



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİYABETİK AYAK YARALARINDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
SIKLIĞI VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

SERPİL ÇETİN

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
HAZİRAN-2017**



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DIYABETİK AYAK YARALARINDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
SIKLIĞI VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

SERPİL ÇETİN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
HAZİRAN-2017**

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK AYAK YARALARINDA *Staphylococcus aureus* SIKLIĞI VE BAZI
BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

SERPİL ÇETİN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ danışmanlığında hazırlanan bu tez **19/06/2017** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ
Başkan

Prof. Dr. Nizami Duran
Üye

Doç. Dr. Aynur Demir
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 15740

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

19.06.2017

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

SERPİL ÇETİN

ÖZET

DİYABETİK AYAK YARALARINDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SIKLIĞI VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Global olarak hızla artış gösteren ileri derecedeki diyabet hastalarında diyabetik ayak enfeksiyonları oldukça önemlidir. Bu tez çalışmasında, Hatay ili İskenderun Devlet Hastanesi'nde diyabetik ayak yarası bulunan 100 hastadan alınan örneklerde *Staphylococcus aureus* sıklığı, izolatların farklı sınıftan antimikrobiyallere olan direnç durumları, biyofilm oluşturma yetenekleri ve hidrofobik özelliklerinin (hidrofobisite) belirlenmesi amaçlandı. Yüzeyel sürüntü ve derin doku kültürü örnekleri Mannitol Salt Agara (MSA) ekildi. Kanlı agarda saflaştırılan izolatlar, konvansiyonel, otomatize Vitek-2 ve MALDI-TOF-MS (Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi) sistemleri ile tanımlandı. *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle, biyofilm üretme yetenekleri Congo Red Agar (CRA), Standart Tüp (ST) ve Mikropleyt (MP) yöntemleri kullanılarak, hidrofobisite özellikleri ise hidrokarbonlara mikrobiyal tutunma testi ile tespit edildi. Bir izolatın 24 saat sonundaki biyofilm üretimi Taramalı Elektron Mikroskopisi (Scanning Electron Microscopy; SEM) yardımıyla da belirlendi. *S. aureus* diyabetik ayak yarası bulunan hastalardan alınan örneklerin %63,5'inden (54/85) izole edildi. İzolatlarının tümü vankomisine duyarlı iken; %38,8'i metisiline dirençli bulunurken; penisilin G (%96,3), ampisillin (%94,4), oksasilin (%64,8), eritromisin (%59,3), rifampisin (%57,4), amoksisilin/klavulanik asit (%53,7), siprofloksasin (%50), sefoksitin (%48,1), tetrasiklin (%38,9), gentamisin (%31,5), sülfametoksazol/trimetoprim (%22,2) ise değişen oranlarda direnç belirlendi. Biyofilm üretme yetenekleri incelenen izolatların tamamı CRA ve MP testleri ile pozitif iken, ST testine göre %96,3 oranında pozitif bulundu. İzolatlar p-ksilen hidrokarbonu ile farklı derecede hidrofobisite göstermiş olup; % 68,5'i orta hidrofobik, %16,7'si güçlü hidrofobik ve %14,8'i hidrofilik olarak değerlendirildi.

Bu tez çalışması ile yapılan literatür kaynaklarına göre, diyabetik ayak yaralarından izole edilen biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarında hidrofobisite özelliği yeni tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarıyla ayrıca, diyabetik ayak yaralarında sıklıkla enfeksiyon etkeni olan *S. aureus*'un biyofilm oluşturmalarını önlemek/biyofilmi ortadan kaldırmak için çeşitli stratejilerin geliştirilip takip edilmesi gerekliliğinin vurgulanması ortaya çıkmıştır.

2017, 108 sayfa

Anahtar kelimeler: Diyabetik ayak, *Staphylococcus aureus*, biyofilm, antibiyotik direnci, hidrofobisite

ABSTRACT

THE INCIDENCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ON DIABETIC FOOT WOUNDS AND DETERMINATION OF SOME OF ITS BIOLOGICAL PROPERTIES

Diabetic foot infections are of great importance in patients with advanced diabetes, which is increasing rapidly worldwide. This thesis study aims to determine the incidence of *Staphylococcus aureus*, the resistance status of the isolates to different class antimicrobials, biofilm formation abilities and hydrophobicity in samples taken from 100 patients with diabetic foot wound in Iskenderun State Hospital in the Province of Hatay, Turkey. Superficial swabs and deep tissue culture samples were planted on Mannitol Salt Agar (MSA). The isolates purified on blood agar were identified by conventional, automated Vitek-2 and MALDI-TOF-MS (Matrix-supported laser desorption/ionization flight time mass spectrometry) systems. The antimicrobial susceptibilities of *S. aureus* isolates were determined by disk diffusion method, their biofilm production capacities were determined by using the Congo Red Agar (CRA), Standard Tube (ST) and Microplate (MP) methods, and their hydrophobicity properties was determined by the method of microbial adhesion to hydrocarbons. Biofilm production of an isolate at the end of 24 hours was also detected by Scanning Electron Microscopy (SEM). *S. aureus* was isolated from 63.5% (54/85) of the samples taken from patients with diabetic foot wound. Of the isolates, were found to be susceptible to vancomycin, 38.8% was found to be methicillin resistant as well as varying rates of resistance to penicillin G (96.3%), ampicillin (94.4%), oxacillin (64.8%), erythromycin (59.3%), rifampicin (57.4%), amoxicillin/clavulanic acid (53.7%), ciprofloxacin (50%), cefoxitin (48.1%), tetracycline (38.9%), gentamycin (31.5%), sulfamethoxazole/trimethoprim (22.2%). All the isolates tested for their ability to produce biofilm were positive according to the CRA and MP tests, but only 96.3% was positive with respect to the ST test. The isolates showed hydrophobicity at different degrees with p-xylene hydrocarbon, and 68.5% was moderate hydrophobic, 16.7% was strong hydrophobic and 14.8% was classified as hydrophilic.

According to the literature sources that applied in this thesis, hydrophobicity property in the biofilm-producing *S. aureus* strains, which are isolated from diabetic foot wounds is newly identified. In addition, the study also emphasize the need to develop and follow up various strategies in order to prevent biofilm formation and eliminate biofilms of *S. aureus*, which is an infectious pathogen frequently seen in diabetic foot wounds.

2017, 108 pages

Keywords: Diabetic foot, *Staphylococcus aureus*, biofilm, antibiotic resistance, hydrophobicity

TEŞEKKÜR

Fikirleri, yönlendirmeleriyle eğitimimde çok emeği olan, bana inanan, güvenen, bilgisi ve her türlü desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlanmasında bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, çalışmalarımı inceleyip, değerlendiren, bilimsel düşünmeyi ve çalışmayı öğreten, her konuda her daim yanımda olan, yakın ilgisini gördüğüm çok değerli tez danışmanım ve sevgili hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ'a, sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarken kendisini ifade edecek kelime bulamadığımı ve kendisine her zaman sonsuz saygı ve sevgi duyduğumu belirtmek isterim. İyi ki varsınız...

Tez çalışmam sırasında hasta örneklerinin temininde yardımcı olan Doç. Dr. Turgut KARACA ve sağlık ekibine; imkanlarını esirgemeyip desteğini gördüğüm Prof. Dr. Nizami DURAN'a; öğrenim hayatım boyunca beni destekleyen değerli müdürüm Sayın Yamluha COŞKUN'a; her daim bana destek olan kardeşim Serdar KUVVET ve kuzenim Elif KARSANDIK'a sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca desteğini ve sabrını benden esirgemeyen sevgili eşim Hasan ÇETİN'e; her zaman yanımda olan canım aileme sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus ve Diyabetik Ayak	3
1.2. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları.....	6
1.2.1. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Tanımı	7
1.2.2. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması	8
1.2.3. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Tanısı.....	9
1.3. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojisi.....	10
1.4. Diyabetik ayak Tedavi Yöntemleri	12
1.5. Stafilokoklar.....	14
1.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
1.6. Stafilokokların Virulans Faktörleri	18
1.6.1. Kapsül	18
1.6.2. Hücre Duvarı.....	18
1.6.3. Toksinler	19
1.6.3.1. Sitolitik Toksinler(Ekzotoksinler	19
1.6.3.1.1. Hemolizinler.....	20
1.6.3.1.2. Panton-Valentine Lökositini (PVL)	22
1.6.3.2. Enterotoksinler	24
1.6.3.3. Eksfoliyatif Toksin.....	25
1.6.3.4. Toksik Şok Sendromu- 1 Toksini (TSST- 1)	25
1.6.4. Enzimler	26
1.6.4.1. Katalaz.....	26
1.6.4.2. Koagülaz	26
1.6.4.3. Hialüronidaz	27
1.6.4.4. Penisilinaz (β -Laktamaz.....	27
1.6.4.5. Stafilokinaz (Fibrinolizin)	28
1.6.4.6. Lipaz.....	28
1.6.4.7. Deoksiribonükleaz (DNaz)	28
1.6.4.8. Termonükleaz (TNaz)	29
1.6.4.9. Lesitinaz	29
1.6.4.10. Üreaz	30
1.7. Stafilokoklarda antibiyotik direnci.....	30
1.8. Biyofilm	38
1.8.1. Biyofilm Oluşum Basamakları.....	41
1.9. <i>Ica</i> Operon	45
1.10. Stafilokoklarda hücrelerarası iletişim (Quorum-Sensing) sistemi	46
1.11. Hidrofobisite	48
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	50
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	54

3.1. Materyal	54
3.1.1. Örnek Alınması ve Hazırlanması	54
3.2. Yöntem	54
3.2.1. Stafilocokların İzolasyonu ve İdentifikasyonu	54
3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi	55
3.2.3. Metisilin Direncinin Belirlenmesi	56
3.2.4. Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi	57
3.2.4.1. Congo Red Agar (CRA) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi	57
3.2.4.2. Standart Tüp (ST) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi	58
3.2.4.3. Mikropleyt (MP) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi	59
3.2.5. Biyofilm Oluşumunun Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle Analizi	60
3.2.6. Hidrofobisite Testi	60
3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	63
4.1. Stafilocokların İzolasyonu ve İdentifikasyon Sonuçları	63
4.2. Antibiyotik Duyarlılığı	63
4.3. Biyofilm Üretiminin Fenotipik Olarak Belirlenmesi	67
4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle Analizi	68
4.5. Hidrofobisite Değerleri	68
4.6. Tartışma	69
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	88
KAYNAKLAR	90
ÖZGEÇMİŞ	108

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	MSA’da <i>S. aureus</i>	18
Şekil 2.	<i>S.aureus</i> ’un mikroskop görüntüsü	18
Şekil 3.	Biyofilm oluşum aşamaları	43
Şekil 4.	Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi	55
Şekil 5.	Metisilin direncinin belirlenmesi	57
Şekil 6.	Biyofilm üretiminin Congo Red Agar yöntemi ile değerlendirilmesi	58
Şekil 7.	Biyofilm üretiminin standart tüp yöntemi ile değerlendirilmesi.....	59
Şekil 8.	Biyofilm üretiminin mikropleyt yöntemi ile değerlendirilmesi.....	60
Şekil 9.	Hidrofobisite testi ile değerlendirme sonucu	61
Şekil 10.	Wagner evre 3 diyabetik ayak yarası bulunan hastaların resmi.....	63
Şekil 11.	MRSA suşlarının antibiyotik direnç profilleri	64
Şekil 12.	<i>S. aureus</i> suşlarının (MSSA) antibiyotik direnç profilleri.....	65
Şekil 13.	<i>S. aureus</i> izolatının biyofilm oluşumunu gösteren SEM görüntüsü	68
Şekil 14.	<i>S. aureus</i> izolatlarının hidrofobisite değerleri.....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Diyabetik ayak ülserlerinde Wagner sınıflaması	9
Çizelge 2. Diyabetik ayak enfeksiyonlarından en sık izole edilen mikroorganizmalar ..	12
Çizelge 3. Stafilokok türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve zon çapları (mm) ..	56
Çizelge 4. <i>S. aureus</i> izolatlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri	66
Çizelge 5. <i>S. aureus</i> suşlarının farklı yöntemlerle belirlenen biyofilm üretimi	67
Çizelge 6. Mikropleyt yönteminde belirlenen optik dansitelerine göre aderans değerleri.....	67



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Santigrat derece
mg/dl	: Miligram / Desilitre
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
NaCl	: Sodyum Klorür
nm	: Nanometre
rpm	: 1 dakika içerisinde gerçekleştirilen dönüş/devir sayısı

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
BATH	: Hidrokarbonlara Bakteriyel Yapışma Testi
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CRA	: Congo Red Agar
ÇAD	: Çoklu Antibiyotik Direnci
DA	: Diyabetik Ayak
DM	: Diabetes Mellitus
DAÜ	: Diyabetik Ayak Ülseri
DAE	: Diyabetik Ayak Enfeksiyonu
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokok
KPS	: Koagülaz Pozitif Stafilokok
MP	: Mikropleyt
MRSA	: Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSA	: Mannitol Salt Agar
MSSA	: Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>

PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
ST	: Standart Tüp
TSB	: Tryptic Soy Broth
TSB	: Triptik Soy Broth
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
VISA	: Vankomisine orta düzeyde duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	: Vankomisin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>



1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun miktarında azalma, yokluğu ya da periferik dokuda insüline duyarsızlık nedeni ile ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır (Yılmaz, 1999). Diyabet prevalansının tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de artmakta olduğu ve Uluslararası Diyabet Federasyonu’na (IDF) göre, dünya genelinde 382 milyon yetişkinin diyabet hastası olduğu tahmin edilmektedir (Ahmad ve ark., 2015). Diyabet türleri ve prevalansının ülkeler ve farklı gruplar arasında belirgin bir düzeyde değişiklik gösterdiği, bunun da genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Hatipoğlu ve ark., 2014). Diyabet hastalarında en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri ayak enfeksiyonlarıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından diyabetik ayak (DA); diyabetli hastada gelişen, alt ekstremitelerde nörolojik bozukluklar, çeşitli derecelerde periferik vasküler hastalık ve/veya metabolik komplikasyonlarla ilişkili olarak enfeksiyon, ülserasyon ve derin dokularda tahribat içeren patolojik potansiyel sonuçları olan durumlar olarak tanımlanmıştır (Chand ve ark., 2012). Dirençli bakteriyel enfeksiyonlar diyabetik hastalarda sık görülmekle beraber, genellikle polimikrobiyaldir (Rawat ve ark., 2012). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve beta-hemolitik streptokoklar ilk kez gelişen enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenler olmakla birlikte tekrarlayan enfeksiyonlarda, daha önce hastaneye yatış öyküsü olan ve önceden antibiyotik kullananlarda Enterokoklar, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Bacteroides fragilis*, Peptostreptokoklar, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri de etken olabilmektedir (Dizbay, 2010). DA olgularında gereksiz ya da yanlış antibiyotik tedavi uygulamalarından mümkün olduğunca kaçınabilmek için, mikrobiyolojik inceleme son derece önemlidir.

Stafilokoklar, doğada da çok yaygın olarak bulunurken, insanda nazofarenks, deri, vajina, rektum, perine ve burunda yaygın olarak kolonize olabilen ve fırsatçı patojen olarak insan enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar arasında yer alırlar. İnsandan insana direkt temas veya hava yoluyla bulaşabilirler (UMS, 2015). Birçok enfeksiyonda primer ve sekonder etken olarak bulunurlar (Ataol, 2011).

S. aureus'da antibiyotiklere direnç kazanma yeteneği, antibiyotiklerin kullanılmasından hemen sonra gözlenmiştir (Gibbs ve ark., 1978). Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonu, dünyada ortaya çıkan bir sağlık sorunudur (Abbas ve ark., 2011). 1990 yılında ABD'de, nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilen suşların %15'inin metisiline dirençli olduğu belirtilmiştir. Diğer gelişmiş ülkelerde de bu oran yakındır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise bu oran %16-52 arasında değişmektedir. *S. aureus* suşlarının patogenezi; adherans özellikleri, çeşitli toksinler, enzimler, yapısal ve ekstrasellüler faktörler gibi özelliklerine bağlıdır. Bu şekilde akut veya kronik enfeksiyonlara neden olurlar (Şahin, 2007). Stafilokok enfeksiyonlarının patogeneğinde, stafilokokların canlı yüzeylere ya da yabancı cisim yüzeylerine yapışma ve bu yüzeylerde biyofilm (*slime*) oluşturma yetenekleri de rol oynamaktadır (Ay ve ark., 2010). Hastalarda kronik enfeksiyonların kalıcılığıyla ilgili olduğu düşünülen biyofilm üretimi, son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken bir konudur. Bu tabaka, *S. aureus*'ların antibiyotiğe karşı dirençli olmasını sağladığı ve konak tarafından fagositozuna engel olduğu için, *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisini de zorlaştırmaktadır (Yüksekdağ ve Baltacı, 2013). Akut ve kronik diyabetik ayakta özellikle stafilokokların rol oynadığı enfeksiyonlarda oluşan biyofilmin yok edilmesinin zor olduğu bildirilmiştir (Abd El-Aziz ve ark., 2010). Mikroorganizmanın biyofilm oluşturabilme yeteneği, organizmaların hayatta kalmaları ve antibiyotikleri uzaklaştırmaları için koruyucu bir ortam oluşturmaları ve bu biyofilmlerin diyabetik ayak ülserleri (DAÜ) gibi birçok kronik enfeksiyonun temel sebebi olması nedeniyle önemli bir virülans faktörüdür. Hidrofobisite, artmış hidrofobikliğe sahip olanların, hücre dışı matris ile bakteri arasındaki iticiliği azalttığı için, bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Shashikala ve ark., 2016).

Diyabetik ayak yaralarında aerobik etken olarak en sık *S. aureus* izole edilmektedir. Ciddi komplikasyonlarla seyredebilmesi nedeniyle diyabetik ayak yaralarındaki etkenlerin, uygun şekilde kültüre alınarak izole edilmeleri gerekmektedir. Bu çalışmada, Hatay ili İskenderun Devlet Hastanesine başvuran diyabetik ayak yarası bulunan hastalardan alınan kültür örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının farklı sınıftan antimikrobiyallere olan direnç durumları, biyofilm oluşturma yetenekleri ve hidrofobisite karakteristiklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Diabetes Mellitus ve Diyabetik Ayak

Diyabet, küresel bir salgın haline gelen, yüksek kan glukozu seviyesi ile karakterize olan ve pankreasın yeterli miktarda insülin üretememesi veya vücudun insülini kullanması sürecindeki sorunlardan kaynaklanan bir hastalık grubu olarak tanımlanır (IDF, 2011). DM, bütün toplumlarda ve ırklarda görülebilen; her geçen gün de sıklığı artan ve morbiditeye neden olan komplikasyonları ile birlikte ciddi bir sağlık sorunudur (Altındaş, 2002).

En sık teşhis edilen diyabet tipleri şunlardır (IDF, 2011):

Tip 1 Diabetes Mellitus: Diyabet bağışıklık sistemi kaynaklı, yani otoimmün bir hastalıktır, tolerans kaybına bağlı olarak bağışıklık sistemi pankreasın insülin üreten hücrelerini yok eder. Tip 1 diyabet ülkemiz ve bölge genelinde tüm vakaların yaklaşık % 3-5'inden sorumludur.

Tip 2 Diabetes Mellitus: Tip 2 insülin salgılanmasındaki sorunlar ve insülin kullanımına karşı muhtelif organların dokularında oluşan direncin kombinasyonundan kaynaklanır. En yaygın diyabet tipi olup ülkemiz ve bölge ülkelerinde tüm diyabet vakalarının %95' veya daha fazlasından sorumludur. Yaygın olarak orta yaşlı veya yaşlı kişilerde ortaya çıkmakla beraber, günümüzde aşırı kilolu çocukları, ergenleri ve genç yetişkinleri de giderek daha fazla etkilemeye başlamıştır.

Yaşlı nüfusun artmasıyla birlikte DM'li hastaların sayısı Türkiye'de her yıl artmakta, bu nedenle DA ve diyabetik ayak enfeksiyonlarının sayısı da artmaktadır. IDF, dünya genelinde 382 milyon yetişkinin diyabet hastası olduğunu tahmin etmektedir. Diyabet görülme prevalansı epidemik oranlara ulaşmıştır ve 2035 yılına kadar bu rakamın 592 milyona ulaşması beklenmektedir (IDF, 2013). Geçtiğimiz 15 yıl içinde, Türkiye'de diyabet hastalarının sayısı neredeyse üç katına çıkarak 1998'de 2,5 milyon kişiden 2013'te yaklaşık 7 milyona yükselmiştir. Tüm diyabet hastalarının yaklaşık sadece %55'ine (3,9 milyon kişi) teşhis konmuştur. Diyabet teşhisi konan tüm bireylerin %91'i (3,5 milyon kişi) tedavi görmektedir (Satman ve ark., 2013). Teşhis edilen diyabet hastalarının %50'si (1,9 milyon kişi) tedavi hedeflerine ulaşmakta ve toplam diyabet hastalarının sadece %11'i (0,8 milyon kişi) hedeflenen tedavi sonuçlarına ulaşarak komplikasyonsuz bir hayat sürmektedir (Satman ve ark., 2012).

Kentleşme ve şehir yaşamı çerçevesinde gelişen yaşam tarzı değişiklikleri diğer etkenlerle beraber fazla kilolu ve obez bireylerin sayısında artışa neden olmakta ve bu artış da global diyabet sorununa belirgin olarak katkıda bulunmaktadır. Dünya çapında diyabet nedeniyle 2013 yılı sonu itibarıyla yıllık 548 milyar ABD Doları harcama yapılmış olacağı ve bu tutarın toplam sağlık harcamalarının %11'ine denk geleceği öngörülmektedir (IDF, 2013). Türkiye'de 1998 ve 2010 yıllarında gerçekleştirilen toplum temelli iki diyabet çalışması yetişkin nüfusta bu dönemde diyabetin yaklaşık %90 oranında arttığını ve artmaya devam ettiğini göstermektedir (Satman ve ark., 2002; The World Bank, 2011). IDF tarafından da diyabet prevalansı hakkında yayınlanan güncel veriler Türkiye'de 20-79 yaş aralığında toplam yaklaşık 7 milyon diyabet hastası olduğunu ve bu rakamın toplam yetişkin nüfusun yaklaşık %15'ine denk geldiğini göstermektedir (Tatar ve ark., 2011). Diyabetli hastaların %15'inde ayak yaraları vardır ve yaşamlarının belli döneminde ayak yarası oluşma ihtimali normal popülasyona göre fazladır. Ayak sorunu diyabetli hastaların uzun süre hastanede yatmasının en sık nedenidir. Diyabetik ayak yaralarının önlenmesi hem toplumsal hem de ekonomik açıdan önemlidir (Korkmaz ve ark., 2015). Diyabetik hastalarda alt ekstremitelerde, diyabete bağlı hipergliseminin neden olduğu tüm değişiklikler sonrası meydana gelen klinik bozukluklar diyabetik ayak olarak tanımlanabilmektedir. Diyabetik ayakta başlıca patogenetik mekanizmalar; iskemi, nöropati ve enfeksiyondur. Bu faktörlerle birlikte hareket ederek sırasıyla doku nekrozu, ülserasyon ve gangrene yol açabilmektedir. DA ülserleri uygun tedavi edilmesine rağmen genellikle güç iyileşir ve sıklıkla kronik hale gelir (Ribu ve ark., 2008). Diyabetin kronik komplikasyonlarından olan DA, nöropati ve/veya periferik damar hastalığına enfeksiyon ilavesiyle oluşmuş, ekstremitayı tehdit edebilen multifaktöryel bir sorundur. DA, doku ve organ kayıplarına yol açabilmesi, enfeksiyon gelişimiyle hastaları uzun ve sıkıntılı bir süreç içine sokması, hasta yakınları ve toplum için ağır ekonomik yük oluşturması nedenleriyle ciddi toplumsal bir problemdir (Mark ve Slovenkai, 1998; Apelvist ve ark., 2000). DA yarası gelişmesinin pek çok nedeni olmakla birlikte başlıca neden diyabetle ilişkili vasküler hastalığın ve nöropatinin kombine etkisidir. Diyabetik nöropati, diyabetin uzun vadeli komplikasyonlarından biridir. Periferik (sensorimotor), otonomik ve spinal sinirler dâhil olmak üzere bütün sinir tiplerini etkiler. Mononöropati, simetrik periferik polinöropati ve otonomik nöropati şeklinde sınıflandırılır (Akdemir ve Birol, 2005).

