beta-Laktamaz Aktivitesi ve Bazı Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Saptanması; 2009.

Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Shaw SE, Wright AL, Stokes CR. Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet. Rec*, 1993;133, 57-61.

Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Sci Prog*, 2002; 85: 57-72.

Thoday KL (1989): Diet-related zinc responsive skin disease in dogs: a dying dermatosis. *Small Anim. Practise.*, 30, 206-212.

Tel OY, Akan M. (2008): Isolation of dermatophytes from cats and dogs. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*55:167-171

Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Unal S. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004; s. 9-68.

Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. Asya Tıp Kitapevi, İzmir, 2005. s. 6.

Ulutan F, Sultan N, Akça Ö. Stafilocokların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Hij Den Biyol Derg* 47:79; 1990.

Varges R, Penna B, Martins G, Martins R, Lilenbaum W. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isoated from naturally occurring canine external ocular diseases. *Veterinary Ophthalmology*, 2009; 12 (4), 216-220.

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, USA, 2000; p: 2069-92.

Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 2005; 5 (12), 751-762.

Weller TMA. The Distribution of *mecA*, *mecRI*, and *mecI* and Sequence analysis of *mecI* and the *mec* Promoter Region in *Staphylococci* Expressing Resistance to Methicillin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1999; p. 43,15-22.

Willke A. Stafilocoklarda Metisiline Direnç Mekanizmaları ve Belirlenmesi. *ANKEM Derg* 6, 1998; (No.2); s. 288-291.

Wilke A, Tural D, Gültan K, Tekeli E. Ampisilin ve beta-laktamaz inhibitörlü kombine preparatların bazı bakterilerle karşılaştırmalı etkinlikleri, *ANKEM Derg*, 1988; 2:127

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. Gram-Positive Cocci. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Darcy P. Lippincott Williams Wilkins. Baltimore, 2006; 623-671.

Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 1994; 13: 50-55.

Younger JJ, Christensen GD, Bartley DL, Simmons JCH, Barrett FF. *Coagulase negative Staphylococci* isolated from cerebrospinal shunts: importance of slime production, species identification and shunt removal to clinical outcome. *The Journal of Infectious Diseases*, 1987; 156: 548-554.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İzmir/Ödemiş'te doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Ödemiş'te tamamladım. 2001 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde eğitime başlayarak 2007 yılında mezun oldum. Aynı yıl İzmir Özel Pan-Vet Veteriner Kliniği'nde küçük hayvan hekimliği yapmaya başladım. 2 yıl bu kurumda çalıştıktan sonra 2009 yılında Ödemiş Belediyesi'nde görev yapmaya başladım. Halen ödemiş Belediyesi Hayvan Bakımevi'nde ve görev yapmaktayım. Yabancı dil olarak "İngilizce" bilmekteyim. 2011 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD Yüksek Lisans programına başladım.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Osman KAYA' ya, çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ, Doç. Dr. Serap SAVAŞAN ve Yrd. Doç.Dr. Göksel ERBAŞ'a, tezin yazım aşamasında destek olan Araştırma Görevlisi Dr. Uğur PARIN'a, laboratuvar çalışmalarımda büyük yardım ve desteklerini gördüğüm Veteriner Hekim Neşe UÇAN'a ve Veteriner Hekim Zeynep GÜLTEKİN'e sonsuz teşekkür ederim,

Ayrıca yüksek lisans çalışmamda destek veren sevgili aileme de teşekkürlerimi bir borç bilirim.