En sık rastlanan şekli periferik simetrik duysal polinöropatidir (Dunning ve Ward, 2009). En erken duyu kaybı ayak başparmağında ortaya çıkar ve yukarı doğru ilerler. Üst ekstremiteler daha az etkilenir. Özellikle alt ekstremitelerde distalde pareteziler, ağrı, yanma ve anormal duruş nöropatinin semptomlarıdır. Semptomu olmayan hastalarda bile alt ekstremitelerde tendon refleksi kaybı ve vibrasyon duyusunda azalma vardır. İlerleyen polinöropatide kas güçsüzlüğü ve kas erimesi görülür. Diffüz küçük lifleri etkileyen nöropati, otonom nöropatiye, dolayısıyla ayakta diyabetik ülserlere Charcot atropatisine ve semptomatik otonomik disfonksiyona neden olur (Terzi ve ark., 2004). Diyabetin periferik etkilerinin en önemli sonucu ayak kanlanmasının azalmasıdır; bu durum ampütasyonla sonuçlanabilecek olan gecikmiş iyileşmeye, artmış enfeksiyon eğilimine ve derin ülserlere zemin hazırlar. Azalmış kanlanma yanında eşlik eden nöropati ile ağrı ve ısı duyusunda bozulma meydana gelir. Dolayısıyla tekrarlayan travmalar veya yanıklar sonucunda derin ülserler, enfeksiyon ve nekroz gelişimi tetiklenir (Humphrey ve ark., 1996). DA ülserlerinin oluşmasında esas sorumlu duysal, motor ve otonomik sinir fonksiyonlarındaki bozulmadır. Diyabetik hastaların %55-70'inde periferik nöropati mevcuttur ve DA ülserli hastaların da yaklaşık %90'ında nöropati vardır (Temple ve Nahata, 2000). Motor nöropati gelişmesi sonucu ayağın intrinsik kaslarında paralizisi ve sonrasında da atrofi ve fibrosis gelişir. Bu olaylar sonucunda fleksör ve ekstansör kaslar arasında bir dengesizlik oluşur. Parmaklarda pençeleşme ve metatarsal yağ yastıkçığı distale deplase olduğundan metatars başı altındaki yağ dokusu inceler ve metatars başı ve parmak uçlarına binen baskı miktarı arttığından buralarda ülser gelişimi olasılığı artar (Slovenkai, 1998). Duysal nöropati de ilk başlarda pareteziler görülür ve ilerleyen dönemlerde disestezi (aşırı duyarlılık) ve son aşamada da tam duyu kaybı meydana gelir. Duyusunu tümüyle kaybetmiş olan ayakta tekrarlayan travmalar hissedilemediğinden ve buna karşı önlem alınamadığından ülser gelişimine yatkınlık olur. Otonom nöropati gelişmesi neticesinde yağ ve ter bezlerinde fonksiyon kaybı olur (Slovenkai, 1998). Diyabetik hastaların pek çok enfeksiyon hastalıklarına eğilimi artmıştır. Ancak ayak enfeksiyonları tüm diyabet komplikasyonları içinde hastaneye en sık başvuru ve en uzun süre yatma nedenidir (Baktıroğlu, 2012). Ayak ülserli bir hastanın ortalama hastanede kalış süresi ülseri olmayan diyabetiklerden en az %50 daha uzundur.

Diyabetik ayak yaraları, hastalığın komplikasyonları arasında sık görülmesi nedeni ile önemlidir. Diyabetik ayak yarası geliştiğinde hastanın yaşam kalitesini azaltmasının yanında hayatı tehdit etmesi ve sosyoekonomik problemler oluşturması nedeni ile de bir halk sağlığı sorunu olmuştur. Diyabetik ayak yaralarının tedavisinde, multidisipliner (endokrinoloji, dermatoloji, enfeksiyon hastalıkları, psikiyatri, kalp damar cerrahisi, plastik cerrahi klinikleri vs.) bir yaklaşım gerekmektedir.

1.2. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları

Diyabetik hastaların yaklaşık %25'inde yaşamları boyunca ayaklarında yara oluşması olasılığı bulunduğu ve ayak enfeksiyonlarının hastanede yatışı gerektiren en yaygın enfeksiyöz komplikasyonlar arasında olduğu bildirilmektedir (Roberts ve Simon, 2012). DA, diyabetin en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Hastaneye yatan her beş diyabetlinin birinde yatış nedeni diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE)'dur. Diyabetik hastaların %25'i, hayatlarının bir döneminde DAE'ü geçirirler. Ülkemiz verilerine göre bu oran %20-50'dir. DAE'ü hem işgücü kaybına, sakatlığa ve psikososyal travmaya neden olmakta, hem de yüksek maliyete yol açmaktadır (Akıncı, 2005). DAÜ'lerinin %15-20'sinin amputasyonla sonuçlandığı bilinmektedir (Ronald, 2002). Bu amputasyonların %85'inden fazlasında derin ayak yarası üstünde gelişmiş enfeksiyon ve gangren mevcuttur (Maslow ve ark., 1995). Diyabet prevalansı arttıkça DAÜ'lerinin sıklığı ve önemi giderek artmaktadır. DA problemlerinin en önemli sonucu ayak ülseri sonrası dolaşım bozukluğu, iyileşmeyen yara ve amputasyonlardır (Jeffcoate ve Harding, 2003). Diyabetli bir hastada tüm hayatı boyunca ayak yarası gelişme riski %25 kadar yüksek olup, dünyada her 30 saniyede bir diyabete bağlı organ kaybı (alt ekstremité) yaşanmaktadır (Brem ve Sheehan, 2006). DAÜ'leri morbidite artışına, hayat kalitesinin bozulmasına, yüksek tedavi maliyetlerine ve yüksek oranda alt ekstremité amputasyonlarına neden olurlar. Non-travmatik ayak amputasyonlarının %40-60'ı diyabetiklere yapılmaktadır (Reiber ve ark., 1999). DAÜ'lerinin uygun şekilde değerlendirilmesi ile enfeksiyona bağlı morbidite, hastaneye yatış, hastanede kalış süresi ve major ekstremité amputasyonu oranları azaltılabilmektedir (Armstrong ve ark., 1995).

Ciddi ayak enfeksiyonlarının %50-60'ının osteomiyelit ile sonuçlandığı bilinmektedir. Ülserin kronik olması, derin olması, dolaşım sorununun eşlik etmesi, osteomiyelit gelişme riskini artırır. Ülserin probe edilmesi ve kullanılan probun kemiğe kadar ulaşması %90 osteomiyelit lehinedir (Zgonis ve ark., 2008). Osteomiyelitin tanısında altın standart biyopsi ve histopatolojik tanıdır (Khatri ve ark., 2001).

1.2.1. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Tanımı

DAE'u en sık ve basit olarak, diyabetli bir hastada tanımlanan inframalleolar enfeksiyon olarak ifade edilebilir. Bu tanıma uyan lezyonlar paronişi, selülit, myozit, apse, nekrotizan fasiit, septik artrit, tendinit ve osteomyelit şeklinde görülebilir (Albrant, 2000). Ancak en sık görülen lezyon DAÜ'lerinin enfeksiyonudur. Enfeksiyon hastalıkları insanların karşılaştığı en önemli sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir. Tüm dünyada görülen ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) istatistiklerine göre, 1997 yılında dünyada her üç ölümden biri enfeksiyöz ya da paraziter sebeplerden kaynaklanmaktadır (Kutlu, 2006). Ülserasyon, enfeksiyon, gangren ve amputasyon gibi ayak problemleri diyabetli hastalardaki morbiditenin ve hastaneye yatışların en önemli nedenidir. Diyabetik hastaların yaklaşık % 15'i hastalıkları süresince alt ekstremitede DAÜ'yi gelişimine maruz kalırlar. DAÜ'li hastaların yaklaşık yarısı doktora başvurduğunda enfektir ve ülser varlığı DAE'u gelişiminde en önemli predispozan (zemin hazırlayan) faktör olarak bildirilmektedir (Armstrong ve Lipsky, 2004). DAE'u genellikle yüzeysel enfeksiyon olarak başlar, ancak tedavi edilmezse kolaylıkla subkutanöz dokulara ilerleyerek kas, tendon, kemik ve eklemleri etkileyebilir. Septik gangrene ve alt ekstremité amputasyonuna neden olabilir. Travmatik olmayan alt ekstremité amputasyonlarının yaklaşık %60'ı diyabetik hastalarda gerçekleşmektedir (Frykberg ve ark., 2006).

Bir diyabetik hastadaki zatürre, yara enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonları hastalığının diyabetik olmayan hastalardan daha sık olduğu anlaşıldı (Luo ve ark., 2012). Enfeksiyon DAÜ'inin sık görülen komplikasyonudur ve enfeksiyonun varlığı büyük ölçüde amputasyon riskini artırır (Fosse ve ark., 2009). Dünya çapında ve Türkiye de, DM'un artan yaygınlığı ile paralel olarak, ayak enfeksiyonunun yaygınlığı artmaktadır (Özkara ve ark., 2008).

İlk aşamada amaç enfeksiyonun önlenmesi, enfeksiyon gelişmiş olan olguda amputasyonun önlenmesidir (Ertuğrul, 2010).

1.2.2. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması

DA yarasının değerlendirilmesindeki temel kriterlerin, lezyonun derinliğinin saptanması (tutulan dokuların gözle muayene edilmesi ve milimetrik olarak yara derinliğinin tahmini), iskeminin değerlendirilmesi (nabızların yokluğu veya ayaktaki kan basıncının azalması) ve enfeksiyon yönünden değerlendirilmesi olduğu konusunda fikir birliği gelişmektedir (Lipsky, 2004). Ayak ülserlerinin uygun şekilde sınıflandırılması optimal değerlendirme için gerekli olup tedaviyi kolaylaştırmakla birlikte genellikle iyileşmeyle ilgili öngörü sunar. Sınıflandırma için en kolay ve basit sistem lezyonları nöropatik, iskemik veya nöroiskemik olarak yaranın boyut, derinlik ve enfeksiyon tanımlamalarıyla birlikte sınıflandırmaktır (Frykberg ve ark., 2000).

Diyabetik olgularda DAE'ları en sık hastaneye yatış ve amputasyon nedenidir. DAÜ'lerinin tedavisinde ilk basamak doku hasar boyutunu belirleyerek etken mikroorganizmanın izolasyonunu sağlamaktır. Bu amaçla çeşitli sınıflamalar yapılmıştır. 1975'de Shea Dekübit ülseri, 1976'da Meggit sınıflaması, 1981'de Wagner sınıflaması, 1990'da Meggit-Wagner sınıflaması, 1984'de Forrest ve Gamborg -Nielson sınıflaması, 1986'da Knighton, 1998'de Teksas Üniversitesi Sınıflaması, 1999'da SAD (sepsis, arteriopati,denervasyon sistemi) sınıflaması, 2004'de PEDIS sınıflaması, 2004'de DEPA, 2004'de DUSS ve 2006'da MAID sınıflaması yapılmıştır (Uyar Güleç, 2014). Teksas sınıflandırması 1996'da tanımlanmıştır. Ülserin derinliği ve vasküler durumunu irdeler. Yara prognozunu belirlemede yararlıdır. Karmaşık olması dezavantajıdır. Pedis sınıflandırması; araştırma amaçlı sınıflamada kullanılan bir yöntemdir. Yaranın perfüzyonu, genişliği, derinliği, enfeksiyon hakkında bilgi verir. Rutin kullanılmaz. Kobe sınıflandırması Japonya'da tanımlanmıştır. Amit jain's; Asya ülkelerinde kullanılır. King's Sınıflandırması ve Van Acker/Peter sınıflandırmaları da vardır (Tetiker, 2015).

En yaygın olarak kullanılan sınıflama yöntemi Wagner'dir (Ulusoy ve ark., 2000).

Diyabetik ayak sınıflandırması ilk kez 1970'li yıllarda Meggitt ve Wagner tarafından yapılmıştır. Bu sınıflandırma Meggitt tarafından ortaya çıkarılmış, Wagner tarafından geliştirilmiştir (Oyibo ve ark., 2001).

Wagner sınıflaması, lezyonun derinliğine dayanan ve yaranın olmadığı ancak risk taşıyan ayaktan, ayağın gangrenine kadar değişen basamakları içermesi ve uygulanma kolaylığı nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir metottur (Ulusoy, 2006). DAÜ'lerinde Wagner sınıflaması Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Diyabetik ayak ülserlerinde Wagner sınıflaması (Bozkurt ve ark., 2011)

- Evre 0 : Sağlam deri ile birlikte kemik çıkıntısı ve/veya kallus oluşumu (ülserasyon için risk)
- Evre 1 : Derin dokulara yayılımın olmadığı yüzeysel ülser
- Evre 2 : Tendon, kemik, ligament veya eklemi içeren derin ülser
- Evre 3 : Apse ve/veya osteomyeliti içeren derin ülser
- Evre 4 : Parmakları ve/veya metatarsı kapsayan gangren (Lokal gangren oluşumu)
- Evre 5 : Kurtarılamayacak düzeyde ve amputasyon gerektiren topuk ve/veya ayağın bütününe gangreni

1.2.3. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Tanısı

Klinik olarak DAE'ü; pürülan sekresyon varlığı veya en az 2 kardinal inflamasyon belirtisi (kızarıklık, ısı artışı, şişlik ve ağrı veya hassasiyet) olması ile tanımlanabilir (Shahbazian ve ark., 2013). Tüm hastalarda tam kan sayımı, beyaz küre sayısı ve kan glikoz seviyesi öncelikli olarak belirlenmelidir. Hem metabolik durumunun hem de karaciğer, böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için kan biyokimya testlerinin yapılması gerekmektedir. Eritrosit sedimentasyon hızının 70 mm/st'nin üzerinde olması enfeksiyon, hatta osteomyelit lehine sayılmaktadır (Zgonis ve ark., 2008).

C reaktif protein (CRP) ile birlikte sedimentasyonun kullanımı, verilen tedavinin takibinde ve etkinliğinin değerlendirilmesinde önemlidir. Kan kültürü, idrar tetkikleri ve

kültürü de, etken mikroorganizmanın belirlenmesinde önemlidir. Osteomyelit açısından direkt grafi ve şüpheli durumlara manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılmalıdır (Zgonis ve ark., 2008).

Yaranın klinik prezentasyonu (durumu) da etken mikroorganizma yönünden fikir verebilir. Ülser kötü kokulu ise, anaeroblar akla gelmeli, krepitasyon varsa gram negatif basiller ve anaeroblar, gangren varsa miks anaerob ve aerob enfeksiyon, nekrotizan enfeksiyonlarda ise *Bacteroides* varlığı akla gelmelidir. Tanı ve tedavisi zor olan DAE'lerinde multidisipliner yaklaşım gereklidir (Ulusoy ve ark., 2000).

1.3. Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojisi

DAÜ'lerinde uygun tedavi protokolünün belirlenmesi için etken bakterinin izolasyonu çok önemlidir. Bu ülserlerde her zaman tam ve doğru bir bakteri izolasyonu mümkün olmayabilir, çünkü kültürler sıklıkla ülser yüzeyinden sürüntü şeklinde alınır fakat bu sürüntüden üretilen bakteri, enfeksiyonu yaratan tek etken mikroorganizma olmayabilir (Temple ve Nahata, 2000). DAE'leri eğer uzun süreli ve komplike ise veya antibiyotik tedavisi uygulanmışsa, genellikle çoklu organizmalar tarafından oluşturulmuştur. Bunun dışındaki hastalarda ise stafilokok veya streptokoklar etken mikroorganizmalardır (Lipsky, 2001). DAE'leri, polimikrobiyal enfeksiyonlardır. *S. aureus* ve beta-hemolitik streptokoklar ilk kez gelişen enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenler olmakla birlikte tekrarlayan enfeksiyonlarda, daha önce hastaneye yatış öyküsü olan ve önceden antibiyotik kullananlarda Enterokoklar, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Bacteroides fragilis*, Peptostreptokoklar, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri de etken olabilmektedir (Dizbay, 2010). Enfekte yaradan kültür ve antibiyogramın elde edilmesi, antibiyotik tedavisinin düzenlenmesine katkı sağlar. Alınan kültürlerle genellikle güvenilmez. En güvenilir kültür cerrahi sırasında derin dokulardan alınan örneklerden elde edilen kültürdür. Sürüntü değil doku parçalarından elde edilen kültür daha değerlidir. Özellikle sürüntü ile alınan kültürlerde kullanılan pamuk, hava barındırdığından anaerob üremeyi engeller (Lipsky, 2001).

Hafif şiddetteki DAE'lerinde etken olarak *S. aureus*, *Streptococcus* spp. saptanırken, orta ve ciddi enfeksiyonlarda gram-pozitif kokların yanı sıra

Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* ve zorunlu anaeroplarda da görülmektedir (Lipsky ve ark., 2012).

Etkenler genellikle gram pozitif ajanlar olmakla birlikte çok ciddi, derin ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlarda gram negatif bakteriler ve anaeroblarla yer değiştirmektedir (Pathare ve ark., 1998). DA yarasında en önemli patojenler gram pozitif koklar (özellikle *S. aureus*), beta hemolitik streptokoklar (özellikle grup B) ve koagülaz negatif stafilokok (KNS)'lardır. Gram pozitif koklar çoğunlukla monomikrobiyal enfeksiyona neden olmakla birlikte kronik ülserlerde veya daha önce tedavi verilmiş yaralarda miks enfeksiyon şeklinde de karşımıza çıkabilir. Anaerob bakteriler daha nadir etmenler olmakla birlikte özellikle iskemi ve gangren olan yaralarda çoklu enfeksiyon olarak gözlenebilir. *Pseudomonas* ve Enterokok suşları çoğu zaman kolonizan ajanlardır (Lipsky, 1999). DAE'ları mantar ve aerobik bakteri nedeniyle genellikle polimikrobiyaldir. Şiddetli enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyal izolatlar verir, oysa hafif enfeksiyonlar genellikle monomikrobiyaldir. DAE'unun şiddetli durumlarında, 3 ile 5 organizma kültürlenebilir (Lipsky, 2004). Bu enfeksiyonlar için etkili antimikrobiyal tedavi morbiditeyi azaltmaya yardımcı olacaktır. DAE'larında neden olan organizmaların belirlenmesi ve örneklerin antimikrobiyal duyarlılıkları antimikrobiyal tedavi için gereklidir. DAE'larında en sık bulunan mikroorganizma *S. aureus*'tur. Ciddi enfeksiyonlarda aerob ve anaerob mikroorganizmalar birlikte bulunur. Anaeroblar genellikle tek başlarına bulunmazlar. Daha önce antibiyotik tedavisi alan hastalarda ise, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) gibi dirençli mikroorganizmalar izole edilebilir (Kanatlı, 2011).

DAÜ'yi travmatik olmayan ayak ampütasyonlarının en önemli nedenidir. Bu yüzden ülserlere neden olan patojenleri, onların tedavisi için onların antimikrobiyal duyarlılık profilini bilmek önemlidir. Derin doku enfeksiyonu ve osteomyelit varlığında birden çok etken bakteri sorumlu olabilir. Hastanede yatan, cerrahi operasyon uygulanmış hastalarda ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanım öyküsü olanlarda dirençli mikroorganizmaların etken olabileceği unutulmamalıdır. DAE'larından en sık izole edilen mikroorganizmalar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Diyabetik ayak enfeksiyonlarından en sık izole edilen mikroorganizmalar (Dizbay, 2010)

Gram pozitifler	<i>S. aureus</i> (MRSA dahil), KNS (<i>Staphylococcus epidermidis</i> en sık), Enterokok türleri (<i>Enterococcus faecalis</i> en sık, VRE olabilir), <i>Corynebacterium</i> türleri (difteroidler)
Gram negatif mikroorganizmalar	<i>E. coli</i> , Klebsiella türleri, Proteus türleri, Enterobacter türleri, Serratia türleri, <i>P.aeruginosa</i> , Acinetobacter türleri
Anaeroplara	<i>Bacteroides fragilis</i> , Prevotella türleri, Porphyromonas türleri, <i>Clostridium perfringens</i> , Peptokoklar, Peptostreptokoklar
Mantarlar	Candida türleri Fusarium

1.4. Diyabetik Ayak Tedavi Yöntemleri

DAÜ’inde antibiyotik tedavisi planlanırken birçok değişik faktör antibiyotik seçimini etkilemektedir. Mikrobiyal etken, enfeksiyon şiddeti, osteomyelitin eşlik edip etmediği ve ülserli alanın vasküler durumu gibi yaraya ait faktörlerin yanısıra renal fonksiyonlar, gastroparezi varlığı, ilaç alerjileri ve bağışıklık durumu gibi hastaya ait faktörler de ilaç seçiminde ve uygulama protokolünde etkili olmaktadır (Temple ve Nahata, 2000). 1940 yılında penisilinin klinik kullanıma girmesiyle, tıp tarihinde önemli enfeksiyon etmeni olarak bilinen stafilokokların neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde önemli başarılar sağlanmıştır (Haznedaroğlu, 2007).

İmipenem, meropenem gram-negatif organizmalara karşı en etkili ajanlardır. Vankomisin gram-pozitif organizmalara karşı en etkili ajandır (Özer ve ark., 2010).

Yüzeyel ve bacağı tehdit etmeyen enfeksiyonlarda etken genellikle *S. aureus* ve Streptokoklar olduğu için gram pozitif patojenlere yönelik birinci kuşak sefalosporin (Örneğin sefalekssin), dikloksasin, klindamisin, fluorokinolonlar veya amoksisilin-klavulanat oral tedavisi tercih edilebilir. Fakat 48 saat sonra tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için hasta mutlaka tekrar görülmelidir (Caputo ve ark., 1994). Dokunun vaskülaritesi ilaç seçimi yapılırken akılda tutulması gereken en önemli konulardan birisidir (Temple ve Nahata, 2000). MRSA varlığında tedavide vankomisin kullanılmalıdır. Metranidazol da anaerobik etkinliği nedeniyle diğer ilaçlara kombine edildiğinde iyi sonuçlar alınabilmektedir (Caballero ve Frykberg, 1998). Genel olarak yüzeyel enfeksiyonlarda aerobik Gram-pozitif koklara yönelik dar spektrumlu; ciddi enfeksiyonlarda ise Gram-pozitif, Gram-negatif ve anaerobik mikroorganizmalara karşı etkili geniş spektrumlu tedavi rejimleri seçilmelidir (Abdulrazak ve ark., 2005). DAE'lerinde antimikrobiyal tedavinin süresi tartışmalıdır. Tedavi süresi, lezyonun evresine göre karar verilmelidir. Ancak yapılan çalışmalarda varılan ortak görüş; düşük riskli enfeksiyonlarda genellikle 14 günlük tedavi yeterli sayılmaktadır. Yüksek riskli ve ciddi enfeksiyonlarda tedavi süresi hastanın ve enfeksiyonun durumuna göre değişiklik gösterir. İleri evre, derin ülser ve osteomyelit varlığında eğer amputasyon yapıp cerrahi sınırlar temiz ise operasyon sonrası iki haftalık tedavi yeterli iken, eğer amputasyon yapılmayacaksa altı hafta ya da daha uzun süreli tedavi vermek gerekmektedir (Örmen ve ark., 2007). Ayak ülserli diyabetik hastalarda mikroorganizmalar yüksek riskli çoklu ilaç direncini taşıması için, uygun olmayan antibiyotik tedavisi, yaranın kronik seyri ve sık hastaneye yatma gibi farklı faktörler ile birleşmiş olabilmelidir (Kandemir ve ark., 2007).

DAÜ'lerinde tekrarlayan ülser gelişimi ilk 12 ayda %28 iken 40. ayda %100'e kadar yükselmektedir (Mantey ve ark., 1999). Bu nedenle diyabetik ülser öyküsü olan veya yüksek riski olan hastalar özel DA polikliniklerinde düzenli takip edilmelidir. Önceden ülser öyküsü ve/veya iskemisi olan ayak 1–2 haftada bir değerlendirilmelidir. Ayak ülserinin tekrarlayıcı olduğu hastaya da hatırlatılmalıdır. Düzenli ayak bakımı ve hijyeni, eğitim, uygun ayakkabı ve tabanlık kullanımı gibi basit uygulamalar ile ülser oluşumunda %50 azalma sağlanabilir (Griffiths ve ark., 1992). Her fizik muayenede ayaklar da değerlendirilmelidir.

Hastalara erken başvurunun önemi, enfeksiyon belirtileri ve düzenli ayak bakımının kuralları anlatılmalıdır. Diyabetik tüm hastalar eğitilmeli ve özellikle ağrı hissi olmayan hastaların ayaklarını mekanik, termal ve kimyasal travmadan nasıl koruyacakları anlatılmalıdır (Valk ve ark., 2005). DA yaralarının tedavisinin maliyeti, yapılan ek girişimler, kalıcı sakatlıklara neden olması ve tedavi süresinin uzun olmasından dolayı ciddi boyutlara ulaşmaktadır. DA yarasının oluşumunun önlenmesi tedaviden daha önemlidir. Bunun için diyabetli hastaların eğitimi, özellikle de ayak bakımı, kullanılan ayakkabılar, takip edildiği diyabet kliniğinin tıbbi tedavisine sadık kalınması hastanın dikkate alması gereken hususlardır.

1.5. Stafilocoklar

Stafilokoklar tıp tarihinde ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır (Haznedaroğlu, 2007). 1880 yılında Pasteur tarafından sıvı besiyerlerinde üretilmiştir (Bayhün, 2008). 1881 yılında Alexander Ogston tarafından, farelerde hastalık yaptığı gösterilmiş (Haznedaroğlu, 2007) ve stafilokokların septisemi ve piyemiye yol açabileceğini vurgulamıştır. 1882 yılında bu mikroorganizmaları “Staphylococcus” olarak isimlendirmiştir. Yunanca “staphylo” üzüm salkımı, “coccus” tane anlamına gelmekte olup, mikroskop altındaki görünimleri üzüm salkımına benzediği için bu isim kullanılmıştır (Bayhün, 2008). Stafilocoklar hastalık örneklerinden ilk izolasyonu ise Rosenbach tarafından 1884 yılında yapılmıştır (Bilgehan, 1990). Rosenbach tarafından saf kültürü yapılmış ve katı besiyerinde sarı koloniler oluşturanlara *Staphylococcus aureus*, beyaz koloni oluşturanlarada *Staphylococcus albus* adını vermiştir (Whitman ve ark., 2012).

Winslow 1920 yılında Stafilocokları Micrococcaceae familyasına dahil etmiş, 1957 yılında Evans glikozu anaerobik olarak fermente edebilme özelliklerini ortaya çıkartarak “Staphylococcus” ismini ayrı bir soy olarak tanımlamıştır (Bayhün, 2008). Toplam olarak 35 tür saptanmış olmasına rağmen insanlardaki stafilocokal enfeksiyonlardan ilk sırada *S. aureus* izole edilmekte, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* ise fırsatçı patojen olarak sıklıkla enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Hepsert, 2009).

Daha nadir olarak *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *S. cohnii* ve *S. simulans*'ın fırsatçı enfeksiyonlarına rastlanılmaktadır (Kutlu, 2006). Stafilokoklar ortam koşullarına karşı dayanıklı mikroorganizmalar olup doğada çok yaygın bulunurlar (Bilgehan, 1990). Ayrıca insanda deri üzerinde normal flora oluşturan, potansiyel patojen bakteriler şeklinde sporadik veya salgın şekilde enfeksiyonlara (primer ve sekonder) sebep olmaktadır (Masako ve ark., 2005). Stafilokok cinsi içerisinde yer alan türler, insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. *S. aureus*'un insanlarda, nazokomiyal enfeksiyonlara, toksinlere bağlı enfeksiyonlara, invazyon ve/veya sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlara, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, cerrahi yara, santral sinir sistemi, solunum sistemi, üriner sistem, kardivasküler sistem, kas ve iskelet sistemi enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Diğer önemli bir grup olan KNS'lar deri florasında bulunan gram pozitif mikroorganizmalardır. KNS'lar ise, insanlarda endokardit, osteomyelit, oküler operasyonlara bağlı gelişen endoftalmit, üriner sistem enfeksiyonlarına, nazokomiyal ve toplumsal kökenli gelişen enfeksiyonlara, immünsüprese bireylerde bakteriyemi ve vücuda uygulanan protez implantlarını takiben gelişen enfeksiyonlara yol açmaktadır (Whitman ve ark., 2012). Özellikle mukus parçacıkları içinde kurudukları zaman uzun süre canlı kalırlar (Bilgehan, 1990).

Stafilokoklar insanda nazofarenks, deri, vajina, rektum, perine ve burunda yaygın olarak kolonize olurlar ve fırsatçı patojen olarak insan enfeksiyonlarından en sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar arasında yer alırlar. İnsandan insana direkt temas veya hava yoluyla bulaşabilirler. İnsanda virülen türler *S. aureus* ve *S. lugdunensis*'tir (Dündar ve Öztürk Dündar, 2008).

Stafilokoklar, yuvarlak, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerop (sadece *S. saccharolyticus* anaerop), katalaz pozitif, oksidaz negatif ve üzüm salkımı şeklinde kümeler tarzında 0.5-1.5 µm çapında koklardan oluşmaktadır. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk renksizleşerek Gram negatifmiş gibi görünürler. Lizostafin, penisilinler ve asitlerin etkisi ile erirler veya L formlarına dönüşürler. Ancak lizozimin eritici etkisine dirençlidirler. Laboratuvarlarda rutin amaçla kullanılan besiyerlerinde kolayca ürer ve 37 °C'de 24-48 saat içinde 2-4 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Stafilokoklar karotenoidlerden dolayı pigment meydana getirirler. Ancak anaerobik koşullarda pigment oluşturma yeteneği ortadan kalkar.

Laboratuvarında 10-42 °C’de üreyebilmelerine rağmen optimum üreme ısısı 37 °C’dir. Jeloz besiyerlerinde bolca ürerler ve yuvarlak, kenarları mat, kabarık, parlak, S tipinde koloniler yaparlar. Gerek bu kolonilerin ve gerekse katı besiyerlerindeki üreme ortamının renkleri stafilocoklarda bazı farklılıklar gösterirler. *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* ise porselen beyazı renginde koloni oluşturur. İnsanlarda hastalık etkeni olan stafilocokların kökenleri sarı ve turuncunun arasında çeşitli renklerinde koloni yapabilirler. Pigmentleri karotenoid yapısında olup hücre zarında yer almaktadır ve oluşması üreme ortamı koşullarından etkilenmektedir. Kanlı agar (Blood Agar) plaklarında üretilen stafilocokların çoğu kolonilerinin etrafında tam hemoliz yaparlar, diğerleri ise hemoliz oluşturmazlar. Alfa hemoliz yapan stafilocoklar tespit edilmemiştir. Sporsuz olmasına rağmen dış etkilere ve dezenfektanlara karşı oldukça dayanıklıdır. Kültürlerde 4 °C’de 2-3 ay, -20 °C ‘de 3-6 ay canlılıklarını koruyabilirler. Stafilocoklar 60 °C’lik ısıya 30 dk. dayanabilirler. Lizostafin stafilocokları eritir ancak lizozime direçlidirler. Fenolde (%2) 15 dakikada inaktive olurken, %9’luk NaCl ve sakkaroz tolerans gösterebilmektedirler ve halofilik bakteri grubunda yer alırlar. %40 safra bulunan ortamlarda üreyebilirler. γ -radyasyonuna oldukça direçlidirler (Whitman ve ark., 2012).

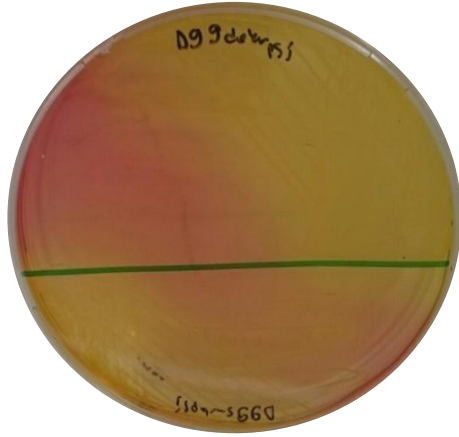
1925 yılında stafilocokların koagülaz pozitif (*S. aureus* grup) ve koagülaz negatif stafilocok (KNS) olarak gruplandırılmasına temel teşkil eden plazma koagülaz testi geliştirilmiştir. Daha sonra KNS’lar için novobiyosin-duyarlı (*S. epidermidis* grup) ve novobiyosin-direçli (*S. saprophyticus* grup) olarak ileri gruplandırma yapılmıştır (Becker ve von Eiff, 2011).

Stafilocoklar başta glukoz olmak üzere maltoz, laktoz ve fruktozu asit oluşturarak parçalarlar, fakat gaz oluşturmazlar. Mannitolün sadece koagülaz pozitif *S. aureus* tarafından parçalanması ve koagülaz negatif *S.aureus*’ların parçalayamaması ayırt edici özellik olarak görülmektedir (Hepsert, 2009).

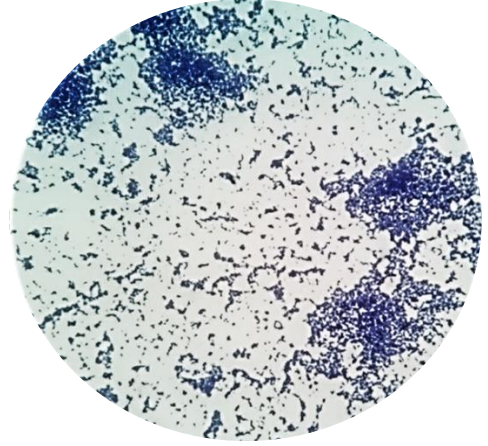
1.5.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus insanlarda ve hayvanlarda birçok enfeksiyona neden olan, doğada oldukça yaygın bulunan ve ortam şartlarına dayanıklı bir mikroorganizmadır. İnsan, hayvan ve bitkilerin normal florasında bulunabilirler (Hacıbektaşoğlu ve ark., 1993).

Doğada çok yaygın olan, tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan deri, burun, mukozasında bulunan *S. aureus* günümüz için en önemli kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanması nedeniyle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmaktadır (Whitman ve ark., 2012). *S. aureus* özellikle direkt ve indirekt temas ile yayılmakta, daha seyrek olarak hava yolu ve kontamine eşyalar ile temas sonucu bulaşmaktadır. Yetişkinlerde burun, *S. aureus*'un en yoğun bulunduğu bölgelerden biridir. Nazal taşıyıcılık oranı genel popülasyonda %10-40 arasında değişmektedir. *S. aureus* hem toplum hem de hastane kökenli lokal ve sistemik enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen ve metisiline direnci nedeniyle de tedavisi güç olan bir mikroorganizmadır (Gülbandılar, 2009). *S. aureus* ile oluşan lokalize enfeksiyonlar piyogenik eksuda veya apse şeklindedir. Bunlar arasında follikülit, fronkül, karbonkül, impetigo, mastit, erizipel, selülit, nekrotizan fasit, yara enfeksiyonları sayılabilir. *S. aureus*, bakteriyemi, endokardit, menenjit, perikardit, pnömoni, osteomyelit, septik artritis, septik bursit, ekzotoksinlere bağlı besin zehirlenmesi ve toksik şok sendromu gibi klinik tablolara da yol açar (Dündar ve Öztürk Dündar, 2008). Sebep oldukları ölümcül enfeksiyonlar 1941 yılında penisilin G'nin kullanıma girmesiyle önemli ölçüde azalma göstermiş ancak kısa sürede penisilin dirençli suşlar ortaya çıkmıştır. Beta-laktamaz enziminin yol açtığı bu direnç sorunu, 1959 yılında bu enzime dayanıklı metisilinin kullanıma girmesiyle aşılmış ancak ilk MRSA izolasyonu 1961 yılında bildirilmiştir (Yaman, 2010). Bazı gruplar *S. aureus* ile kolonize olmaya eğilimlidir. İnsülin kullanan diyabetik hastalar, kronik hemodiyaliz hastaları, çeşitli dermatolojik bozuklukları olan hastalar, yasa dışı intravenöz ilaç kullanıcıları genel popülasyona göre daha yüksek taşıyıcılık oranlarına sahiptir. Taşıyıcılar organizmayı nazal bölgeden ciltlerine transfer ederler. Travma organizma için giriş kapısı oluşturur, bunu lokal ve bazen generalize enfeksiyon izler (Gülbandılar, 2009). *S. aureus* birçok virulans faktörü taşıdığı için çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Yumuşak doku enfeksiyonlarının %70'e yakınından sorumludur (Meislin ve ark., 1977). Günümüzde de nozokomiyal patojenler arasında öneminin giderek artması, epidemilere yol açabilmesi ve çoklu antibiyotik direncine bağlı tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması nedeniyle dünya tıp gündeminin ilk sıralarında yer almaktadır (Yerer ve ark., 2007). *S. aureus*'un Mannitol Salt Agara (MSA)'daki ve mikroskoptaki görüntüsü Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.



Şekil 1. MSA’da *S. aureus*



Şekil 2. *S.aureus*’un mikroskop görüntüsü

1.6. Stafilokokların Virulans Faktörleri

S. aureus, enzimleri ve toksinleri ile çok çeşitli hastalıklara sebep olur. Bu enzimler ve toksinler, bakterinin dokulara yayılmasına yardımcı olur. Deri yüzeyinde enfeksiyonlar yaptığı gibi, derin dokulara da ilerleyerek bakteriyemi, organ tutulumu, solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilirler. *S. aureus*’un virulansı en yüksek olan stafilokok türü olduğu bilinmektedir. Stafilokokların virulansında rol oynayan bir takım faktörler aşağıda açıklanmıştır.

1.6.1. Kapsül

S. aureus’un özellikle mukoid türlerinde polisakkarid yapıda bir mikrokapsül bulunmaktadır. Bu yapı bakteriyi fagositozdan korur (Tünger, 2004).

1.6.2.Hücre Duvarı

Peptidoglikan yapı, Stafilokoklarda kuru ağırlığın yaklaşık %50-60’nı oluşturur. Bu yapı çapraz bağlar ile bağlanmış ve bakterinin lizozim enzimlerine karşı korunmasını sağlar. Teikoik asit sadece Gram pozitif bakterilerinin hücre duvarında bulunur ve hücre yüzeyine negatif yük vererek, çeşitli metal iyonlarının, katyonlarının lokalizasyonunda ve otolitik enzimlerinin aktivasyonunda rol alır (Çavuşoğlu, 2012).

Yüzey proteinleri, çoğunlukla *S. aureus* ve *S. intermedius* suşlarında hücre duvarlarında antijenik spesifiteye sahip, Protein A (SP-A) olarak adlandırılan, protein yapısında komponentler olarak yer alır. Özellikle *S. aureus*'un hücre duvarı komponentlerinden biri olan SP-A'nın büyük bir kısmı kovalent bağlarla peptidoglikan tabakaya bağlanmıştır, bir kısmı ise bir stafilolitik enzim olan lizostafinin aktivitesine ekstraselüler olarak serbestçe ortama salınmaktadır. Protein-A'nın belirlenmesi taksonomik olarak önem taşır ve kural olarak KNS'lerde bulunmaz. Sp-A'nın enfeksiyonlara karşı korunmayı sağlayan immünoglobülinlerin rolünü sınırlayıcı veya bloke edici özelliği ile fagositoza engel olduğu, komplemanı inaktive edici özelliğinden dolayı ise stafilokok'ların enfeksiyon oluşturmada rol oynadığı bilinmektedir. Nitekim, Sp-A'ya fazla miktarda sahip olan *S. aureus* suşlarının bu maddeyi az veya hiç içermeyen suşlara oranla fagositoza daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Sp-A, serum komplemanını inaktive eder, antifagositik, kemotaktik, mitojenik etkilerine sahiptir ve son yıllarda kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Carbonnelle ve ark., 2007). Protein A, fibronektin bağlayan proteinler, kümeleşme faktörü (clumping faktörü); kimyasal yapıları ve hücre duvarı yerleşim yerleri bakımından birbirine benzeyen stafilokokal proteinlerdir. Bu proteinler, bakterinin konak hücreye lokalize olmasına yardımcıdır. Protein A, bakteriyi fagositoza karşı korumada, kompleman aktivasyonunda, opsonizasyon inhibisyonunda rol oynar (Forsgren ve Gnetie, 1983).

1.6.3. Toksinler

S. aureus, konakçının hücre morfolojisini ve metabolizmasını bozan çok sayıda hücre dışı toksin üretebilmektedir.

1.6.3.1. Sitolitik Toksinler (Ekzotoksinler)

Stafilokoklar çeşitli hücreler üzerine sitolitik etki gösteren ekzotoksinler salgılamaktadır. Virülenste büyük rol oynayan bu toksinler alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (Akan, 2006).

1.6.3.1.1. Hemolizinler

Hücre membranını etkileyen sitotoksik toksinlerdir. Hemolitik ekzoproteinler üretirler ve membran hasarı yaparlar (Cengiz, 1999). *S. aureus*'un neredeyse bütün suşları hemolizin enzimi üretir. Salgılanan bu enzimin dört farklı sitotoksik molekülü vardır. Hemolizin tipleri; alfa (α), beta (β), gamma (γ) ve delta (Δ) olarak bulunmaktadır. Hemolizin proteinlerin esas görevi konakçı dokularını, bakterinin gelişmesine uygun hale getirmektir. Stafilokoklar, hayatta kalabilmeleri ve enfeksiyon oluşturabilmeleri için elementer demire ihtiyaçları vardır. İnsan vücudunda serbest demir olmadığı için, patojen mikroorganizmalar demir ihtiyacını genellikle demir içeren bileşikler (hemoglobin gibi) parçalayarak indirekt yolla sağlamaktadır. Toksik özellikleri ekstrasellüler proteinlerden hemolizinleri sentezleyen suşların koagülaz pozitif stafilokok (KPS) olması gerektiğini savunan araştırmacıların yanı sıra, KNS'lerinde hemolizin aktivitesine sahip oldukları çeşitli çalışmalarda ve makalelerde ortaya çıkmıştır. Stafilokok'ların bazı türleri, kanlı agarda α , β , γ ve Δ hemolizin oluştururlar. Bu hemolizinelere bağlı olarak şekillenen hemoliz tipleri tavşan ve sığır kanlı agarda tespit edilir (Biswas ve ark., 2010).

Alfa hemolizin (α -toksin) :

İlk kez Krauss ve Clairmont tarafından 1990 yılında tanımlanmıştır. Eritrosit, lökosit, trombositler dahil olmak üzere çeşitli doku hücrelerinin membranlarını parçalayarak etki ederler. Tavşan eritrositleri için hemolitik aktivitesi en fazla olan toksindir, insan eritrositlerine karşı fazla etkisi bulunmamaktadır. İnsan makrofajları ve trombositleri üzerine litik etkisi olmasına karşın monositlere karşı etkisizdirler. *S. aureus*'ların en iyi karakterize edilen toksinidir. Tavşanlara intra venöz olarak 1 μ g enjekte edildiğinde letal etki gösterirler (Bilgehan, 2000). Hemolitik, ölümcül ve dermonekrotik aktiviteye sahiptir. Kırmızı kan hücrelerinin hemoliz olmasına neden olur ve insan makrofajlarını lizis eder. Hücre kültürlerinde sitotoksik etkiye sahiptir. α -toksinin stafilokok hastalıklarında, doku hasarında rol oynadığı bilinir. Şayet deri altına girer ise nekroza sebep olur. *S. aureus* suşlarının çoğu bu toksini üretir.

Alfa hemolizin memeli hücrelerine; özellikle tavşan eritrositlerine karşı toksik olup, dermonekrotik ve nörotoksik özellikleri de bulunmaktadır. Alfa hemolizini kodlayan gen (*hla*), ilk defa 1984 yılında Gray ve Kehoe tarafından *S.aureus*'un kromozomundan klonlanmış ve dizin analizi yapılmıştır. Olgun protein 33000 moleküler ağırlığa sahiptir. Yapısında sistin bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarla bazı suşların *hla* genine sahip olmasına rağmen alfa toksin üretemedikleri anlaşılmıştır (Müştak ve Esendal, 2008).

Beta hemolizin (β - toksin):

İlk kez Glenny ve Stevens tarafından 1935 yılında tanımlanmıştır. Bu toksin yağ açısından zengin membranları hasara uğratan bir sfingomiyelinazdır. Sifingomiyeline etki ederek eritrositleri parçalar. En iyi koyun daha az olarak insan ve tavşan eritrositlerini eritir (Bilgehan, 2000). Sitolitik toksinlerden alfa ve beta toksin insanlarda hastalık oluşturan *S. aureus* izolatları içinde en çok bulunan toksinlerdir (Dinges ve ark., 2000).

Eritrositler, lökositler, makrofajlar ve fibroblastlara toksik etki eder. Isı-soğuk proteini olarak da bilinen β -toksin, kanlı agar plağında 37 °C'de inkübasyondan sonra, 4 °C'de veya oda sıcaklığında bekletildiği zaman hemolitik aktivitesini artırır.

S. aureus'un beta hemolizini 1935 yılında bulunmuş olup, toksinin hemolitik aktivitesinin 37°C'de muamele ve 10°C'de inkübasyondan sonra daha çok arttığı anlaşılmış ve buna bağlı olarak toksin "sıcak-soğuk" hemolizin olarak adlandırılmıştır. Beta hemolizin 35000 moleküler ağırlıktadır. Beta hemolizin geni (*hlb*) kromozomal olarak 4-kb*Cla*I DNA fragmentinde lokalize halde bulunmaktadır ve 39000 moleküler ağırlığındaki 330 aminoasitlik polipeptidi kodlamaktadır. 1963'de beta hemolizinin fosforilaz c aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Müştak ve Esendal, 2008).

Gama hemolizin (γ - toksin):

1938 yılında Smith ve Price tarafından tanımlanmıştır. Möllby Wadström tarafından elde edilmiştir. Belirgin bir hemolitik etkisi vardır.

İnsan dahil birçok türde eritrositleri hemoliz eder. Mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır (Dinges ve ark., 2000). Kanlı agar plağında etkileri görülmez. Hücre kültürlerinde sitopatik etkisi vardır. Gama hemolizin neredeyse *S. aureus*'un bütün suşları tarafından üretilmektedir. Gama hemolizin genleri, 4,5 kb *ScaI* kromozomal bölgesindeki, tek bir lokustan transkripte edilmektedirler. Bu genlerin açık ifadeleri sırasıyla *hlgA*, *hlgC* ve *hlgB*'dir. HlgA gama hemolizinin $\gamma 1$ komponenti olarak, HlgC ise, $\gamma 2$ komponenti olarak tanımlanmıştır. HlgB ve HlgC beraber gama hemolizini oluştururlar (Müştak ve Esendal, 2008).

Delta hemolizin (Δ - δ Toksin):

S. aureus'ların çoğunluğu tarafından üretilen çok ufak peptit toksinidir. İnsan, hayvan, koyun ve maymun eritrositlerini eritir, ancak diğer hemolizinler kadar güçlü değildir. Deterjan ve benzeri bir aktiviteye sahip, düşük molekül ağırlıklı alt birimlerden meydana gelir, bu özelliği nedeniyle litik ve sitolitik aktivite spektrumu geniştir (Bilgehan, 2000). Dermonekrotik toksindir, ölümcül hastalıklar da yapabilir. Çeşitli memeli hücrelerinde membran hasarına yol açan delta toksin, 26 aminoasitten oluşmuştur. Ortalama 3000 moleküler ağırlıkta ve 26 rezidülük uzunluğa sahiptir.

Delta hemolizin'in %97'si *S. aureus* suşları tarafından üretilmektedir. Toksinin yüksek oranda sitotoksik etkisi olmasına rağmen, hastalıkların etiyolojisindeki önemi halen tam olarak bilinmemektedir (Müştak ve Esendal, 2008).

1.6.3.1.2. Panton-Valentine Lökositini (PVL)

İlk olarak Van de Valde tarafından, lökositleri parçalama yeteneğinden dolayı lökositin adı verilmiştir. Panton ve Valentine adındaki araştırmacılar tarafından, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla lökotoxin arasındaki ilişki gösterilmiştir (Boyle-Vavra ve Daum, 2007). Lökositleri parçalayıp fagositozu önleyen toksin önemli bir virulans faktörüdür. *S. aureus* lökositinine **Panton-Valentine Lökositini (PVL)** adı verilir (Cengiz, 1999). PVL, lökositler ve makrofajlar üzerine litik etkisi olan bir *S. aureus* toksinidir.

Toplum kaynaklı deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile akut pnömonilerden izole edilen *S. aureus* kökenleri tarafından salgılanan PVL, önemli bir virulans faktörüdür (Lina ve ark., 1999). PVL, birbiri ile sinerjik etkili iki proteinden oluşan bir toksindir. Toksinin yapısını oluşturan bu proteinler elektroforezdeki hızlarına göre isimlendirilmiştir. Elektroforezde hızlı olanına F (Fast), yavaş olanına S (Slow) adı verilmiştir. S ve F proteinleri, bakteriyofaj tarafından, *S. aureus* kromozomuna yerleşen *lukS*-PV ve *lukF*-PV adında iki gen tarafından kodlanırlar (Boyle-Vavra ve Daum, 2007). *S. aureus*'un salgıladığı PVL proteinleri (S ve F proteinleri) hücre dışına salındıktan sonra, polimorfonükleer (PMN) lökosit üzerine etki etmeden önce yedili yapı oluşturur. PVL proteinleri, PMN lökositlerinin hücre membranı üzerinde por oluşturarak, lökositlerin sitoliz olmasına neden olur. Lizis olmuş lökositlerden açığa çıkan oksijen materyalleri ve granül içerikleri, doku nekrozu yapar. Yüksek PVL konsantrasyonu lökositlerin lizisine neden olurken, düşük PVL konsantrasyonu hücrelerin mitokondriyal membranına direkt bağlanarak lökositleri apoptozise götürür. Düşük PVL miktarı, lökosit hücre içerisine ulaşarak mitokondrinin membranını parçalar. Sitokrom C mitokondriden lökosit hücre içine salınır, kaspaz 9 ve kaspaz 3 oluşur ve DNA parçalanarak lökosit apoptozisi oluşur. PVL pozitif *S. aureus*; basit deri enfeksiyonundan, ciddi deri ve doku enfeksiyonlarına, sepsisemiye ve nekrotizan pnömoniye kadar çeşitli hastalıklara neden olur. PVL pozitif *S. aureus*'lar özellikle çocuklarda, nekrotizan pnömoni sebebidir ve mortalitesi yüksektir (Jung ve ark., 2008).

PVL pozitif MRSA ile invaziv akciğer enfeksiyonları arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Özellikle kistik fibrozlu hastalarda PVL pozitif MRSA ciddi bir sorun oluşturur (Elizur ve ark., 2007). Son yıllarda, PVL genlerinin toplum kaynaklı MRSA kökenlerinde yer alması dikkatleri üzerine çekmiştir. Bu kökenlerde alışılmışın dışında küçük ve mobil stafilokokal kaset kromozom *mec* tipi(SCC*mec*) IV veya V vardır. Bu küçük kaset tipini taşıyan *S. aureus* kökenlerinde, metisilin direncinin (*mecA*) yayılması, daha büyük olan SCC*mec* tipleri I-III'den daha hızlıdır (McClure ve ark., 2006).

1.6.3.2. Enterotoksinler

Stafilokokal enterotoksinler (SE) heterojenik bir grup olmakla birlikte, suda çözünebilir, tek zincirli, 26-35 kDa molekül ağırlığında globüler bir protein grubudur. İzoelektrik noktaları 7-8,6 arasında değişmektedir. Yapılarında lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tirozin bulunmaktadır (Erol, 2007). *S. aureus*'ların dışında başka stafilokok türlerinin (*S. haemolyticus*, *S. conhii*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. intermedius*) de enterotoksin oluşturabildiği bildirilmiştir (Erol, 2007). Enterotoksinler, kimyasal ve antijenik özellikleri esas alınarak alfabetik sıralamaya göre adlandırılırlar. Temel olarak beş serotipe ayrılmaktadırlar (SEA, SEB, SEC, SED, SEE). Fakat son yıllarda yeni tip enterotoksinlerin de varlığı rapor edilmiştir (SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SEU). Bütün SE'lerin süperantijen olduğu faj, plasmid ve patojenite adlarını kapsayan mobil genetik elemanlar tarafından kodlandığı bildirilmektedir (Bania ve ark., 2006). *S. aureus* uygun olan bir ortamda hızla çoğalmasının yanı sıra suşa bağlı olarak A, B, C1, C2, C3, D, E, G, H toksinlerinden birini veya birçoğunu oluşturabilmektedir. F toksini "Toksik Şok Sendromu Toksini" (TSST-1) olarak adlandırılmaktadır ve ciddi toksik rahatsızlıklara da yol açmaktadır. Bu toksinin etkisi Rhesus maymunlarında araştırılmış ve çok önemli hastalık belirtileri gözlenmiştir. *S. aureus* enterotoksinleri içinde en toksik olan enterotoksin A'dır. Buna karşılık B de ısıya dayanıklı olandır (Le Loir ve ark., 2003). İnsanda kusma ve ishale neden olur. Isıya ve mide enzimlerine dayanıklı polipeptid yapıda ekzotoksinlerdir. A'dan E'ye kadar 5 serotipe sahiptir (Cengiz, 1999).

S. aureus'un Baird Parker Agar üzerinde bulunan atipik koloniler veya KNS suşların da enterotoksin oluşturabildikleri bilinmektedir. Ancak tüm bu bulgulara karşın *S. aureus* suşlarında koagülaz aktivitesi ile enterotoksin oluşumu arasında yüksek bir korelasyon bulunmaktadır. Farklı klinik ve çeşitli gıda örneklerinden enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarının %90'dan fazlası koagülaz pozitiflerdir. *S. aureus* enterotoksinlerinin inaktivasyonu için gereken sıcaklık derecesi 100 °C de 1-3 saat veya 120 °C de 10-40 dakika olarak verilebilmektedir. *S. aureus* izolatları enterotoksinlerin bir veya birkaçını bir arada üretebilmektedir. Enterotoksin tipleri içerisinde SEA ve SED sıklıkla, SEC' nin kısmen SEB ve SEE' nin nadiren intoksikasyona neden olduğu bildirilmiştir (Erol, 2007).

SEA ve SED'ye sıklıkla rastlanmasının nedeni bu toksinlerin asıl kaynağının insan olması, logaritmik üreme fazında primer metabolit olarak üretilmesi, ayrıca SEA'nın olumsuz koşullar altında (pH, aw, Eh) oluşturulabilmesinden kaynaklanmaktadır. Buna karşın SEB ve SEC sekonder metabolit olarak ortaya çıkmakta olup, ancak logaritmik üreme fazının sonunda oluşabilmektedir, pratik koşullarda da bu durum 20 saatten az olan inkübasyon sürecinde gerçekleşmemektedir (Erol, 2007).

1.6.3.3. Eksfoliatif Toksin

Epidermolitik toksinler olarak da adlandırılırlar. Eksfoliatif Toksin A, kromozom tarafından kodlanır. Eksfoliatif Toksin B, plazmid tarafından kodlanır (Cengiz, 1999). Özellikle yeni doğanlarda epidermis hasarıyla karakterize "Scaled Skin Syndrome" (Soyulmuş Deri Hastalığı)'na neden olur. Antijenik olarak ETA ve ETB olarak iki ayrı formu bulunmaktadır. A tipi (*eta*) kromozomal, B tipi (*etb*) plazmide bağlı genlerce oluşturulur. Bu toksinlerin epidermisin bütünlüğünü koruyan proteini hedef alan proteaz ve esteraz aktiviteleri bulunmaktadır (Tünger, 2004). İki toksin immünolojik ve biyokimyasal olarak birbirinden farklı değerlendirilmektedir. Bu toksinlerin ortak özelliği süperantijen yapıda olmaları ve proteolitik aktiviteye sahip olmalarıdır (Tünger, 2004).

1.6.3.4. Toksik Şok Sendromu- 1 Toksini (TSST- 1)

Enterotoksin F veya pirojenik ekzotoksin C olarakta adlandırılır. Ateş, hipotansiyon, kızarıklık, pul pul dökülen deri ve çoklu organ yetmezliği ile birlikte toksik şok sendromuna neden olur (Cengiz, 1999). İlk olarak 1978 yılında Todd ve arkadaşları tarafından birden fazla sistemi etkileyen hastalık olarak tanımlanmış ve önemi ortaya konmuştur. TSS akut, potansiyel ölümcül bir hastalık olup, yüksek ateş, yaygın deri döküntüsü, hipotansiyon ile karakterizedir. TSS toksini ilk olarak enterotoksin olarak tanımlanmış ve SEF olarak isimlendirilmiştir, fakat daha sonraki yıllarda yapılan hayvan deneyleri sonucunda diğer enterotoksinlere kıyasla emetik aktivite göstermediği ortaya çıkmış ve "Toksik Şok Sendromu-I" olarak adlandırılmıştır (Erol, 2007).

TSST-1 toksini, molekül ağırlığı 22 kDa olan tek zincirli bir protein olup, sıcaklığa ve proteolitik enzimlere dirençli bir toksin olarak bilinmektedir (Koneman ve ark., 2006).

1.6.4. Enzimler

S. aureus'un virulansında önemli rol oynayan birçok enzimi vardır.

1.6.4.1. Katalaz

Tüm stafilokoklar katalaz enzimi üretirler. Katalaz, mikroorganizmalar için toksik olan, fagositoz veya bakteri metabolizması sonucu oluşan hidrojen peroksiti katalizle su ve oksijene dönüştürür. Stafilokoklar için koruyucu bir enzimdir. Katalaz enziminin varlığı, stafilokokların streptokoklardan ayrımında da kullanılır (Bilgehan, 2000). Bakteriler bu enzim sayesinde toksik oksijen radikalleri tarafından öldürülmeye direnç kazanır (Kutlu, 2006).

1.6.4.2. Koagülaz

Patojen stafilokokların en önemli sentezledikleri enzimlerden birisi koagülaz enzimidir (Bennett, 2013). Tüm *S. aureus*'larda doğal olarak koagülaz enzimi bulunur (Bilgehan, 2000).

S. aureus'un daha az virulan olan stafilokokların türlerinden ayrımı klinik açıdan önem taşımaktadır. Tüp koagülaz testi *S. aureus*'un tanımlamasında en güvenilir yöntemdir. Koagülaz ısıya dirençli, filtrelerden geçebilen bir enzimdir. Patojenite etkisi olan stafilokokların çoğu, oksalatlı ve sitratlı insan ya da tavşan gibi hayvanların plazmasını koagüle edebilme yeteneğine sahiptir. Stafilokoklar sentezledikleri koagülaz enzimi sayesinde bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal serumun bakterisid etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olmaktadır. Bu nedenle stafilokokların koagülaz pozitif izolatları patojen olarak kabul edilmektedir. (Bennett, 2013). Koagülaz enzimi plazmadaki antifagositik faktörü de hidrolize edebilir. Koagülaz oluşumu patojenite ile paralellik gösteren bir özelliktir.

Koagülaz enzimi *S. aureus* izolatlarında serbest ve hücreye bağlı olarak iki şekilde bulunabilir. Hücre duvarına bağlı koagülaz olarak bilinen "Clumping Factor" (CF) plazmadaki fibrinojene direkt etki ederek fibrine dönüştürmektedir. Stafilocokların hücre yüzeyinde meydana gelir ve serbest bırakılmaz. Fibrinojenin direkt olarak fibrine dönüşümü ile hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu meydana gelir ve bunun sonucu olarak da stafilocoklar aglütinasyon ve kümeleşme oluşturur. Bu enzim aynı zamanda stafilocokların birbirlerine bağlanabilmelerini sağlamaktadır. Serbest koagülazda enzimin etkisini gösterebilmesi için trombine benzeyen ve bütün hayvanların plazmasında bulunmayan bir faktöre, CRF'ye (Coagulase Reaction Factor) ihtiyaç vardır. Bu plazma faktörüyle birleştiğinde aktif hale geçen koagülaz, fibrinojen trombinle katalize edilip fibrin oluşmasına benzer bir mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırır. Serbest ve bağlı koagülazın ayrı antijenik yapıda olduğu ve farklı enzimatik mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırdıkları bilinmektedir. Bu nedenle bağlı koagülazın belirlenmesinde lamda koagülaz, serbest koagülazın belirlenmesinde tüpte koagülaz testi yaygın olarak kullanılmaktadır (Bayhün, 2008; Bennett, 2013). Plazmayı pıhtılaştırma yeteneği, insan ve hayvanlarda *S. aureus*, sadece hayvanlarda ise *S. intermedius* ve *S. hyicus* gibi aktif enfeksiyonlara neden olan patojen stafilocokların tanımlanması için yaygın olarak kullanılan bir kriterdir. Bu aktivite bakteriyel üreme sırasında salgılanan koagülaz etkisi ile oluşur.

1.6.4.3. Hyalüronidaz

Bağ dokularındaki hücreler arası matrikste bulunan hiyalüronik asidi hidrolize eden bir enzimdir. *S. aureus*'ların %90'ından fazlası bu enzimi üretir. Bakterinin dokulara yayılımını sağlar (Bilgehan, 2000). Stafilocokların doku içerisinde yayılmasını sağladığı için bu enzim aynı zamanda "yayılma faktörü" olarak da adlandırılmaktadır (Arda, 1997).

1.6.4.4. Penisilinaz (β -Laktamaz)

β -laktam halkasını parçalayarak penisilin direncinden sorumlu olan önemli bir enzimdir.

Bu enzim genleri, bakteriler arasında geçiş yapabilen plazmidler tarafından kodlanır ve oldukça yaygındır. Penisilin, ilk çıktığı yıllarda stafilokoklarda, %90'ın üzerinde duyarlılığa sahipti. Ancak günümüzde β -laktamaz enzimi salgılanması ile bakterinin penisiline karşı direnci hızla artış göstermiştir (Dündar ve ztrk Dündar, 2008). Penisilinaz üreten bakteriler penisilin ve analoglarının beta laktam halkasındaki amid bağlarını hidrolize edip penisiloik asit oluşturmaktadır. Bu enzimleri kodlayan genler aktarılabılır özellikteki plazmidler üzerinde bulunduğundan, diğer izolatlara hızlıca yayılım gösterirler (Tünger, 2004).

1.6.4.5. Stafilokinaz (Fibrinolizin)

Genellikle insan orijinli koagülaz pozitif *S. aureus* izolatları tarafından üretilmektedirler, plazminojeni plazmine dönüştürebilmektedirler (Schleifer, 1984). Fibrin yapılarını parçalayarak dokularda yayılmayı sağlar (Bilgehan, 2000).

1.6.4.6. Lipaz

Lipazlar, suda çözünmeyen trigliseritler olmak üzere, di ve mono-ailgliseridlere, serbest yağ asitlerine ve gliserole hidrolizini katalizleyen enzim olarak tarif edilmektedir.

Stafilokoklarda ise deri ve deri altı yerleşiminde yağ dokusu üzerindeki etkileri ile önemli rol oynamaktadır. Lipaz enzimi *S. aureus*'ların tümü ve KNS'lerin %30'u tarafından üretilmektedir (Fischetti ve ark., 2006). Lipazlar lipidleri hidrolize ederek vücudun yağ bakımından zengin bölgelerinde stafilokokların kolonize olmalarına yardımcı olurlar. Özellikle yüzeysel deri ve deri altı enfeksiyonlarına neden olan stafilokoklarda bu enzim bulunmaktadır (Tünger ve ark., 2005).

1.6.4.7. Deoksiribonükleaz (DNaz)

Isıya dayanıklı bir enzimdir. *S. aureus*'larda bulunur. Patojenitedeki rolü tam olarak bilinmez (Bilgehan, 2000).

Stafilokok türlerinde DNaz enziminin üretimi koagülaz enziminden sonra patojeniteyi belirleyen en önemli özelliklerden biri olduğu için, patojen stafilokokların ayırımında önemlidir. DNaz enzimi endo ve ekzo nükleaz aktivitesine sahip nükleazları 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. *S. aureus* izolatları DNA bulunan besiyerinde DNaz enzimi ile ortamdaki DNA'ları hidrolize ederler ve koloni çevrelerinde zon oluşumuna neden olurlar (Smith ve ark., 1969). *S. aureus*'un diğer stafilokoklardan ayırt edilmesi için araştırılan bu özelliği bazı laboratuvarlarda *S. aureus*'un rutin tanımlaması için kullanılmaktadır. Bu nedenden dolayı patojen stafilokokları ayırt etmede DNaz enziminin varlığını tespit etmek önem kazandırmaktadır. DNaz enziminin rolü DNA'yı mono ve polinükleotidlerine hidroliz etmektedir. *S. aureus* suşlarının %90'ından çoğu DNA'yı hidroliz eder, ısıya dayanıklı nükleaz enzimini üretirler, ancak koagülaz negatif (KNS) suşların %20'sinin de bu enzimi ürettiği gösterilmektedir (Bayraktar ve ark., 2004).

1.6.4.8. Termonükleaz (TNaz)

Tüm *S. aureus* izolatları endo ve ekzo nükleolitik özelliklere sahip, DNA ve RNA'yı parçalayabilen ısıya dayanıklı bir stafilokokal nükleaz olan termonükleaz enzimini salgırlar. TNaz üretimi *S. aureus* izolatlarının identifikasyonunda doğrulayıcı bir test olarak kullanılmaktadır (Bannerman, 2003).

Staphylococcus epidermidis ve bazı *Micrococcus* ailesine ait türlerinin de nükleaz enziminin oluşturabilme yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, sadece *S. aureus* tanımlanmasında termostabil nükleaz saptanmasının, koagülaz saptanması kadar önem taşıdığını açıklamışlardır (Bennett, 2013).

1.6.4.9. Lesitinaz

Çoğu *S. aureus* tarafından sentezlenen bu enzim, yumurta sarısı ve insan serumunda bulunan lipoprotein kompleksini ayrıştırma özelliğine sahiptir (Sneath ve ark., 1986).

1.6.4.10.Üreaz

Üreaz, üre siklusunda ve aminoasit metabolizmasında rol oynayarak üre yıkımı sonucunda CO₂ ve NH₃ oluşturur. NH₃ dokular için toksiktir. Aşırı amonyum bakteriler içinde toksik olabilir. Bu kimyasaldan çeşitli enzimler ve kombine detoksifikasyon mekanizmalarıyla korunabilirler. Biyofilmdeki bakteri hücreleri metabolizma sonucu oluşan laktik asit ve formik asit üretimi nedeni ile düşen pH'dan kendilerini üreaz genlerinin up-regülasyonu ile korurlar. Üreaz aktivitesinin biyofilm oluşumunun sürdürülmesinde önemli olduğu bildirilmektedir (Chakraborty ve ark., 2011).

1.7. Stafilokoklarda antibiyotik direnci

Antibiyotikler çeşitli mikroorganizma türleri (bakteriler, mantarlar) tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini veya çoğalmasını durduran, engelleyen veya onları öldüren doğal her türlü maddelerdir. Antibiyotik terimi tedavide kullanılan kemoterapötik ve antibiyotik niteliğindeki maddeler için genel bir ad olarak kullanılır (Walsh, 2003). İlk kez 1940'larda başlayan antibiyotik kullanımı (Penisilin G) ile birlikte bakteriler, korkutucu nozokomiyal enfeksiyon etkenleri olmaktan çıkmış, 1944'ten itibaren penisilin kullanımı da hızla yaygınlaşmıştır. Ancak penisilin kullanımı ile toplum kaynaklı *S. aureus* suşlarında penisilin direnci; 1944'te %5, 1946'da %14, 1947'de %38 ve 1948'de %59'a kadar artış göstermiş ve 1953'te toplum kaynaklı *S. aureus*'larda penisilin direnci %80'e ulaşmıştır (Chambers, 2001).

Günümüzde izole edilen *S. aureus*'ların %95'inden fazlasında penisilin direnci görülmektedir (Chambers, 2001). Günümüzde antibiyotiklerin çoğunun sentetik ya da semisentetik yöntemlerle elde edilmesi mümkün olmaktadır. Eskiden, genellikle sentez yoluyla elde edilen kemoterapötiklerden ayrı bir ilaç grubu olarak kabul gören antibiyotiklerin bir kısmının, diğer kemoterapötikler gibi sentetik olarak yapılmaya başlanmasıyla aradaki kaynağa ilişkin fark büyük ölçüde kaybolmuştur. Bu nedenle antibakteriyal etkinliği olan biyolojik kaynaklı veya sentetik ilaçların tümü için antibiyotik terimi kullanılmaktadır. Antibiyotik direnci ise bir mikroorganizmanın antibiyotiklerin (antimikrobiyal ajanlara) öldürücü ve üremeyi durdurucu etkilerine karşı durabilme yeteneğidir (Schaechter ve ark., 2006).

Penisilin direnci, β -laktamaz (penisilinaz) varlığı ile gerçekleşir. β -laktamaz, β -laktam halkasını parçalayarak penisilini inaktive eder. Bu direnç bakteriler arasında hızlı bir şekilde yayılmıştır. Direncin yayılma mekanizması, β -laktamazın üretimini kodlayan ve düzenleyen genleri taşıyan plazmidlerin bakteriden bakteriye direnç geni aktarımı ile gerçekleşir. β -laktamaz üreten kökenlerin tedavisi için 1960'lerde yarı sentetik penisilinler (metisilin, ampisilin gibi) kullanılmaya başlanmıştır (Dündar ve Öztürk Dündar, 2008).

Bu antibiyotiklerin etkileri *S. aureus* hücre duvarındaki penisilin bağlayan protein (PBP) üzerinedir. Ancak çok kısa sürede bu antibiyotiklere karşı da direnç gelişmiş ve 1961 yılında İngiltere'de COL izolatı olarak adlandırılan ilk MRSA izolatı tanımlanmıştır. Özellikle metisilin dirençli *S. aureus*'lar hastane enfeksiyonlarında hızla artış göstermiştir. Pek çok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de metisilin direnci ciddi bir sorun haline gelmiştir. Metisilin direnci kromozomal bir dirençtir, *mecA* geni metisilin direncini sağlamaktadır. Günümüzde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar vankomisin ve teikoplanin olmak üzere glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. Glikopeptidlerin yanı sıra linezolid, daptomisin ve tigesiklin gibi yeni antibiyotikler de kullanılmaktadır. Ancak stafilokoklarda antibiyotiklere karşı görülen hızlı direnç gelişimi hem glikopeptid grubu ilaçlara hem de yeni geliştirilen ilaçlara karşı da ortaya çıkmıştır. 1996 yılında vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus* (VISA) izolatları ve 2002 yılında da vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) izolatları görülmeye başlanmıştır. Yeni antibiyotiklerden linezolid ilk kez 2000 yılında klinik kullanıma girmiş ve bundan bir yıl gibi çok kısa bir süre sonra ilk linezolidde dirençli MRSA izolatı tanımlanmıştır (Tsiodras ve ark., 2001; Dündar ve Öztürk Dündar, 2008).

Buna benzer bir şekilde daptomisin ilk kez 2003 yılında klinik kullanıma girmiş ve bundan iki yıl sonra bu ilaça karşı da direnç ortaya çıkmıştır (Mangili ve ark., 2005). Son yıllardaki araştırmalar göstermiştir ki, MRSA enfeksiyonları sadece hastane kaynaklı değildir. Hastane dışında toplumdan kazanılmış MRSA enfeksiyonlarının görülme sıklığında da artış gözlenmiştir (Appelbaum, 2007). TK-MRSA'ların en önemli özelliklerinden biri de Panton-Valentine lökosidin (PVL) geni içermeleridir. "Staphylococcal cassette chromosome" (SCC*mec*) tip IV veya V'in gösterilmesi PVL varlığının tespitini de sağlar (Appelbaum, 2007).

Antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoğul dirençli bakteriler ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde büyük sorunlar yaşanmaya başlamıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte iken, öte yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar bildirilmekte ve sorunun boyutları giderek büyümektedir. Önceleri Gram negatif (-) bakterilerde gözlenen çoklu antibiyotik dirençleri ve tedavi sorunları daha sonraki yıllarda Gram pozitif (+) bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde de gözlenmiştir (Shorr, 2007).

Çoklu antibiyotik direnci gösteren mikroorganizmaların giderek yayılması sonucunda gerek Gram-pozitif gerekse Gram-negatif mikroorganizmalara bağlı gelişen bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar yaşanmakta ve bu da yeni antibiyotiklere duyulan ihtiyacı artırmaktadır. Dirençli bakterilerle meydana gelen enfeksiyonlar hastanede yatış süresini uzatmakta, sağlık hizmetleri giderlerini artırmakta ve en önemlisi gerek morbidite gerekse mortalitede ciddi artışa yol açmaktadır. *S. aureus*, tüm dünyada toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara yol açan en önemli etkenlerden biridir (Culos ve ark., 2013).

Çok sık, yanlış ve gereksiz kullanılan antibiyotikler, bakterilerin direnç geliştirmesine, dirençli bakteri enfeksiyonlarının artmasına, ilaç yan etkilerinin görülme sıklığında artışa, tedavilerin zorlaşmasına ve ekonomik yüke neden olmaktadır. Doğru tedavi için antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması gerekmektedir (Dündar ve Öztürk Dündar, 2008).

S. aureus'larda antibiyotik direnci ilk kez 1930'lu yıllarda klinik kullanıma giren sulfonamid grubu antibiyotiklerle başlamış ve günümüzde linezolid, daptomisin gibi yeni antibiyotiklere kadar uzanmıştır. 1950'li yıllarda, günümüzde ST30-CA-MRSA-IV olarak adlandırılan penisiline dirençli faj tip 80-81 *S. aureus* klonu, tüm dünyada gerek hastane kaynaklı gerekse toplum kaynaklı enfeksiyonlara yol açmıştır.

2000'li yıllara gelindiğinde ise, penisilinaz enzimi pozitif saptanan izolatların oranı %90-95'lere ulaşmıştır (Stefani ve Goglio, 2010). Beta-laktam antibiyotikler, peptidoglikan sentezini, spesifik olarak karboksipeptidaz ve özellikle de transpeptidazları inhibe ederek durdururlar. Bu enzimlere penisilin bağlayan protein (PBP) adı verilir, çünkü inhibisyon beta-laktam antibiyotiklerin bu enzimlere fikse olması sonucu gelişir.

S. aureus'un dört tane PBP'i vardır; PBP1, PBP2, PBP3 ve PBP 4. Metisilin ve penisilin gibi antibiyotikler karşısında, stafilokokların L kolonileri meydana gelir. Metisilin dirençli stafilokoklar invitro deneylerde sefalosporinlere duyarlı bulunsalarda invivo ortamada direnç göstermektedirler (Chakraborty ve ark., 2011).

S. aureus'larda daha çok yaygın olan beş çeşit antibiyotik direnci bulunmaktadır (Holden ve ark., 2004);

1. Penisilin direnci
2. Metisilin direnci
3. Vankomisin direnci
4. Kinolon direnci
5. Makrolid-linkozamid-streptogramin B antibiyotiklere direnç

1. Penisilin direnci: İlk kez Kirby ve arkadaşları tarafından 1944 yılında *S. aureus*'ta beta-laktamaz olan penisilinaz enzimi yapımına bağlı penisilin direnci bildirilmektedir. Günümüzde penisilinaz üreten *S. aureus* suşları %80-90 düzeyindedir (Lowy, 2003).

Beta-laktamaz geni büyük bir plasmid içinde bulunan aktarılabilen elementin bir parçasıdır. Bu elementin içinde gentamisin ve eritromisin gibi başka antimikrobiyal direnç genleri de taşınabilmektedir (Holden ve ark., 2004).

2. Metisilin direnci: Stafilokoklarda esas sorun son yıllarda giderek artan oranlarda görülen metisilin direncidir. 1990 yılında ABD'de, nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilen suşların %15'inin metisiline dirençli olduğu belirtilmiştir. Diğer gelişmiş ülkelerde de bu oran yakındır (Becker ve von Eiff, 2011). *S. aureus*'larda antibiyotiklere direnç kazanma yeteneği, antibiyotiklerin kullanılmasından hemen sonra gözlenmiştir. MRSA, ilk kez 1961 yılında tanımlandıktan sonra tüm dünyada önemli bir problem haline gelmiştir. Son yıllarda MRSA izolatları hem hastane kaynaklı hemde toplum kaynaklı enfeksiyonlara yol açmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere MRSA enfeksiyonları giderek artan oranlarda rapor edilmektedir (Culos ve ark., 2013).

Metisilin direnci *mecA* genine bağlıdır ve bu gen PBP2a ya da PBP2' olarak adlandırılan, PBP2'den farklı bir penisilin bağlayan proteini kodlar. MRSA'nın tanımlanması, bakterinin üremesinden sonra 24-48 saat gibi ek bir süre gerektirmektedir (Gröbner ve ark., 2009). Metisilin direncinden sorumlu mekanizmalar başta; *mecA* geni

varlığına bağlı PBP2a yapımı olmak üzere PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere afinitelerinde azalma ve beta-laktamazların aşırı yapımıdır.

mecA geni, tüm MRSA suşlarında bulunan bir mobil genetik elemanın parçasıdır. Katayama ve arkadaşları 2000 yılında *mecA*'nın stafilokokkal kaset (cassette) kromozomu (chromosome) *mec* (SCC*mec*) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçası olduğunu göstermişlerdir. Günümüzde tanımlanmış dört farklı SCC*mec* elemanı vardır; tip I, II, III ve IV. SCC*mec* tip II ve III MRSA suşlarının özelliği çoklu ilaç direncine neden olmaları ve özellikle hastane ortamında bulunmalarıdır. Dünyada MRSA epidemilerine neden olan klon çeşidi sınırlı sayıdadır. Bu da *mec* elemanının geçişinin horizontal olduğunu düşündürmektedir. Toplumdan kazanılmış MRSA enfeksiyonlarının analizi sonucu suşların hepsinde SCC*mec* elemanı tip IV saptanmıştır (Lowy, 2003).

mecA geninin kodladığı PBP2a, diğer PBP'lerden beta-laktam antibiyotiklere ileri derecede azalmış afiniteleriyle ayrılırlar. PBP2a varlığında metisilin, nafsilin ve oksasilin gibi semisentetik penisilinazlara dirençli beta-laktamlara ve tüm sefalosporinlere direnç kazanılır. *mecA* geninin ürünü olan PBP2a hücre membranına bağlı ve transpeptidasyon reaksiyonunu katalize eden bir enzimdir (Lowy, 2003).

Beta-laktam antibiyotiklerin varlığında diğer PBP'ler inhibe olurken, PBP2a fonksiyon görmeye devam ederek bakterinin yaşamını idame ettirir. PBP2a sentezi *mecI* ve *mecR1* proteinleri ve varsa *blaZ* sisteminin regülatör sinyal verici proteinleri aracılığıyla düzenlenir. Homojen fenotipteki metisilin direnci *chr* olarak adlandırılan genetik lokustaki mutasyonlara bağlıdır. Enfeksiyonların en sıklıkta etkeni durumunda olan *S.aureus*'ta gelişen metisilin direnci mikroorganizmayı tüm β -laktamlara karşı dirençli kılmakta ve tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır. Metisilin direnç oranları giderek artış göstermektedir ve bazı merkezlerde %75'e ulaşmaktadır (Lowy, 2003).

1990'lı yıllarda başlamak üzere hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonlarının yanı sıra toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonlarının görülme sıklığında da önemli bir artış ortaya çıkmıştır.

TK-MRSA'ların moleküler mikrobiyolojisi HK-MRSA'lardan oldukça farklılık gösterir. HK-MRSA izolatlarında, genellikle tip I, II veya III SCC*mec* genetik elemanı bulunmaktadır. TK-MRSA izolatlarında ise, başta tip IV olmak üzere tip V veya VII SCC*mec* genetik elemanı ve bakterinin virulansında rol oynayan bir toksini kodlayan

“Panton-Valentine leukocidin (PVL)” geni bulunmaktadır. PVL, önemli bir virulans faktörü olup invaziv deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (apse, follikulit vb.) ve nekrotizan pnömoni ile ilişkili bulunmuştur.

TK-MRSA’lar günümüzde özellikle acil servis yoğun bakım ünitelerinde, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde, askeri kışlalarda ve hapishanelerde meydana gelen enfeksiyonların önemli bir etkeni haline gelmiştir. HK-MRSA’lar solunum yolu enfeksiyonları, kan akımı enfeksiyonları ve cerrahi yara enfeksiyonları gibi klinik tablolara yol açarlar. SCCmec tip II ve tip III taşıyan HK-MRSA izolatlarında metisilin yanı sıra makrolid, klindamisin, streptogramin B ve tetrasiklin direnci de görülürken; TK-MRSA izolatları sıklıkla klindamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin, gentamisin, florokinolonlar ve kloramfenikole karşı duyarlıdır (Shorr, 2007; Rehm ve Tice, 2010).

MRSA izolatları, aminoglikozidler, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklin ve florokinolonlar gibi yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe dirençlidir (Al-Talib ve ark., 2010). Metisilin direncini etkileyen dış faktörler: Tuz konsantrasyonu, pH, ortamda bulunan maddeler, ozmolarite ve ortam sıcaklığı metisilin direncini etkileyen eksternal faktörlerdendir (Holden ve ark., 2004). Günümüzde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde klinikte kullanımda olan vankomisin ve teikoplanin olmak üzere iki glikopeptid grubu antibiyotik bulunmaktadır. Glikopeptid grubu ilaçlar, hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Sentezlenmekte olan hücre duvarının bir komponenti olan peptidoglikanın D-alanil-D-alanin ucuna bağlanarak transpeptidasyon basamağını inhibe ederler (Shorr, 2007). Son yıllarda, MRSA enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Bunlardan birincisi *S. aureus* izolatlarında görülen metisilin direnç oranlarındaki artıştır. Yapılan bazı çalışmalarda, yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının yaklaşık %80’i metisiline dirençli saptanmıştır (Ippolito ve ark., 2010). İkinci önemli değişiklik, bazı merkezlerde MRSA izolatlarında görülen vankomisin duyarlılığındaki azalmadır.

Bu izolatların vankomisin MIK değerleri ≤ 2 µg/ml olmak üzere duyarlı sınırlarında olmasına rağmen, vankomisin ile başarısız klinik sonuçlar elde edilmektedir. Üçüncüsü, MRSA izolatları arasında vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus* (VISA), heterojen VISA (hVISA) ve vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA)’ların görülmeye başlamasıdır. Dördüncü önemli değişiklik ise, MRSA

sorununun sadece hastanelerde sınırlı kalmayıp toplumda da görülmeye başlamasıdır (Stryjewski ve Corey, 2009).

Günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı %1'in altında iken, Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika'da ve bazı Asya ülkelerinde bu oran %50'lere ulaşmıştır. Bu oran Amerika Birleşik Devletleri (ABD) yoğun bakım ünitelerinde ise %60'ları aşmıştır (Hawkey, 2008).

Önceki yıllarda *S.aureus*'da metisilin direncinin belirlenmesinde oksasilin kullanılırken, son yıllarda CLSI direncin belirlenmesi amacıyla *mecA* direncinin iyi bir indükleyicisi olan sefoksitin kullanılması önermiştir (CLSI, 2013).

3. Vankomisin direnci: Sadece Gram-pozitif bakterilere karşı etkinliği bulunan vankomisin, 1958 yılında klinik kullanıma girmiş ve yıllar boyunca bu ilaca karşı direnç saptanmamıştır (Shorr, 2007). MRSA'lara bağlı enfeksiyonların tedavisi için ilaç seçiminde vankomisin rağbet görmektedir (Gülhan ve ark., 2007). 1989 yılında vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) görülmeye başlanmış ve ilk kez 1996 yılında Japonya'dan Hiramatsu ve arkadaşları 16 vankomisine azalmış duyarlılık gösteren MRSA klinik izolatını tanımlamışlardır. 1997 yılında Japonya'dan, vankomisine ve teikoplanine orta düzeyde (vankomisin MİK değeri 8 µg/ml) dirençli *S. aureus* (VISA) suşu bildirilmiştir. 2002 yılında da vankomisine dirençli *S. aureus* izolatları bildirilmiştir. Daha sonra tüm dünyadan birçok VISA suşu bildirimleri yapılmıştır.

S. aureus'ta günümüzde bilinen iki vankomisin direnç mekanizması vardır; peptidoglikan biyosentezindeki değişiklik ve *vanA* operonunun konjugal transferidir.

Stafilokoklar başta olmak üzere *S. aureus*'un en iyi bilinen özelliklerinden birisi klinik kullanıma yeni giren antibiyotiklere kısa sürede etkin direnç mekanizmaları geliştirebilmesidir (Lowy, 2003; Shorr, 2007). MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde halen vankomisin ve teikoplanin olmak üzere glikopeptid grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Son 10 yıldır MRSA ile meydana gelen enfeksiyonların epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Gerek vankomisine dirençli gerekse vankomisine azalmış duyarlılık gösteren izolatlar bir tehdit oluşturmaktadır (Culos ve ark., 2013). Dolayısıyla vankomisine karşı gelecekte direnç ciddi bir problem olacaktır (Uçan, 2001).

4. Kinolon direnci: Bu grup antibakteriyel ajanların ilk üyesi olan nalidiksik asit 1962 yılında, antimalaryal bir ilaç olan klorokin saflaştırılması sırasında elde edilen bir ara üründen üretilmiştir. Bunu takiben yıllar içinde kimyasal yapıdaki modifikasyonlarla oksolinik asid ve sinoksasin gibi yeni türevler sentezlenmiş ancak bu ilk kuşak kinolonların klinik uygulaması genellikle idrar yolu infeksiyonlarına kısıtlı kalmıştır. Daha sonra 1980’li yıllarda florlanmış kinolonlar denilen yeni kinolon türevleri klinik kullanıma girmiş ve çeşitli infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır.

Nalidiksik asitle yapısal ilişkisi bulunan yeni kinolon türevleri nalidiksik aside benzer şekilde bakterisidal, oral alındığında iyi absorbe olan, kullanımı kolay ilaçlardır. Nalidiksik asitten farklı olarak in vitro daha etkin, daha geniş antibakteriyel etki spektrumuna, daha üstün farmakokinetik özelliklere sahiptirler ve dirençli bakteri gelişimine de daha az neden olmaktadır. Kinolonlar tümüyle sentetik olarak elde edilen antibakteriyel ilaçlardır (Topçu, 2004).

5. Makrolid-linkozamid-streptogramin B antibiyotiklere direnci: Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLSB) grubu antibiyotikler, stafilokoklar da dâhil olmak üzere Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Bu antibiyotikler farklı gruplara ait olmalarına karşın, antibakteriyel etkilerini bakterinin 23S rRNA ribozomal alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe etmek suretiyle gösterirler. Bağlanma bölgesinde meydana gelen mutasyonel bir değişiklik bu üç farklı antibiyotiğe birden direnç gelişmesi (MLSB direnci) ile sonuçlanır. Stafilokoklarda makrolid direnci, hedef bölgenin değişmesi, dışa atım pompaları (efluks mekanizması) ve ilacın inaktivasyonu mekanizmaları ile ortaya çıkmaktadır. En sık görülen mekanizma hedef bölge değişikliği olup (MLSB direnci), *erm* genlerince kodlanan (stafilokoklarda başlıca *ermA*, *ermB* ve *ermC*) metilaz enzimleri aracılığı ile meydana gelir. MLSB direncinin fenotipik ekspresyonu indüklenebilir (iMLSB) veya yapısal-konstitütif (cMLSB) olabilir.

Makrolid direnci, dışa atım mekanizmasına bağlı olarak da gelişebilmektedir. Bu şekilde gelişen dirence makrolid-streptogramin B (MSB) direnci adı verilir ve bu tür direnç stafilokoklarda *msrA* geni tarafından kodlanır. Üçüncü mekanizma,

antibiyotiklerin çeşitli enzimlerce inaktive edilmesidir ki, bu mekanizma stafilokoklarda nadir görülür (Şamlıoğlu ve ark., 2012).

1.8. Biyofilm

Biyofilm terimi, ilk olarak 17. yüzyılda Van Leeuwenhoek'un kendi dişlerindeki plaklarda, mikroskop ile saptanabilen varlıkları tespit etmesi ile ortaya çıkmıştır. Uzun yıllar bu konu üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamasına karşın biyofilmler ve özellikleri ile ilgili kapsayan teori 1978'den sonra artarak bildirilmeye başlanmıştır. Marshall 1976 yılında çok ince ekstrasellüler polimer fibrillerin bakteri yüzeyine sabitlendiğini bildirmiştir. Costerton ve arkadaşları (1987), su sistemlerindeki bakteri topluluklarının, doğal olarak polisakkarid içinde bulunurken, yapışmış bakteri topluluklarının glikokaliks matriks içinde bulunduğunu ve bu matriks yapısının adhezyona aracılık ettiğini gözlemlemiş, 1987'de biyofilmin daha çok aniyonik ekzopolimer matriksden oluşan oldukça hidrate yapı içinde sessil hücreler ve mikrokolonilerden oluştuğunu bildirmiştir.

Biyofilm tabakası 1930'lu yıllardan bugüne kadar yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Tüm ekosistemlerdeki mikroorganizmalar biyofilm olarak adlandırılan yapısal topluluklar içinde çoğalırlar (Ghannoum ve O'Toole, 2004).

Rijnaarts ve arkadaşlarına göre biyofilm, bakteriyel hücrelerin mikrobiyal olarak değişime uğramış yüzeye ya da birbirine tutunarak, EPS içine gömülmüş olan tek hücrelerden çoğalan, genetik yapı ve protein sentezi açısından tamamen değişik, kaygan, pürüzsüz, giderilmesi zor bir yapı olarak bildirilmiştir (Lappin-Scott ve Costerton, 2003).

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir (Leone ve ark., 2006). Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide "hücre dışı polimerik yapı", "ekzopolisakarit" ya da "ekzopolimer (EPS)" adı verilen polisakkarit bazlı bir ağ yapısıdır (Fujishige ve ark., 2006). Son zamanlarda, hücre dışı DNA stafilokok biyofilminin bir yapısal bileşeni olarak gösterilmiştir (Izano ve ark., 2008). Biyofilm yapısında %97 su olmak üzere, %2–5 mikroorganizma, %1–2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlar bulunmaktadır. Nem miktarının

fazlalılığı ve besin maddelerinin ortamda bulunması biyofilm oluşumunu arttırmaktadır (Singhal ve ark., 2011).

Biyofilm içerisinde yaşamak bakteriler için avantajlıdır. Biyofilm içindeki bakteri birçok antibiyotik tarafından öldürülmeye ve fagositoza direnç göstererek varlığını sürdürme özelliğine sahip olmaktadır (Tamura ve ark., 2008). Ayrıca, biyofilmler mevcut genetik yapı ile düzenlenebileceği gibi, ortamdaki diğer patojenlerden aktarılan genler aracılığı ile de mikroorganizmalar biyofilm oluşturabilme yeteneği kazanabilirler (Kiersek-Pearson ve Karatan, 2005). Biyofilmler bakterileri nem, ısı ve pH değişiklikleri gibi çevresel koşullardaki değişimlerin ve ultraviyole ışığa maruz kalmanın doğuracağı zararlardan korur. Bakterilerin kümeler halinde ve ekzopolisakkarit matriks içerisinde bulunmaları sonucu fagosit edilmeleri güçleşir ve hümmoral immün sistem bileşenlerinin bakterilere ulaşmaları engellenmiş olur (Çiftçi, 2005). Doğal çevresel ortamlarda bakteriler planktonik (serbest) ve sesil (bağlı) olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Planktonik form bakterilerin çoğalması ve yayılması için önemli iken sesil form bakteri popülasyonunun kalıcı olması açısından önemlidir. Biyofilm formasyonu planktonik formdan sesil forma geçişi de kapsayan oldukça kompleks bir prosesdir. Sesil üreme formu biyofilm içindeki bakteri topluluğunun olumsuz çevresel koşulların ve antimikrobiyal ajanların etkisinden korunmasına yardımcı olur (Ghannoum ve O'Toole, 2004).

Polisakkarit intercellular adhesin (PIA) *slime* oluşturan maddenin üretimi, ilk olarak Mack ve arkadaşları (1996) tarafından tanımlanmıştır (Heilmann ve ark., 1996). *S. aureus*'ta yapışkan maddeler (*fnbs*, *cna* ve *clfA*) biyofilm ile ilişkili protein ve polisakkarit hücrelerarası yapışkan (PIA) gibi diğer yüzey bileşenleri ile bulunmaktadır (Lasa ve Penades, 2006). Biyofilm oluşumundan sorumlu *S. aureus*'taki polisakkarit hücrelerarası yapışkan (PIA) iyi karakterize edilmiştir (O'Gara, 2007).

Nötrofiller tarafından fagositoz doğal immün sistemi ele geçiren mikroorganizmaları yok etmede önemli bir mekanizmadır ve PIA nötrofiller tarafından yok edilen bakterilerin korunması için biyofilmin ilk tanımlanan faktörüdür (Kristian ve ark., 2008). PIA üretimi DAÜ'li hastalardan izole edilen *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in çok yaygın bir özelliğidir (Podbielska ve ark., 2010). Enfeksiyon ve hastalık süreci içinde biyofilm antimikrobiyal ajanlara ve konak immün sistem mekanizmaları tarafından eliminasyona direnç ile karakterizedir (Ghannoum ve O'Toole, 2004).

Bu nedenle, biyofilm oluştuktan ve olgunlaştıktan sonra geleneksel antibiyotik konsantrasyonları ile tedavi etkisiz kalmaktadır. Bu sebepten dolayı bazı antibiyotiklerin etkinliği azalmakta ve antimikrobiyal direnç gelişebilmektedir (Pace ve ark., 2005). Biyofilm içindeki bakterilerin antibiyotiklere dirençli hâle gelmesinde, biyofilmin antibiyotik direnç genlerinin bakteriler arasında aktarım kolaylığı sağlaması önemli rol oynamaktadır (Obst ve ark., 2006). Teikoik asit, otolizinler, adhesinler, BAP ve Aap proteinleri ilk yapışma için gerekli olmaktadır ve biyofilm gelişimi sırasında hücreler arası birikim olmaktadır (O’Gara, 2007). Stafilokok tarafından biyofilm oluşumu kompleks düzenlemeye tabi ozmolarite, glukoz seviyeleri, anaerobiyoz ve sıcaklık gibi bir dizi çevresel faktörden etkilenmiştir (Shanks ve ark., 2008). *S. aureus*'taki yapışkan matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri tropizm, invazyon ve hücre içi penetrasyon gibi bakteri patogenezinin çeşitli işlemlerinde önemli bir rol oynadıkları tanımlanmıştır (Patti ve ark., 1994). Genellikle bakterinin konakçı hücre yüzeyine yapışabilme yeteneğinin *S. aureus* ve konakçı arasındaki ilk etkileşimde önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır (Hauck ve ark., 2006). *Slime* üretimi biyofilm oluşumuyla ilgili çok önemli bir faktördür. *Slime* üretiminde çoklu hücre katmanlarını çevreleyen hücre dışı madde, bakteri yapışmasını kolaylaştırmaktadır. Staphylococcal *slime* konak ürünler ve farklı bakteriden oluşur (Goetz, 2002).

Slime üretimi, stafilokokların görülebilen virulans faktörlerinin biri olup, konakçı dokuya sadece kalıcı bir bağlanma sağlamaz, fakat spesifik kazanılmış bağışıklık tepkisi ile müdahale ederek fagositoza karşıda bakteriyi korur ve bakteri hücre içinde hedeflere antibakteriyel ajanların girişini engeller (Malm ve ark., 2005).

Biyofilmleri hidrofilik yapan temel komponent sudur. Biyofilmlerin içinde yeralan su kanalları genetik madde kazanılmasına ve alışverişine izin veren bir gen havuzu olarakta fonksiyon görebilir. Bu interstisyel porlar ve kanallar biyofilmin büyümesine olanak sağlamak için besin maddelerinin biyofilme ulaşmasına da izin verir. Biyofilm içerisindeki oksijen yoğunluğu mikrobiyal direncin gelişmesinde önemlidir. Oksijenin biyofilmin yüzey katmanlarında tüketildiği ve dip kısımlarda anaerobik ortam olduğu bilinmektedir. Ayrıca biyofilm içerisinde bakteri metabolizması sonucu oluşan asidik atık maddelerden dolayı pH’nın değişmesi ve bu

değişimin bazı antibiyotikler üzerinde antagonistik etkileri bulunmaktadır (Srey ve ark., 2013).

Biyofilm içinde mikroorganizmalar farklı morfolojik yapıya sahip kümeler şeklinde bulunmaktadır. Bu kümelerin daha çok mantar benzeri silindirik yapılardan filamentöze kadar değişen yapısal bir özellik taşıdığı gösterilmiştir. Mantar benzeri yapı optimal besin alımına ve atıklara minimal maruziyete izin vermektedir (Ghannoum ve O'Toole, 2004). Biyofilm kritik bir hacime ulaştığında en dış tabaka planktonik mikroorganizmaların oluşturulmaya başladığı dinamik bir dengeye ulaşır. Bu aşamadan sonra bakteriler biyofilmden ayrılmak üzere serbest kalırlar ve diğer yüzeylere kolonize olurlar (Srey ve ark., 2013). Biyofilm, *S. aureus*'ların antibiyotiğe karşı dirençli olmasını sağladığı ve konak tarafından fagositozuna engel olduğu için, *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırmaktadır. *S. aureus* türünde biyofilm tabakasının oluşumundan *icaADBC* lokusu ve bazı proteinler sorumlu tutulmaktadır. Bazı *S. aureus* enfeksiyonları, biyofilm ile ilişkilidir (Luong ve ark., 2009). *S. aureus* türü bakteriler ortam şartlarına oldukça dayanıklı ve çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Özellikle bu bakterilerin patojenite özellikleri, fagositoza karşı direnç sağlayan biyofilm tabakası ile kombine olduğunda virulansı oldukça yükselmektedir. Bu nedenle de öncelikli patojenler arasında yer almaktadır (Singhal ve ark., 2011).

S. aureus hastalık etkeni olan ve biyofilm yapımı gibi birçok önemli virülans faktörü oluşturan önemli bir mikroorganizmadır. Hastalarda kronik enfeksiyonların kalıcılığıyla ilgili olduğu düşünülen biyofilm üretimi, son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken bir konudur.

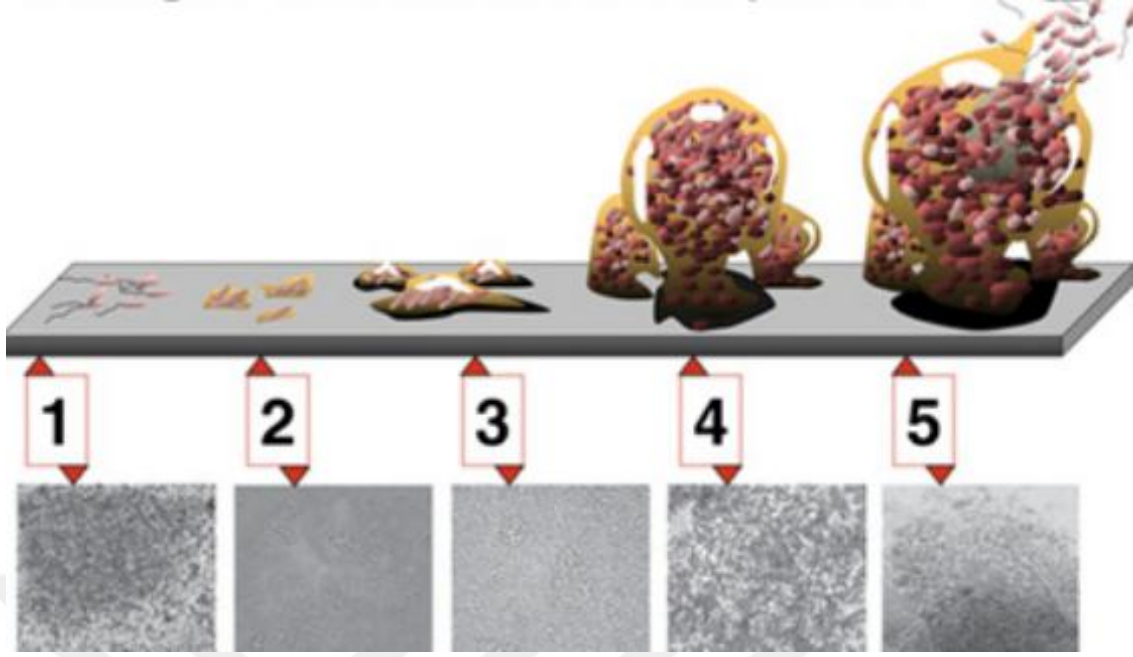
1.8.1. Biyofilm Oluşum Basamakları

Bakterilerde biyofilm gelişiminin başlaması besinlerin var olup olmaması gibi spesifik çevresel etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Bakteriler yüzeye tutunarak koloni oluştururlar ve ileri aşamada ekzopolisakkarit matriks içinde, mikroorganizma topluluğu şeklinde biyofilmler oluşmaktadır. Biyofilm, bakterinin tutunma yüzeyi, sonradan bakteri tutunmasını etkileyen organik ve inorganik maddelere bağlı olarak

içinde bakterilerin olduğu herhangi bir sulu yüzeyde oluşabilir (Kumar ve Anand, 1998).

Biyofilm tabakası çok farklı çevrelerde oluşabilir ve en basit biyofilm tabakası bile karmaşık bir dinamiğe sahiptir. Biyofilm gelişimi taze besiyeri sağlandıkça devam eder. Ancak, ortamdaki besin maddeleri tükenince yüzey bağlantıları zayıflar ve hücreler planktonik modlarına geri dönerler (Gün ve Ekinci, 2009). Bakteriler, farklı tipteki yüzeylere tutunabilirler. Bu nedenle de biyofilm oluşturma ve gelişimleri de bu yüzey koşullarına göre değişebilmektedir (Mafu ve ark., 1990). Biyofilm oluşumundaki çeşitliliğe bakterinin bulunduğu üretim şartlarındaki farklılıklar da katkıda bulunmaktadır. İn vitro ortam şartları (yüksek ozmolarite ve sıcaklık, glukoz ve etanol varlığı veya konsantrasyonu, pH ve H₂O₂ gibi birtakım faktörler), konak dokusundaki şartlardan çok farklı olması ve in vitro deneylerde besiyeri kompozisyonu biyofilm oluşumunu etkilediği bildirilmektedir (Singhal ve ark., 2011). Biyofilm oluşumu beş basamakta incelenebilir. Öncelikle hücreler yüzeye yakın mesafede etkileşerek yüzeye dönüşümlü olarak tutunurlar. Yüzeye dönüşümlü olarak tutunurken o yüzeyde yaşamalarını sağlayacak besin maddelerinin var olup olmadığını araştırırlar. Daha sonra yüzeyle kısa mesafeli etkileşimler olan dipol-dipol etkileşimi, hidrofobik etkileşimler, iyon-dipol etkileşimi, iyonik ve kovalent bağlar ve hidrojen etkileşimleri sayesinde hücre organelleri ile yüzeye dönüşümsüz olarak tutunurlar. Yüzeye tutunan bakteri gelişir, koloni oluşturur. Mikrokoloniler zamanla büyür ve yüksek yapılara dönüşürler.

Bu aşamada olgun biyofilm oluşmuştur. Biyofilm gelişiminin kopma veya ayrılma evresinde tek bir bakteri veya bakteri kümeleri biyofilm tabakasından koparak ortama yayılır (Stanley ve Lazazzera, 2004). Biyofilm oluşum aşamaları Şekil 3'de gösterilmiştir (Srey ve ark., 2013).



1. Dönüşümlü tutunma 2. Geri dönüşümsüz tutunma 3. Koloni gelişimi 4. Biyofilm olgunlaşması 5. Biyofilm hücrelerinin koparak ayrılması

Şekil 3. Biyofilm oluşum aşamaları

1. Dönüşümlü tutunma : Bakteri hücrelerinin yüzeye ilk tutunmasında bakteri hücresi yüzey ile tam olarak temas etmemekte, ancak bakteri hücresi ile yüzey arasında uzun mesafeli etkileşimler meydana gelmektedir. Bu aşamada bakterinin yüzeye tutunması bakteriyel hücre yüzeyinin, tekstür, yüzey yükü, hidrofobiklik, pH, sıcaklık ve besin maddelerinin varlığı gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Yüzeye tutunan hücreler çok az miktarda EPS'ye sahiptirler ve bağımsız hareket etme yeteneğindedirler. Yüzey özellikleri bakteriyel tutunmada önemli rol oynar. Bakteriler türüne göre farklı yüzeylere farklı miktarlarda bağlanabilirler. Hücreler bu aşamada, durulama gibi basit yıkama işlemleri ile kolayca yüzeyden uzaklaştırılabilirler (Kiersek-Pearson ve Karatan, 2005).

2. Dönüşümsüz tutunma: Dönüşümlü tutunmadan dönüşümsüz tutunmaya geçiş EPS varlığında bakterinin yapmış olduğu zayıf bağların kalıcıya dönüşmesidir. Dönüşümsüz tutunmayı yüzeyle kısa mesafeli etkileşimler sağlamaktadır. Bakteri hücreleri flagella (kamçı) ve pili (ince kıl) gibi organelleri ile ve EPS oluşturarak yüzeylere dönüşümsüz olarak bağlanırlar. Dönüşümsüz tutunma aşamasından sonra biyofilm hücrelerini yüzeyden uzaklaştırabilmek için güçlü mekanik kuvvet, enzim, dezenfektan, deterjan,

sanitizerler ve/veya yüksek ısı işleme ihtiyaç vardır. 1998 yılında Gerke ve ark.'ları yapmış oldukları çalışmada *Staphylococcus epidermis* bakterisinin hücre içi polisakkarit ürettiğini bu şekilde yüzeye tutunup mikrokoloni geliştirip olgun biyofilm oluşturduğunu saptamışlardır (Kierek-Pearson ve Karatan, 2005).

3. Koloni gelişimi: Mikrokoloni gelişimi bakteri hücrelerinin yüzeyde birikmesi, mikroorganizmaların gelişmesi ve EPS üretimi sonucunda gerçekleşir. EPS bakteri ve alt katmanı arasında bağ oluşumuna katkıda bulunur, koloniye her türlü çevresel strese karşı stabil hale getirir. Bu sistemde bakterilerin yüzeyde toplanma işlemi planktonik hücrelerin sinyal molekülleriyle etkileşip bir araya gelmesiyle gerçekleşir. Bu aşamada bir bakteri hücresi yüzeyde koloni oluşturduktan sonra (ilk koloni), aynı yüzeyde diğer bakteriler de koloni oluşturur (ikincil koloni). Biyofilm büyüdükçe, polimer matriksinde kapsül oluşturmuş mikroorganizmalarda da artış görülür (Kierek-Pearson ve Karatan, 2005).

4. Olgun biyofilm oluşumu: Bu aşamada biyofilm hücreleri besin maddelerinin etkisiyle apartman yada mantar şeklinde yapılara dönüşürler.

Çeşitli yüksekliklerde kuleler oluşturan mikrokolonilerin aralarında besinlerin ulaştırılması ve metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılması için dolaşım sistemi olarak görev yapan su kanalları bulunmaktadır.

Hücrelerin bu yapıya ulaşılabilmesi için yaklaşık 10 gün yada daha uzun bir süre gerekmektedir (Kierek-Pearson ve Karatan, 2005).

5. Biyofilm hücrelerinin koparak ayrılması: Biyofilm oluşumunda son aşama biyofilm hücrelerinin koparak ayrılmasıdır. Hücreler bu aşamada planktonik fazlarına geri dönerler. Artan akış kuvveti, iç enzimatik bozulma, EPS yada yüzey bağlayan proteinlerin açığa çıkması gibi hücre içinde görülen işlemler biyofilm hücrelerinin ayrılmasında önemli rol üstlenir. Ayrıca ortamda besin maddelerinin tükenmesi de hücrel ayrılmaların önemli bir nedeni olabilmektedir. Bu ayrılma işlemi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak tek bir hücrenin veya çoklu hücrelerin kopmasının bir sonucu da olabilir (Kierek-Pearson ve Karatan, 2005).

1.9. *ica* Operon

Biyofilm oluşumuna katılan en önemli maddeleri ve proteinleri, özellikle bir polisakkarit yapışkanını kodlayan genler, *ica* operonuna aittir. Bu operon *icaADBC* genlerini ve *ica* operonunun tersi yönde transkribe edilen düzenleyici *icaR* genini içerir (Aslan, 2005). *S. aureus*'ta kapsüler polisakkarit/adhezin (PS/A) ve *S. epidermidis*'te ise polisakkarit intersellüler adhezin (PIA) olarak adlandırılan ekstrasellüler polisakkarid üretimi *ica* (intercellular adhesin) lokusu tarafından regüle edilmektedir (O'Gara ve Humphreys, 2001). *S. aureus*'lar da bir operon olan, *icaADBC* gen kümesi bulunmaktadır. Poli-N-süksinil- β -1-6 glikozamin (PIA-PNSG) polisakkarit tutunma matriksinin üretiminden, *icaADBC* operonu sorumlu tutulmaktadır. *icaADBC* tarafından üretilen bu maktriğin ikinci aşamada hücrelerin birbirine yapışmasını sağlamakta etkili olduğu varsayılmaktadır.

Bu sebepten dolayı *icaADBC* gen kümesini barındıran *S. aureus* suşlarının, potansiyel biyofilm üreticisi olduğu düşünülmektedir (Singhal ve ark., 2011). *ica* genleri arasında *icaA* ve *icaD* *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarında biyofilm formasyonunda önemli rol almaktadır.

icaA geni UDP-N-asetilglukozamin'den N-asetilglukozamin oligomerlerinin sentezinden sorumlu olan N-asetilglukozamin transferaz enzimini kodlar. Yapılan çalışmalarda, *icaA* geni ile *icaD* geni arasında bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, *icaA* ve *icaD* genlerinin birlikte N-asetilglukozamini substrat olarak kullanarak şeker oligomerlerinin sentezine aracılık ettikleri gösterilmiştir. Ayrıca *icaA* geninin ekspresyonu düşük enzimatik aktiviteye sebep olurken, *icaA* geninin *icaD* geni ile birlikte ekspresyonu N-asetilglukozamin transferaz aktivitesinde önemli artışa ve fenotipik kapsüler polisakkarit ekspresyonuna neden olmaktadır. *icaC* geninin deasetilasyon yaparak zincirin uzamasına katkı sağladığı düşünülmektedir. *icaB*'nin ise tam olarak işlevi bilinmemektedir, ancak bu genin deasetilasyon aşamasında katalizatör olarak rol oynadığı vurgulamaktadır. Biyofilm oluşumundaki çeşitliliğe *ica* operonun regülasyonu ve biyofilm gelişiminde türler arasında önemli bir farklılığın olduğu vurgulanmaktadır (Singhal ve ark., 2011).

Biyofilm tabakasının oluşumunda bazı yüzey proteinlerinin önemli katkısı olduğu da bilinmektedir. *S. aureus* türünde çeşitli MSCRAMM'ler (microbial surface

component recognizing adhezive matrix molecules) ile diğer önemli yüzey bileşenleri (PIA ve *bap*) bir arada bulunmaktadır. *S. aureus* suşlarından izole edilen bir protein olan "biofilm associated protein" (*bap*), biyofilm oluşumu için gerekli yapılardan birisi olarak bildirilmiştir. *bap* bakteri yüzeyinde yerleşmiş, yüksek molekül ağırlıklı, ardı ardına yineleyen C-domainlerini içeren, bakterilere yüksek biyofilm oluşturma kapasitesi sağlayan ve enfeksiyon sürecinde önemli rol oynayan 2276 aminoasitlik bir proteindir. Yapılan çalışmalarla, abiyotik yüzeylere yapışma ve intersellüler adezyon basamaklarının her ikisinde de görev yaptığı gösterilmiştir. *bap* geni bulunduran *S. aureus* suşlarının diğer biyofilm pozitif suşlara göre daha güçlü biyofilm oluşturduğu ifade edilmektedir (Jessen ve Lammert, 2003). Kuvvetli biyofilm oluşumundan sorumlu tutulan *bap* genine, hayvanlardan izole edilen suşlarda çok ender rastlanılırken, insan kaynaklı izolatlarda henüz tespit edilememiştir. Vautor ve ark. *bap* geninin insan ve hayvan orijinli *S. aureus* izolatları arasında henüz yeteri kadar yaygın olmadığı için prevalansının düşük olduğunu öne sürmektedir (Wingender ve ark., 2012).

Staphylococcal accessory regulator (*sarA*)’de meydana gelen mutasyonlar *S. aureus* ve *S. epidermidis*’te biyofilm-negatif fenotip ile sonuçlanmaktadır.

sarA’ın staphylococcal accessory gene regulator (*agr*) sistemi de dahil 100’den fazla genin ekspresyonunu etkilediği düşünüldüğünde, antibakteriyel ajanlar için önemli bir hedef olabilir. Çünkü, *sarA*’ın aktivitesinin inhibisyonu eş zamanlı olarak ekstrasellüler toksin üretimi ve biyofilm formasyonunu kontrol etmektedir. Bununla birlikte, stafilokoklarda quorum sensing (QS) sistemini kodlayan *agr* lokusunun engellenmesi artmış biyofilm gelişimi ile ilişkilidir (Wingender ve ark., 2012). *agr* sisteminin aktivasyonu bu nedenle biyofilmden parçaların ayrılmasına ve sekonder enfeksiyon alanlarına metastatik yayılımına katkıda bulunabilir. Bu nedenle, *sarA* ailesinin kompleks yapısı ve *agr* sistemi ile interaksyonu terapötik uygulamalardan önce tam olarak aydınlatılmalıdır (Fitzpatrick ve ark., 2005).

1.10. Stafilokoklarda hücrelerarası iletişim (Quorum-Sensing) sistemi

Bir enfeksiyonun oluşumu için bakteriler patojenitelerini belirleyen virulans faktörlerinin ekspresyonunu iyi organize etmek zorundadırlar. Tür spesifik virulans faktörlerinin koordinasyonu patojenin yaşaması ve konağa invazyonu için oldukça

önemlidir. Bu nedenle patojenler, enfeksiyon sırasında değişen çevresel koşullara virulans genlerinin ekspresyonunu adapte etmek için kompleks regülatör sistemler geliştirmişlerdir. Türler arası veya türler içi iletişim olarak tanımlanan quorum-sensing (QS), virulans, intrasellüler üreme ve biyofilm formasyonu ile ilişkili biyolojik öneme sahip bir fenomendir. QS sistemlerinin sinyalleri auto inducer (AI) olarak adlandırılan küçük moleküllerdir. Düşük bakteri popülasyonunun mevcudiyetinde AI'ler düşük konsantrasyondadır. Hücreler belirli bir popülasyon yoğunluğuna ulaştığında transkripsiyonel regülatörün aktivasyonu sonucu AI'ler bir eşik konsantrasyon değerine kadar birikir. Bu transkripsiyonel faktör sırasıyla bir seri virulans faktörlerini de içeren değişik genlerin ekspresyonunu regüle eder (Jayaraman ve Wood, 2008). Gram pozitif bakterilerde yapısal olarak farklı peptid bazlı AI'lere sahip çok sayıda QS sistemi tanımlanmıştır. Bu AI'leri genellikle membranda lokalize olmuş bir proteine bağlanmak suretiyle etkinlik göstermektedir. Stafilokoklarda en önemli ve iyi karakterize edilmiş QS sistemi accessory gen regulator (*agr*) sistemidir.

agr sistemi *S. aureus*'un virulansı için önemlidir ve çok sayıda adhezin, enzim ve toksini kodlayan genler dahil 150 gen bu sistemin kontrolü altındadır.

agr sisteminin aktivasyonu virulans faktörlerinin aktivasyonu için kritik öneme sahiptir. *agr* sistemi farklı transkripsiyon mekanizmasına sahip RNAII ve RNAIII adlandırılan iki üniteden oluşmaktadır. Bu sistemin AI'sı 8 amino asit uzunluğunda bir peptiddir. Farklı stafilokok türlerindeki AI'ler farklı amino asit sekansına ve tipik halka yapısına sahiptir. Stafilokokkal AI'ler bir transmembran proteini olan ve iki komponentten oluşan regülatör sistem kinaz sensörü olarak hareket eden *agrC*'ye bağlanır. Bu bağlanma regülatör *agrA*'yı aktive eder ve sırasıyla RNAII ve RNAIII'ün transkripsiyonunu indükler. Stafilokoklarda bulunan diğer QS sistemi *luxS*'dir. *luxS* geni *S. aureus*'ta AI-2 üretimine neden olmaktadır. Bu genin izogenik mutanı *S. epidermidis*'te de gösterilmiş ve bu genin *S. epidermidis* için fonksiyonel olduğu, *agr* lokusuna benzer şekilde biyofilm oluşumu üzerine etki gösterdiği tespit edilmiştir. *luxS* mutant suşların daha kalın ve kompakt biyofilm oluşturduğu, deneme hayvanlarında ise venöz kateter uygulamasını takiben daha başarılı kolonize olduğu gösterilmiştir. Ancak, *agr* sisteminin etki mekanizmasının aksine *luxS* biyofilm formasyonunu *ica* gen lokusunun transkripsiyonel regülasyonu ile sağlamaktadır (Yarwood ve ark., 2004).

1.11. Hidrofobisite

Çeşitli yüzeylerin genişliğine göre bakterinin mikrobiyal yüzeyinin hidrofobisitesi yapışmada kritik rol oynar. Bakteriyel yapışma spesifik (ligand-reseptör gibi) ve non spesifik etkileşimleri (fiziko-kimyasal) kontrol eder. Hepsinin birbirini etkilemesinin temelinde fiziko-kimyasal maddeler ve hidrofobisite gibi bakteriyel yüzeylerin kuvvetleri rol oynar (Rodrigues ve ark., 2004). Polistiren yüzeyler de biyofilm oluşumu ayrıca yapışmanın önemli etkenidir. Hidrofobisite faktörleri, yüzey yükü, dış zar proteinleri ve materyal özellikleri bakteri hücrelerinin abiyotik yüzeylere bağlanmasında rol oynamaktadır (Ukuku ve Fett, 2002). Bakterinin hücre yüzey hidrofobisitesi spesifik olmayan önemli yapışma faktörüdür (Wilson ve ark., 1996).

Yüzey hidrofobikliği organizmadan organizmaya ve suştan suşa değişmektedir ve büyüme ortamı, bakteri yaşı ve bakteri yüzey yapılarından etkilenir (Vatsos ve ark., 2001).

Bakterilerin fimbriası, hücre yüzeyi hidrofobikliğine katkıda bulunur ve incelenen fimbriaların çoğunluğu, hücre yüzeyi özelliklerinde ve bağlanmada rol oynayan yüksek oranda hidrofobik amino asit kalıntıları içermektedir (Cloete ve ark., 2009). Hidrofobik yüzeylere tutunma ve bakteri hücre hidrofobisitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Gallardo-Moreno ve ark., 2002). Çevresel koşullardaki değişiklikler, EPS üretimi ve hücre hidrofobisitesindeki değişiklikler nedeniyle biyofilm oluşumu etkilenebilir. Stafilokokların konakçı hücrelere yapışma yeteneği, hidrofobiklik gibi bakteri yüzey özelliklerine bağlı olmaktadır (van Belkum ve ark., 2009). Polar özellik taşımayan moleküllerin sıvı ortamda kendiliğinden bir araya gelme eğilimi, hidrofobik etkileşim olarak isimlendirilmektedir. Bu etkileşimin arkasındaki itici güç, hidrofobik grupların etrafını çevreleyen su moleküllerinin yer değiştirmesinden kaynaklanan entropi artışıdır (Ay ve ark., 2010).

Hidrofobik etkileşimlerin biyolojik sistemlerdeki en büyük önemi, mikroorganizmaların yüzeylere tutunmasını ve burada çoğalıp enfeksiyonlara neden olmasını kolaylaştırmasıdır. Stafilokok enfeksiyonlarının patogeneğinde de, yabancı cisimlerin yüzeylerine yapışma ve bu yüzeylerde biyofilm oluşturma yetenekleri rol

oynamaktadır. Yüzeye bağlanmada mikroorganizma ile yüzey arasındaki hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağları etkilidir (Litzler ve ark., 2007).



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

DM, dünyada ve Türkiye’de hızlı artış gösteren bir hastalıktır. DA diyabetin en önemli ve ciddi komplikasyonlarından biri olduğu için diyabetik ayak enfeksiyonlarında mikrobiyal etkeni belirlemek ve uygun tedavi uygulamak çok önemlidir. DA enfeksiyonlarında en sık izole edilen gram pozitif aerob mikroorganizma *S. aureus*, β -hemolitik Streptokoklar ve Enterobacteriaceae’ye ait gram negatif türlerdir (Bezirgan, 2010).

Yapılan literatür taramasında, diyabetik hastalardan mikrobiyal profili tanımlamaya ve antibiyotik duyarlılıklarını belirlemeye yönelik olarak pek çok çalışma bulunmuştur. İzole edilen etkenlerin biyofilm oluşturmaları konusunda çok az çalışma var iken, hücre yüzey hidrofobisite özellikleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Hiil ve ark.’nın (1999) 150 diyabetik ayak yaralı hastayla yaptığı araştırmada %28 *S. aureus*, %20’ Streptokok ve %14 Pseudomonas izole edilmiştir. Çoğu kronik diyabetik ayak enfeksiyonlarında polimikrobiyal üreme, orta düzey enfeksiyonlarda ise sıklıkla monomikrobiyal üreme olduğu belirtilmiştir (Dhanasekaran ve ark., 2003). Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda diyabetik hastalarda etken mikroorganizma izolasyonu üzerinedir. Dinççağ ve ark. (1999), Ulusoy ve ark. (2000) , Bostanoğlu ve ark.’larının (2000) yaptıkları çalışmalarda yüksek riskli ve ciddi diyabetik ayak enfeksiyonu bulunan hastalarda sırası ile *S. aureus* (%26-50), *E. coli* (%13,6-39) ve *P. aeruginosa* (%6,8-12)’yı en sık etkenler olarak bildirmişlerdir. Ertuğrul (2003)’un 45 diyabetik hastayla yaptığı çalışmada % 78,5 MRSA *S. aureus* dominant etken olarak, % 1’de KNS izole edilmiştir. Türkiye’de, 1989-2011 yıllarını kapsayan 20 yıllık süreçte diyabetik ayak enfeksiyonlarının mikrobiyolojik profilini inceleyen bir derlemede 31 makale irdelenmiştir. Son 5 yıldaki verilerin tüm çalışma dönemindekilerle kıyaslandığı çalışmada, *S. aureus* izolasyon oranı tüm çalışma periyodunda %23,8 iken son beş yılda azalarak %19,1 olarak bulunmuştur. Karşılaştırılan periyodlar arasında Gram pozitif aerob ve Gram negatif patojenlerin dağılımında bir değişiklik görülmemiştir (Hatipoğlu ve ark., 2014).

Diyabetik ayak yarası travmatik olmayan ayak amputasyonlarının en önemli nedenidir. Bundan dolayı etken patojenleri bilmek ve onların antimikrobiyal duyarlılıklarını belirlemek son derece önem teşkil etmektedir. Kronikleşen diyabetik ayak yaraları, dirençli mikroorganizma (MRSA veya Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE) ve/veya enfeksiyonuna neden olur. 1996 yılında vankomisine duyarlılığı düşük *S. aureus*'un ilk klinik izolasyonu Japonya'dan bildirilmiştir (Hiramatsu ve ark., 1997). Bazı ülkelerde diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarla yapılan çalışmalarda, vankomisine orta düzeyde dirençli *S. aureus* suşları izole edildiği bildirilmiştir (Bezirgan, 2010). A.B.D'de Haziran 2002'den itibaren, vankomisine dirençli *S. aureus*'un (VRSA) neden olduğu klinik enfeksiyonlar bildirilmeye başlanmıştır (CDC, 2002). Michigan'da da 2 ek VRSA vakası daha bildirilmiştir (Finks ve ark., 2007). Bugüne kadar tüm VRSA suşları metisiline dirençli *S. aureus*'dan (MRSA) kaynaklanmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tespit edilen on dördüncü VRSA diyabetik ayak yarası izolatu (VRSA), Şubat 2015'te CDC'ye (Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri) bildirilmiştir (CDC, 2015).

Yunanistan'da 2006 yılında yapılan, enfekte ve enfekte olmamış diyabetik ayak ülserlerinde MRSA prevalansının araştırıldığı bir çalışmada en sık izole edilen Gram-pozitif bakteri *S. aureus* olup, yaklaşık %50'sinin metisiline dirençli olduğu saptanmıştır (Tentolouris ve ark., 2006). Saltoğlu ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışmada *S. aureus* suşlarında metisilin direnci %60 olarak bulunmuştur. Derin doku ve apse kültürü yapılabilen 18 olgudan beşinde (%28) ve gram pozitif etkenler arasında MRSA, *Enterobacter cloacae* ve *Enterococcus spp.* ürediği bildirilmiştir (Karaahmetoğlu, 2015; Şenoğlu ve ark., 2017).

Bezirgan'ın (2010) yaptığı çalışmada ise, diyabetik ayak enfeksiyonu bulunan hastalardan izole ettiği 25 stafilokok suşunun hepsi vankomisine duyarlı, penisilin G'ye dirençli iken, Oksasiline %44, Trimetoprim/sulfametoksazol %24, Rifampisin %32, Tetrasiklin %40, Eritromisin %48, Siprofloksasin %52, Klindamisin %44, Ampisilin/sulbaktam %60, Levofloksasin %36, Moksifloksasin %28 dirençli bulunmuştur. Gram pozitif aeroblara karşı en çok etkili olan antibiyotikler vankomisin % 100, teikoplanin % 100, linezolid % 100 ve Fusidik asit % 92,3 olarak belirlenmiştir (Hatipoğlu ve ark., 2014).

S. aureus'un biyofilm oluşturması önemli bir virölans özelliktir. Biyofilm oluşumu, *S. aureus*'ların antibiyotiğe karşı dirençli olmasını sağladığı ve konak tarafından fagositozuna engel olduğu için, tedaviyi zorlaştırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, DAÜ'i olan 50 hastadan 75 stafilokok suşu (55 *S. aureus*, 20 *S. epidermidis*) izole edilmiş ve *S. aureus* suşlarının CRA yöntemiyle (% 69) *slime* ürettiği bildirilmiştir (Podbielska ve ark., 2010). Abbas ve ark.'ları (2014) izole ettikleri *S. aureus* suşlarının %50'sinin güçlü biyofilm üreticisi olduklarını göstermişlerdir. Benzer şekilde, 53 diyabetik ayak ülserli hastadan elde edilen *S. aureus* izolatlarında biyofilm üretimiyle birlikte ilişkili genlerde (*icaA*, *icaD*, *atl* ve *pls*) pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Mottola ve ark., 2016). Biyofilm oluşumuyla ilişkili kronik bir diyabetik ayak enfeksiyonunun tedavi sürecindeki zorluğunu gösteren bir çalışmada da, biyofilm oluşturan bakterilerin oluşturmayanlara göre çok sayıda antibiyotiğe ve dezenfektan konsantrasyonlarına direnç gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, biyofilm üretimi en yüksek olan tür *S. aureus* olup, MRSA izolatlarının tümü de % 100 (n:10) biyofilm üreticisidir. Ayrıca, 80 izolatın (% 97,6) çoklu ilaç direncine sahip olduğu ve bu izolatlarında aktif biyofilm üreticisi oldukları belirtilmiştir (Shashikala ve ark., 2016).

Stafilokokların canlı veya cansız yüzeylere bağlanmalarında hidrofobik yüzey etkileşimleri de oldukça önemlidir. *S. aureus* suşları tarafından biyofilm oluşumunda hidrofobisitenin önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir (Pagedar ve ark., 2010). Hidrofobisite bakterilerin biyofilmleri oluşturabilme yeteneğini belirlemede önemli bir rol oynar (Shashikala ve ark., 2016). Bazı mikroorganizmalarda hidrofobik etki ile enfeksiyon arasındaki ilişki gösterilmiş; bazı *S. aureus* suşlarının da üretildikleri besiyerine hidrofobik özellikte maddeler salgıladığı bildirilmiştir (Hall-Stoodley ve Stoodley, 2005). Bazı çalışmalarda, biyofilm oluşturan *S.aureus* suşlarının, oluşturmayan suşlara göre daha hidrofobik olduğu bildirilmektedir (Catalanotti ve ark., 2005; Ay ve ark., 2010).

Ay ve ark. (2010) çalışmalarında, ayrıca saf kültürden hazırlanan *S. aureus* suşlarının içinde farklı hidrofobik bağlanma kuvvetine sahip heterojen fraksiyonlar bulunabileceğini ve bu heterojen fraksiyonlar arasında hidrofobik yüzey proteinlerinin salgılanma derecelerinin farklı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Genellikle hidrofobik etkileşimlerde önemli rol oynayan olayın biyoyapışma olduğu kabul edilmektedir.

Tunus'ta yapılan bir araştırmada, çocukların ağız boşluklarından 22 *S. aureus* suşu izole edilmiş ve 3'ünün nispeten hidrofobik olduğu, bunun da hidrofobik cansız yüzey ve hidrofobik hücreler arasındaki kuvvetli hidrofobik etkileşiminin bir sonucu olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada ek olarak, polistiren plakalarda yarı kantitatif biyofilm oluşumuyla hidrofobisite arasında bir korelasyonda ($P < 0.001$) gösterilmiştir (Kouidhi ve ark., 2010). Hidrofobiklik ve biyofilm üretimi patojen mikroorganizmaların hayatta kalmasında ve adezyon (yapışma) işleminde önemli faktörlerdir. Yüzey hidrofobikliği, genellikle bakteriyel adhezyona bağılı olan ve suştan suşa ve organizmadan organizmaya değişmektedir. Bununla birlikte, biyofilm oluşumu ve hücre hidrofobisitesinin çoğu patojenler için yüksek oranda korelasyonu olduğunu gösteren çalışmalarda vardır (Rad ve ark., 1998; Choi ve ark., 2015). Hidrofobisitenin belirlenmesi için, ksilen kullanılarak hidrokarbona tutunma testi uygulanan patojen gruptaki bazı mikroorganizmalarda (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus pyrogenes*, *S. aureus*) adezyon özelliğı arasındaki pozitif korelasyon gösterilmiştir (Rad ve ark., 1998). Polonya'da yapılan bir çalışmada ise, sağlıklı insanların deri florasından ve nazofarinksinden stafilokoklar izole edilmiş, izolatların çoğunluğunun hidrofilik hücre yüzeyine sahip olduğu ve biyofilm üretimiyle hücre yüzeyi arasında zayıf bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Malm ve ark., 2005).

Yapılan literatür çalışmalarında, diyabetik ayak yaralarından izole edilen *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşumlarıyla birlikte hidrofobisite özelliklerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örnek Alınması ve Hazırlanması

Çalışmaya, Hatay ili İskenderun Devlet hastanesinin yara ve yanık bakım ünitesine Temmuz 2015- Nisan 2016 yılları arasında başvuran, diyabetik ayak yarası bulunan ve Wagner sınıflandırmasına göre değerlendirilen gönüllü 100 hasta dahil edildi. Hastaların açlık kan şekeri (AKŞ) ve HbA1c değerleri de dikkate alındı. Hastalardan eş zamanlı olarak yüzeysel sürüntü ve derin doku kültürü yöntemi ile örnek alındı. Steril serum fizyolojikle temizlenen yara bölgesindeki ölü dokular debride edilerek uzaklaştırıldı. Yüzeysel sürüntü kültürleri Stuart taşıyıcı besiyeri içeren eküvyonlarla, derin doku kültürü örnekleri ise yara tabanındaki canlı ve cansız doku birleşim kısmından punch biyopsi aletiyle yaklaşık 5-6 mm boyutunda doku örneği alınarak yapıldı. Soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler uygun besiyerine ekilerek aerobik şartlarda 24 saat inkübe edildi. Kültür alma koşullarının uygun olmaması ve çalışılan laboratuvara geç getirilmesi nedeniyle örneklerin anaerobik kültürleri yapılmamıştır. Çalışma için gerekli izinler Hatay İli Kamu Hastaneleri Birliği ve etik onayı Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Etik Kurul Komitesinden alınmıştır (Etik Kurul No: 23.03.2016/49).

3.2. Yöntem

3.2.1. Stafilocokların İzolasyonu ve İdentifikasyonu

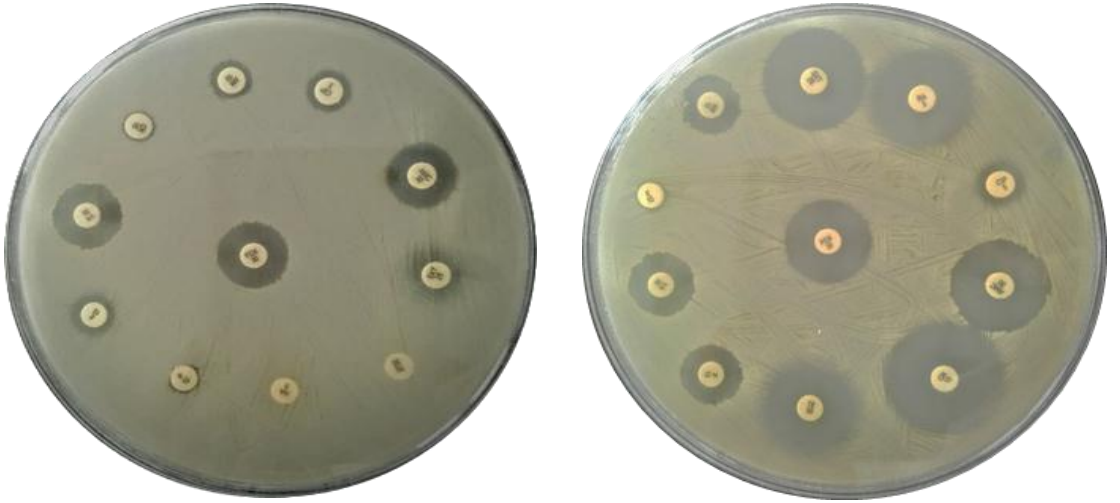
Eş zamanlı alınan örnekler Nutrient Broth besiyerine aktararak 24 saat 37°C’de bekletildikten sonra, Stafilocok izolasyonu için Mannitol Salt Agara (MSA) tek koloni ekimi yapılarak 37°C’de 48 saat inkübe edildi. Üreme görülen besiyerlerindeki şüpheli kolonilere ilk olarak Gram boyama yapılarak, konvansiyonel olarak biyokimyasal testler (katalaz, oksidaz, koagülaz, hemoliz, oksidasyon-fermantasyon testi) uygulandı.

Katalaz pozitif, kanlı agarda hemoliz yapan, oksidaz negatif, fermentatif reaksiyon gösteren ve Gram boyama sonucunda mavi-mor boyanan tipik üzüm salkımı şeklindeki koklar *Staphylococcus* spp. olarak izole edildi.

Tüpte koagülaz testi pozitif olan izolatlar *S. aureus* olarak, negatif olanlar Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) olarak değerlendirildi. Konvansiyonel olarak değerlendirilen izolatların tanımlanmaları, VITEK 2 (bioMerieux) ve MALDI-TOF MS (Matriks Aracılı Lazer Dezorbsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi) otomatize sistemleri kullanılarak da konfirme edildi.

3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Agar disk difüzyon testi, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından belirtilen kriterlere göre yapıldı (CLSI, 2012). Bakteri suşları steril serum fizyolojik ile Mac Farland 0.5 yoğunluğunda süspanse edildi. Bakteri süspanسیونundan eküvyon yardımıyla Mueller-Hinton Agara ekim yapılarak antibiyotik diskleri (Bioanalyse) steril bir şekilde yerleştirilerek 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı (Şekil 4).



Şekil 4. Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi

Kullanılan antibiyotik diskleri Bioanalyse firmasından temin edilmiştir: oksasilin (1 µg), sefoksitin (30 µg), ampisillin (10 µg), rifampisin (5 µg), eritromisin (15µg),

tetrasiklin (30 µg), penisilin G (10 µg), gentamisin (10 µg), amoksisilin /Klavulanik asit (30 µg), siprofloksasin (5 µg), vankomisin (30µg) ve sulfametoksazol/trimetoprim (1.25/23.75 µg).

Antibiyotik disklerin çevresindeki inhibisyon zonları milimetrik cetvel yardımıyla ölçülerek Çizelge 3’de verilen değerlerle karşılaştırılarak incelendi. Çalışmalarda, *S. aureus* ATCC 25923 referans suş olarak kullanıldı.

Çizelge 3. Stafilokok türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve zon çapları (mm) (CLSI, 2012).

Antibiyotikler	Antibiyotik konsantrasyonu (µg)	Zon çapı (mm)		
		Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Oksasilin (OXA)	1 µg	≥ 13	11-12	≤ 10
Sefoksitin (FOX)	30 µg	≥ 22	-	≤ 21
Ampisilin (AM)	10 µg	≥ 29	-	≤ 28
Rifampisin (RA)	5 µg	≥ 20	17-19	≤ 16
Eritromisin (E)	15µg	≥ 23	14-22	≤ 13
Tetrasiklin (TE)	30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Penisilin G (P)	10 µg	≥ 29	-	≤ 28
Gentamisin (CN)	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12
Amoksisilin /Klavulanik asit (AMC)	30 µg	≥ 20	-	≤ 19
Siprofloksasin (CIP)	5 µg	≥ 21	16-20	≤ 15
Vankomisin (VA)	30 µg	≥ 15	-	< 15
Sulfametoksazol/Trimetoprim (SXT)	25 µg	≥ 16	11-15	≤10

3.2.3. Metisilin Direncinin Belirlenmesi

Bütün *Staphylococcus* spp. izolatlarının fenotipik metisilin direncinin belirlenmesinde, %4 NaCl ilave edilmiş Mueller-Hinton agar (Bioanalyse), oksasilin (1 µg) ve sefoksitin (30 µg) diskleri kullanılarak benzer şekilde agar diffüzyon yöntemi

uygulandı. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonları ölçüldü. Oksasilin diski için ≤ 10 mm duyarlılık zonu oluşması *Staphylococcus spp.* için metisilin direnci olarak kabul edildi (Şekil 5). *S. aureus* için ≤ 21 mm ve KNS için ≤ 24 mm zon çapı gösteren izolatlar, sefoksitin antibiyotiği için metisiline dirençli olarak kabul edildi. (CLSI, 2012; Çalışkan, 2013).



Şekil 5. Metisilin direncinin belirlenmesi

3.2.4. Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi

S. aureus izolatlarının biyofilm üretimlerini belirlemede üç farklı yöntem kullanıldı.

3.2.4.1. Congo Red Agar (CRA) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi

Freeman ve ark. (1989)'nın tanımladığı CRA yöntemi kullanılarak biyofilm üretimi belirlendi.

Bakteri suşları Tryptic Soy Broth'a (TSB) ekim yapılarak 37°C'de 24 saat aktifleştirildi. İnkübasyon sonrası suşlar CRA'a ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 6). İnkübasyon sonrasında kuru kristalize siyah koloniler oluşturan suşlar

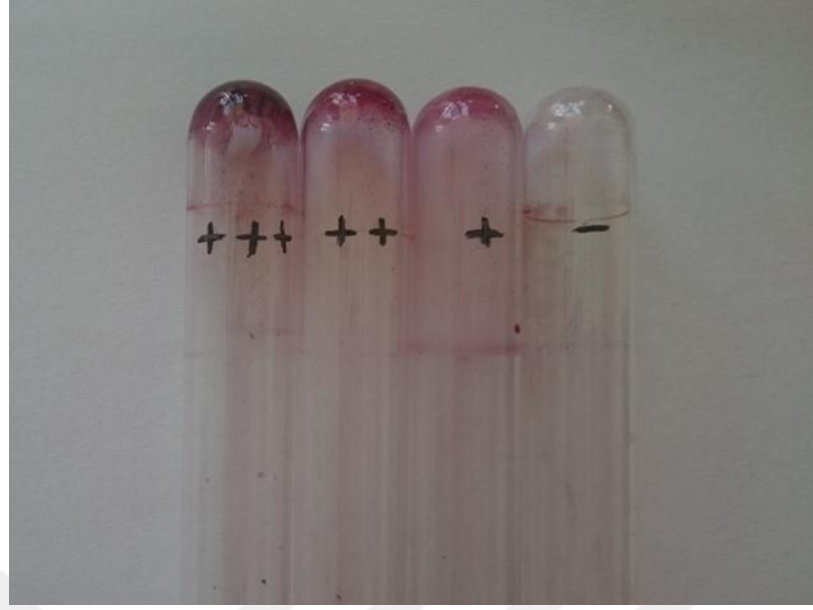
biyofilm pozitif, kırmızı veya pembe renkli koloni oluşturan suşlar ise *slime* negatif olarak değerlendirildi (Tel ve ark., 2012).



Şekil 6. Biyofilm üretiminin Congo Red Agar yöntemi ile değerlendirilmesi

3.2.4.2. Standart Tüp (ST) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi

Standart Tüp yöntemi Christensen ve ark. (1985) tarafından bildirilen yöntemle göre yapıldı. Aktif Stafilokok suşlarının kanlı agar'da üreyen saf kültüründen tek koloni alınarak içinde 5 ml % 0.25 glikoz içeren TSB besiyerine inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüp içerikleri boşaltılarak içerisine %1'lik safranin solüsyonu her bir tüpte 2 ml olacak şekilde eklendi. Ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. Bekleme sonrası boya dökülerek tüpler 1 ml'lik steril fosfat tamponu (PBS) ile iki defa yıkandı ve ters çevrilerek kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu (Şekil 7). Kuruma işlemi bittikten sonra tüpün iç yüzeyinde renkli film tabakasının oluşumu ve yoğunluğuna göre; Kuvvetli pozitif (+++), Pozitif (++), Pozitif (+), Negatif (-) olarak değerlendirildi (Demir, 2008).



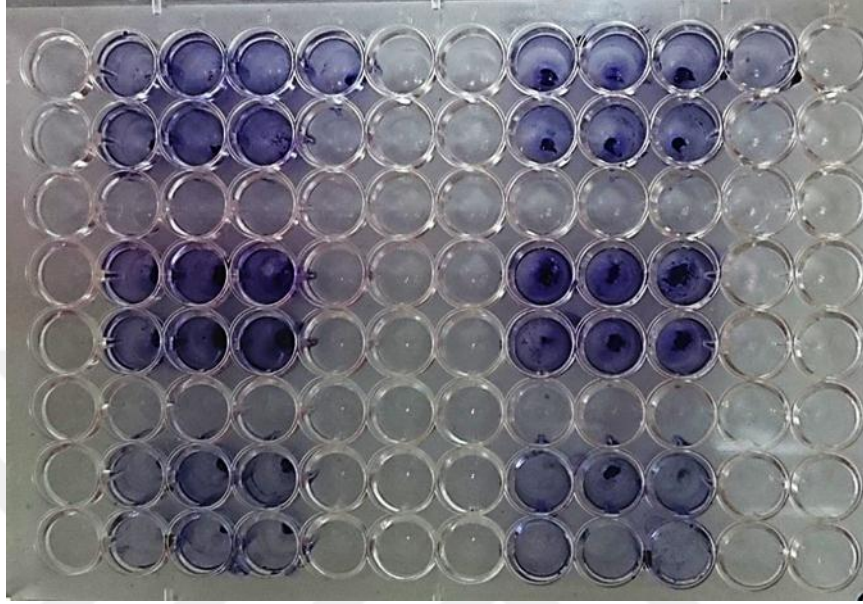
**Kuvvetli pozitif (+++), Pozitif (++), Pozitif (+), Negatif (-)*

Şekil 7. Biyofilm üretiminin standart tüp yöntemi ile değerlendirilmesi

3.2.4.3. Mikropleyt (MP) Yöntemi İle Biyofilm Üretiminin Belirlenmesi

Stafilokok suşlarının kantitatif olarak biyofilm üretimlerinin belirlenmesi Christensen ve ark. (1985) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntem ile yapıldı. TSB'da 37°C'de 18-24 saat inkübe edilen stafilokok suşları daha sonra %2 oranında glikoz içeren TSB ile 1/100 oranında sulandırıldıktan sonra steril düz tabanlı mikropleytin her bir gözüne 200µl dağıtıldı ve her suş için bir kuyucuk negatif kontrol olarak belirlenerek 200µl steril TSB koyuldu. Daha sonra 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası mikrolakadaki her bir kuyucuk boşaltıldı. Daha sonra her bir kuyucuk 200µl steril PBS ile 3 kez yıkandı. Mikrolakalar kuruması için ters çevrildi. Kuruma işlemi bittikten sonra mikrolakadaki kuyucuklara %2'lik Hucker crystal violete boyası 200 µl ilave edilerek oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edilerek boyandı. Daha sonra kuyucuklar 3 kez distile su ile yıkandı ve mikropleyt kurutma kağıdı üzerinde ters çevrilerek oda sıcaklığında bekletilerek kuruması sağlandı (Şekil 8). Mikropleytler kurutulduktan sonra 570 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda (Thermo Scientific-Multiskan FC) optik dansiteleri (O.D) belirlendi. Her suş için üç tekrarlı okunan optik dansite değerlerinin aritmetik ortalaması alındı. Negatif kontrol olarak steril TSB kullanıldı.

O.D değeri 0.240'tan büyük olan suşlar kuvvetli aderan, 0.120-0.240 olan suşlar aderan, 0.120 ve altında olan suşlar ise aderans negatif olarak değerlendirildi (Türkyılmaz ve Eskiizmirli, 2006).



Şekil 8. Biyofilm üretiminin mikrolept yöntemi ile değerlendirilmesi

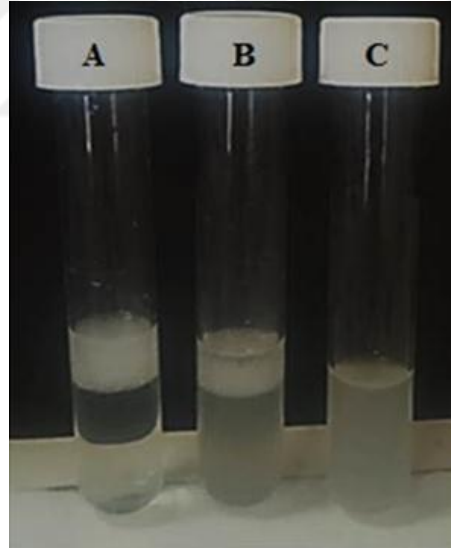
3.2.5. Biyofilm Oluşumunun Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) İle Analizi

SEM'in büyütme ve yüksek çözünürlükte yüzey topoğrafyası ile dıştan bir görüntü sağlama yeteneğinden dolayı biyofilmleri belirlemek için iyi bir yöntemdir (Yılmaz ve Güvensen, 2016). Güçlü biyofilm üreticisi olarak belirlenen bir *S. aureus* izolatı Taramalı Elektron Mikroskopunda incelenerek, 24 saat sonunda oluşturduğu biyofilm yapısı görüntülenmiştir. Elektron mikroskop analizi hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir (Muğla Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Merkezi).

3.2.6. Hidrofobisite Testi

S. aureus izolatlarının hücre yüzey hidrofobisite değerleri yarı-kantitatif olarak, 'bacterial adhesion to hydrocarbon (BATH)' testi kullanılarak belirlendi (Sweet ve ark., 1987).

Bu yöntemle, hücre tutunması ile pozitif ilişkisi olan hidrofobisite özelliği belirlendi. Bakteri suşları TSB besiyerine inoküle edilerek 37°C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüpler 6000 rpm 10 dakika santrifüj edildi. Tüpler iki kez sıvı kısımları dökülerek üzerlerine 4 ml steril PBS eklenip homojen olana kadar vortekslendi. Tekrar 6000 rpm 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra tüplerin içerikleri boşaltılarak besiyerinden arındırıldı. Üç tüpe 1ml p-ksilen (polar olmayan nötral çözücü), 4 ml steril PBS koyulup, tüpler 20-30 saniye vortekslendi (Ab). Bir tüp ise hidrokarbonsuz (ksilensiz) kontrol tüpü olarak ayrıldı (Ac). Tüpler 37°C’de 30 dakika bekletildi (Şekil 9). İşlem sonrası 2 ml sulu alt fazlar temiz deney tüplerine aktarılarak, kalan hidrokarbon hava yardımıyla dikkatlice uzaklaştırıldı. Spektrofotometrede (Shimadzu UV-VIS) 600 nm dalga boyunda okuma yapıldı. *S. aureus* izolatlarının hidrokarbona tutunma yüzdesi $(Ac-Ab)/Ac \times 100$ formülü kullanılarak hesaplandı (Li ve McLandsborough, 1999). İzolatlar güçlü hidrofobik, orta düzey hidrofobik ve hidrofilik olmak üzere üç kategoride değerlendirildi (Di Ciccio ve ark., 2015).



A-Güçlü Hidrofobik, B-Orta Hidrofobik, C-Kontrol

Şekil 9. Hidrofobisite testi ile değerlendirme sonucu

3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada elde edilen değerlerin istatistiksel analizlerinde SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanıldı. Çalışmada bulunan $P < 0,05$ olasılık değerleri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

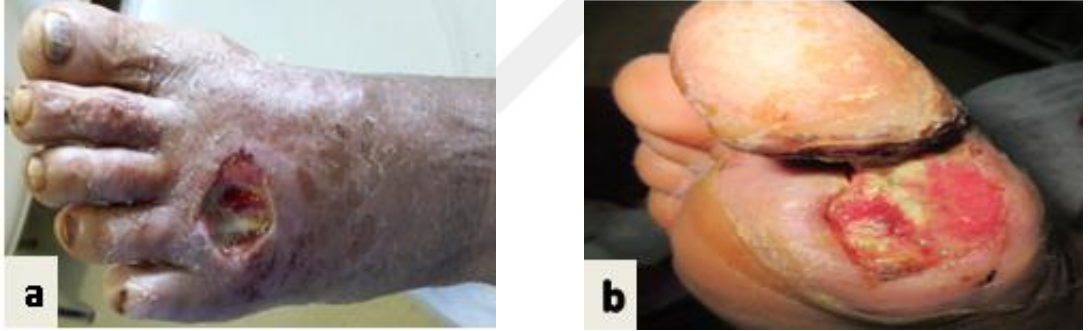


4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Stafilokokların İzolasyonu ve İdentifikasyon Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen tip 2 diyabetli 100 hastanın %66'sı erkek, %34'ü kadındı. Hastaların hastaneye başvuru esnasında diyabetik ayak enfeksiyonları Wagner sınıflamasına göre klinisyen tarafından evre 3 olarak değerlendirildi (Şekil 10). Kadın hastaların yaş ortalaması 54,9 ve erkek hastaların ise 57,8 yıl idi. Hastaların hepsinin insülin tedavisi aldığı ve açlık kan şekeri (AKŞ) ile HbA1c değer ortalamalarının sırasıyla 216 mg/dl ve %10,4 olduğu belirlendi.

Konvansiyonel ve otomatize sistemler kullanılarak 100 hastadan toplam olarak 85 Stafilokok izole edildi. 85 izolatin %63,5'i (n:54) *S. aureus* ve %36,5'i (n:31) KNS olarak tanımlandı. Bundan sonraki deneysel çalışmalar *S. aureus* izolatlarıyla yapıldı.



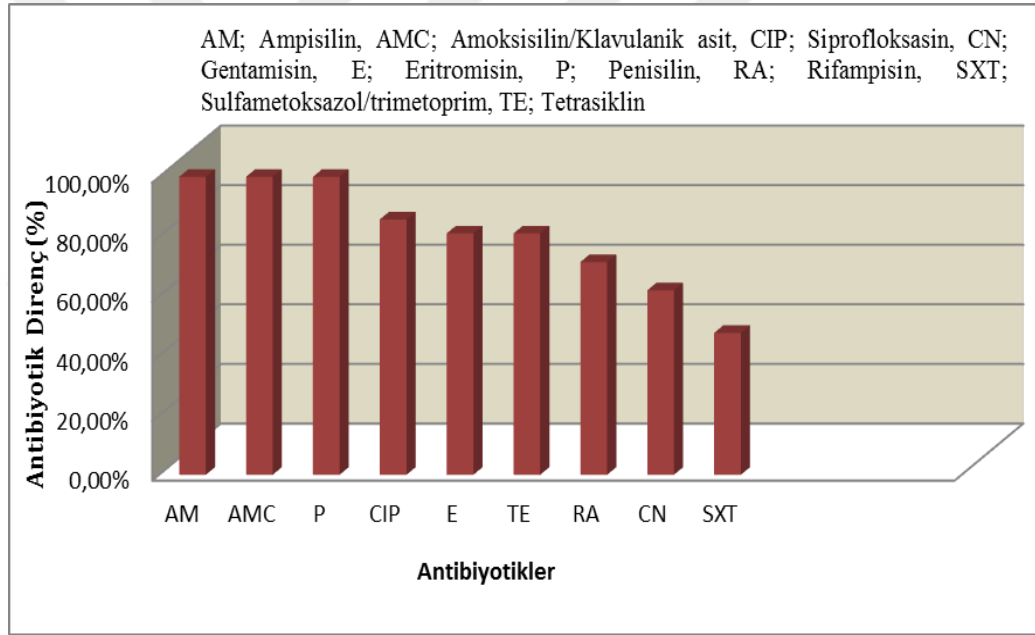
Şekil 10. Wagner evre 3 diyabetik ayak yarası bulunan hastaların resmi (a) Kadın hastaya ait diyabetik ayak, (b) Erkek hastaya ait diyabetik ayak

4.2. Antibiyotik Duyarlılığı

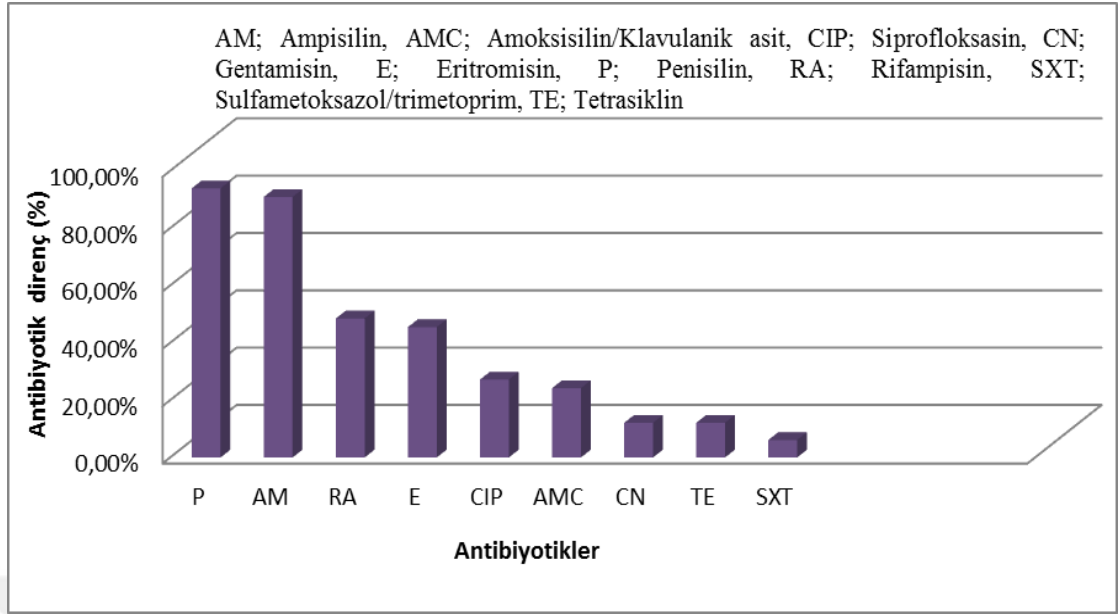
İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi için CLSI'nın (2012) stafilokoklar için belirlediği klinik sınır değerleri kullanıldı. 54 *S. aureus* izolatu fenotipik olarak %38,8 (n:21) metisiline dirençli (MRSA) bulundu. MRSA izolatlarının oksasilin ve sefoksitin dışındaki diğer 10 antimikrobiyale karşı olan duyarlılıkları Şekil 11'de gösterilmiştir.

MRSA izolatlarının antimikrobiyallere direnç oranları; penisilin G'ye %100 (n:21), ampisilline %100 (n:21), amoksisilin/klavulanik asite %100 (n:21), siprofloksasine %85,7 (n:18), tetrasikline %81 (n:17), eritromisine %81 (n:17), rifampisine %71,4 (n:15), gentamisine %61,9 (n:13), sulfametoksazol/trimetoprim %47,6 (n:10) ve vankomisine duyarlı olarak bulunmuştur.

Metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) (n:33) izolatların antimikrobiyallere direnç oranları ise; penisilin G'ye %93,9 (n:31), ampisilline %90,9 (n:30), rifampisine %48,5 (n:16), eritromisine %45,5 (n:15), siprofloksasine %27,2 (n:9), amoksisilin/klavulanik asite %24,2 (n:8), tetrasikline %12,1 (n:4), gentamisine %12,1 (n:4), sulfametoksazol/trimetoprim %6,1 (n:2) ve tümü vankomisine duyarlı olarak bulunmuştur (Şekil 12).



Şekil 11. MRSA (Metisiline Dirençli *S. aureus*) izolatlarının antibiyotik direnç profilleri



Şekil 12. Metisilin Duyarlı *S. aureus* (MSSA) izolatlarının antibiyotik direnç profilleri

Çalışmamızda çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) fenotipleri de gözlenmiştir. İzolatların farklı sınıftan antimikrobiyallere karşı olan çoklu antibiyotik direnç profilleri Çizelge 4’de ayrıntılı verilmiştir. En fazla MAR fenotipleri OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-CIP-SXT % 11,1 olarak bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarının tüm MAR fenotiplerinde farklı sınıflarda bulunan tüm antimikrobiyallere karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların %14,6’sı üç antibiyotiğe karşı, %22,2’si dört antibiyotiğe karşı, %11,1’i beş antibiyotiğe karşı, %3,6’sı altı antibiyotiğe karşı, %3,6’sı yedi antibiyotiğe karşı, %12,9’u dokuz antibiyotiğe karşı, %24,1’i on antibiyotiğe karşı ve %11,1’i onbir antibiyotiğe karşı dirençlidir (Çizelge 4).

Çizelge 4. *S. aureus* izolatlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri

FENOTİP	<i>S. aureus</i> (n=54)
	Sayısı(%)
OXA-AM –P	1 (%1,8)
OXA-RA-E	2 (%3,7)
FOX-E-P	1(%1,8)
AM-P-CIP	3 (%5,5)
AM-E-P	1 (%1,8)
OXA-AM-RA-P	4 (%7,4)
OXA-AM –E-P	1(%1,8)
OXA-AM –P-AMC	2(%3,7)
AM-RA-E-P	1(%1,8)
AM-RA-P-CIP	2(%3,7)
AM-P-AMC-CIP	1(%1,8)
AM -E-P-AMC	1(%1,8)
OXA-AM-RA-P-CN	1(%1,8)
OXA-AM-RA-E-P	2(%3,7)
OXA-FOX-AM-P-AMC	2(%3,7)
FOX-AM-E-P-CIP	1(%1,8)
OXA-FOX-AM-E-P-AMC	1(%1,8)
OXA-AM-RA-E-P-AMC	1(%1,8)
OXA-AM-RA-TE-E-P-CIP	1(%1,8)
OXA-FOX-AM –TE-P-AMC-CIP	1(%1,8)
OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-AMC-CIP	3(%5,5)
OXA-FOX-AM –TE-E-P-CN-AMC-CIP	1(%1,8)
FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-CIP	1(%1,8)
FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-SXT	2(%3,7)
OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-CIP	3(%5,5)
OXA-FOX-AM-RA-TE-P-CN-AMC-CIP-SXT	1(%1,8)
OXA-FOX-AM –TE-E-P- CN-AMC-CIP-SXT	1(%1,8)
OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-AMC-CIP-SXT	1(%1,8)
OXA-FOX-AM-RA-E-P-CN-AMC- CIP-SXT	1(%1,8)
OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-CIP-SXT	6 (%11,1)

*AM; Ampisilin, AMC; Amoksisilin /Klavulanik asit, CIP; Siprofloksasin, CN; Gentamisin, E; Eritromisin, FOX; Sefoksitin, OXA; Oksasilin, P; Penisilin, RA; Rifampisin, SXT; Sulfametoksazol/trimetoprim, TE; Tetrasiklin, VA; vankomisin

4.3. Biyofilm Üretiminin Fenotipik Olarak Belirlenmesi

İzolatların biyofilm üretme yetenekleri kalitatif CRA ve ST yöntemiyle, kantitatif olarak ise, MP yöntemi ile araştırıldı. *S. aureus* izolatlarının MP, CRA ve ST yöntemleri ile biyofilm üretim kapasiteleri Çizelge 5’de gösterilmiştir. İncelenen *S. aureus* izolatlarının tamamı CRA ve MP yöntemlerine göre biyofilm üretimi yönünden pozitif bulunurken, ST yöntemine göre ise izolatların %96,3’ü (n:52) biyofilm üretimi yönünden pozitif bulunmuştur.

Çizelge 5. *S. aureus* suşlarının farklı yöntemlerle belirlenen biyofilm üretimi

Test	<i>S. aureus</i> (n=54)			
	Biyofilm Pozitif		Biyofilm Negatif	
	n	%	n	%
MP	54	100	0	0
CRA	54	100	0	0
ST	52	96,3	2	3,7

n: Sayı, MP: Mikropleyt, CRA: Congo Red Agar, ST: Standart Tüp

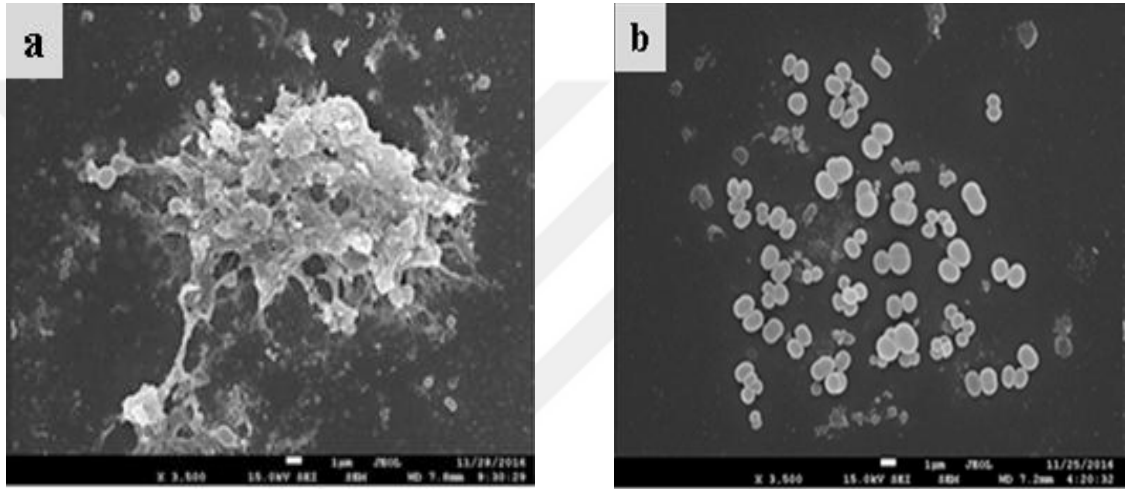
Mikropleyt yöntemine (MP) göre *S. aureus* suşlarının 15’inde (%27,8) orta derecede aderans ve 39’unda (%72,2) kuvvetli aderans bulundu (Çizelge 6).

Çizelge 6. Mikropleyt yönteminde belirlenen optik dansitelerine göre aderans değerleri

	Orta Derecede Aderans		Kuvvetli Aderans	
	n	%	n	%
<i>S. aureus</i> (n:54)	15	27,8	39	72,2

4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle Analizi

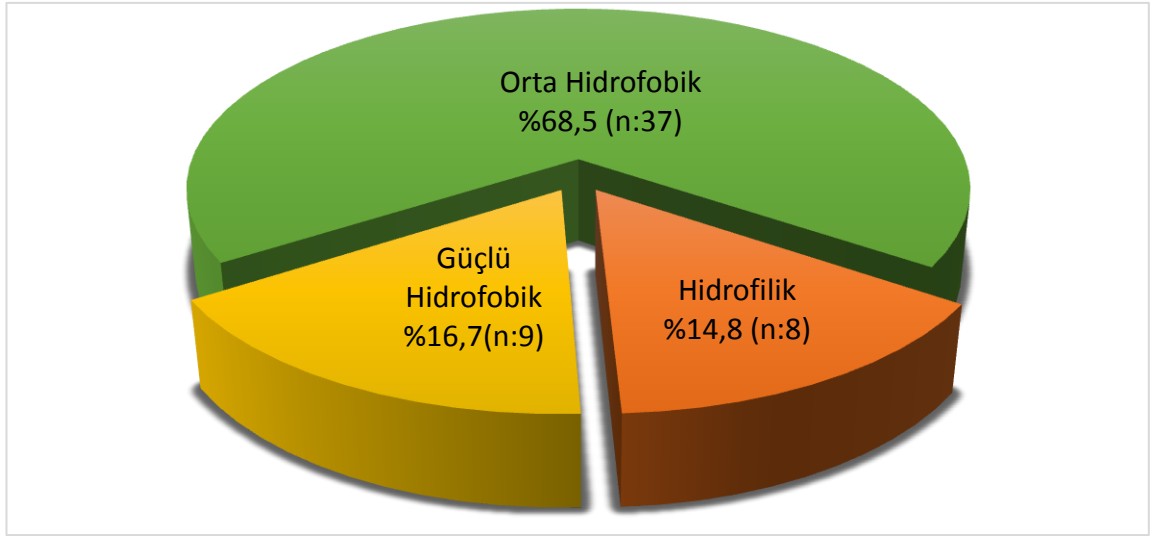
İzolatların biyofilm üretim durumları aynı zamanda Taramalı Elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak da kontrol edilmiştir. Bunun için, MP yöntemi kullanılarak, kuvvetli aderan değerine göre biyofilm pozitif olan bir *S. aureus* izolatu (D83) seçilmiştir. D83 izolatının 24 saat sonundaki SEM görüntüsü incelendiğinde, biyofilm üretiminin fenotipik yöntemlerle (MP, ST ve CRA) belirlenen sonuçlarla benzer olduğu görülmüştür (Şekil 13).



Şekil 13. *S. aureus* izolatının biyofilm oluşumunu gösteren SEM görüntüsü (a) D83 suşunun biyofilm oluşumu, (b) Negatif kontrol

4.5. Hidrofobisite Değerleri

Hidrokarbona tutunma (BATH) testi sonucuna göre, izolatların değişik oranlarda hidrofosite yüzey özelliğine sahip olduğu belirlendi (Şekil 14). İzolatların hidrokarbona (p-ksilen) tutunma oranı % 7,72-83,3 arasında değişmektedir.



Şekil 14. *S. aureus* izolatlarının hidrofobisite değerleri

4.6. Tartışma

DM tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın bir sağlık sorunudur (Boulton ve ark., 2005). DAÜ'leri ve sonrasında gelişen enfeksiyonlar, DM'lu hastalardaki en önemli komplikasyonlardan biridir. Son yıllarda DM'lu hasta sıklığının artması DA tabloları ile daha sık karşılaşmamıza neden olmaktadır. DM'lu hastaların %15'i yaşamları boyunca en az 1 kez ayak ülseri ile karşılaşır (Kandemir ve ark., 2007). Diyabetin en sık komplikasyonlarından biri olan DAE'u tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastaneye yatışların ve diyabetik olgulardaki non-travmatik ayak amputasyonlarının önemli bir sebebidir (Gariani ve ark., 2014). DAE'ları yüzeysel enfeksiyonlardan osteomyelitlere kadar geniş bir yayılım gösterebilir (Katz ve ark., 2016). DAE, DM'lu hastaların uzun ve sık hastane yatışlarına da yol açmaktadır. Diyabetik olgularda ayak ülserlerinin yıllık insidansı %1-4; prevalansı ise %5-10 civarındadır (Moulik ve ark., 2003). DAE, DM hastalarında en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden birisidir. Hastaneye yatan her beş DM hastasından birinin yatış sebebi DAE'udur. DM hastalarının %25'i hayatının bir döneminde DAE'u geçirmektedir (Gündeş ve Yuluğkural, 2007). Şiddetli DAE'larında etken mikroorganizma genel olarak birden fazla olabilirken, hafif-orta şiddetteki enfeksiyonlarda etken genellikle tektir.

Etkenler en sık Gram pozitif ajanlar olmakla birlikte çok ciddi, derin ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlarda Gram negatif bakteriler ve anaeroblar etken olabilir (Hartemann-Heurtier ve ark., 2004). Ülkemizde de yaşlı nüfusun artmasına bağlı olarak diyabetli hasta sayısı geçmiş yıllara göre hızla artmakta ve buna bağlı olarak DA ve enfeksiyonlarının sayısında belirgin artış gözlenmektedir. DAE'lerinin tedavisinin oldukça güç olması nedeniyle, gerek uygun tedavinin zamanında yapılabilmesi, gerekse sıklıkla yapılan uygunsuz ve yanlış antibiyotik kullanımından mümkün olduğunca kaçınılabilmesi amacıyla mikrobiyolojik inceleme son derece önemlidir (Bezirgan, 2010).

Literatür araştırmasında DA yarasının genellikle erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görüldüğü belirlenmiştir. Güner'in 2005 yılında Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Diyabet Polikliniği ve Özel Diyabet Hastanesinde yaptığı çalışmada yaşları 21 ile 81 arasında değişmekte olan; 42'si kadın (% 46,7) ve 48'i erkek (% 53,3) olmak üzere toplam 90 olgu üzerinde çalışmıştır.

2002 - 2004 yılları arasında Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Cerrahi Kliniğinde DA nedeniyle yatarak tedavi gören 49 hastayla yapılan çalışmada hastaların 30'u (% 61,2) erkek 19'u (% 38,8) kadındır (Açar, 2006). Örmen ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada 50 DA olgusunun 33 (%66)'ü erkek, 17 (%34)'si kadın olduğu görülmüştür. Bir başka çalışmaya alınan toplam 250 olgunun 142 'si (%56,8) kadın ve 108'i (% 43,2) erkektir (Özaydın, 2008). Ata'nın 2009 yılında yaptığı çalışmada toplam 136 hasta dahil edilmiş ve hastaların 82'si (%60,3) erkek, 54'ü (%39,7) kadın olarak belirlenmiştir. Özaydın ve arkadaşları (2010) 62 DA olgusunun 27'sini (%44,6) erkek, 35'ini (%56,4) kadın olarak tespit etmişlerdir. Özer ve ark. (2010) Üniversite Hastanesine başvuran 78 diyabetik hastasının 44'ünün (% 56,4) erkek olduğunu, aynı şekilde Bezirgan 2010 yılında yaptığı çalışmada 91 hastanın 63'ünün (% 69,2) erkek olduğunu belirtmiştir. Zubair ve ark. (2011) Kuzey Hindistan da DAE'u ile başvuran 102 hasta ile yaptıkları bir çalışmada, 67'sinin (%65,6) erkek hasta olduğunu belirtmişlerdir. GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Diyabetik Ayak Kuruluna (DAK) Ocak 2012-Aralık 2014 tarihleri arasında başvuran hastalar ile yapılan çalışmada toplam 198 hastanın %68,7'si erkek, % 31,3'i kadın olarak belirlenmiştir (Karaahmetoğlu, 2015). Korkmaz ve arkadaşları (2015) ise farklı lokalizasyonda ve farklı evrelerde DA yarası mevcut olan 27'si kadın 77'si erkek toplam 104 hasta değerlendirmişlerdir.

Akhi ve ark. (2015) İran'da 2 hastanede yaptıkları çalışmada DAÜ bulunan 60 hastanın 46'sının (% 77) erkek ve 14'ünün (% 23) kadın olduğunu belirtmişlerdir. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı Diyabetik Ayak Polikliniğinde 120 hastanın dahil edildiği bir başka çalışmada ise, 57'si kadın, 63'ü erkek hasta olduğunu belirlemişlerdir (Demirci ve ark, 2016). Yücel ve Sunay 2016 yılında yaptıkları çalışmada dahil edilen 176 hastanın %79'u (n:139) kadın %21'inin (n:37) erkek olduğunu belirtmişlerdir. Şenoğlu ve arkadaşları 2017 yılında 27 DAE'lu olguda hastaların 12'si kadın, 15'i erkek idi. Konya ve Demirtürk (2017) Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışma da hastaların 39'u (%73,6) erkek, 14'ü (%26,4) kadındı. Bizim çalışmamızda 100 hastanın %66'sı erkek, %34'ü kadındı. Tez çalışmamızdaki erkek hasta sayısının yüksek olması belirtilen çalışmalara benzerlik göstermiştir. Yapılan çalışmalarda genellikle erkek hastalarda daha fazla diyabetik ayak yarası görülme nedeni eğitim yetersizliği ve genetik faktörlerden kaynaklı olabilir.

Diyabetik olgularda DAE'ları en sık hastaneye yatış ve amputasyon nedenidir. Diyabetik ayak ülserlerinin tedavisinde ilk basamak doku hasar boyutunu belirleyerek etken mikroorganizmanın izolasyonunu sağlamaktır. Bu amaçla çeşitli sınıflamalar yapılmıştır. Halen çok yaygın olarak kullanılan Wagner sınıflaması ülser derinliğinin ön planda olduğu, diğer sınıflandırmalara nazaran uygulanma kolaylığı nedeniyle tercih edilmektedir (Ulusoy ve ark., 2000). Çalışmamızda hastaların diyabetik ayak tanımlanmasında Wagner sistemi kullanılmış olup, Wagner sınıflama evresi 3 olan hastalar dahil edilmiştir.

Her geçen gün sıklığı artan DAE'ları multidisipliner yaklaşım gerektiren önemli bir sağlık sorunudur. DAE'larının 40 yaş üzeri hastalarda daha sık görüldüğü ve yaş ilerledikçe arttığı bilinmektedir (Zukic ve ark., 2015). Ülkemizde yapılan çalışmalarda genellikle 40 yaş ve üstü hastalarda görüldüğünü desteklemektedir. Güner'in 2005 yılında yaptığı çalışmasında yaşları 21 ile 81 arasında değişmekte olan; toplam 90 olgunun ortalama yaşı $54,9 \pm 11,6$ idi. Toplam 250 olgu ile yapılan bir çalışmada yaş ortalaması 58 ± 11 idi (Özaydın, 2008). Bezirgan 2010 yılında toplam 91 hastayı çalışmasına dahil etmiş ve hastaların yaş ortalamasını $62 \pm 1,1$ olarak bulmuştur. Zubair ve ark. (2011) Kuzey Hindistan da DAE'u ile başvuran 102 hasta ile yaptıkları çalışmada hastaların yaş ortalamasını $49,1 \pm 12,4$ olarak bulmuşlardır.

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Diyabetik Ayak Kuruluna (DAK) başvuran toplam 198 hastanın yaş ortalamaları $65,3 \pm 12,2$ yıl idi (Karaahmetoğlu, 2015). Akhi ve ark. (2015) İmam Reza Hastanesinde ve Sina Hastanesinde Ekim 2013 ile Eylül 2014 tarihleri arasında hastaneye kaldırılan DAÜ'leri bulunan 60 hastanın ortalama yaşını 52 olarak belirtmişlerdir. Yücel ve Sunay 2016 yılında yaptıkları çalışmada 176 hastanın yaş ortalamasını $58 \pm 10,6$ yıl olarak bulmuşlardır. Şenoğlu ve arkadaşları 2017 yılındaki çalışmalarında 27 DAE'lu hastanın yaş ortalamasını 59 olarak bulmuşlardır. Konya ve Demirtürk 2017 yılında yaptıkları çalışmada hastaların ortalama yaşlarını $67,3 \pm 12,5$ olarak hesaplamışlardır. Yaş faktörü oldukça değişkenlik gösteren bir durum olup, bizim çalışmamızda diyabetik kadın hastaların yaş ortalaması 54,9 ve erkek hastaların ise 57,8 yıl idi.

DM'lu hastalarda çeşitli enfeksiyon türlerinin artışı görülmektedir ve bunun plazma glikoz konsantrasyonu ile ilişkisi olduğunu gösteren birçok kanıt bulunmuştur (French, 1987). DM tanısı için açlık plazma glikoz düzeyi ≥ 126 mg/dl olması gereklidir (Amerikan Diyabet Birliği Kriterleri, 2011). DM'un yüksek kan glikozu seviyelerinde komplikasyonların arttığı görülmektedir. Özer ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı çalışma ile DM komplikasyonlarının düzensiz glikoz seviyeleri olan hastalarda görüldüğünü doğrulamışlardır. Korkmaz ve arkadaşlarının (2015) yaptıkları çalışmada, farklı lokalizasyonda ve farklı evrelerde DA yarısı mevcut olan toplam 104 hastanın ortalama kan glikoz düzeyi 203 mg/dl olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, 131 hastanın ortalama glikoz değerini 169 mg/dl olarak ifade edilmiştir (Motor ve ark., 2013). Demirci ve arkadaşlarının 2016 yılında 120 hasta üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada açlık kan şekeri ortalaması $173,2 \pm 78,6$ mg/dl olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ortalama kan glikoz düzeyi 216 mg/dl olarak belirlenmiş olup, bahsi geçen çalışmalardan daha yüksek oranda bulunmuştur.

HbA1c, DM uzun dönemli glisemik kontrolünün değerlendirilmesinde, takibinde kullanılan ve bu hastalarda komplikasyon gelişme olasılığını gösteren değerli bir testtir. Amerikan Diyabet Derneği'nin (ADA) önerisine göre kronik komplikasyonların önlenmesi ve/veya azaltılması için HbA1c'nin %7'nin altında tutulması gerekmektedir (ADA, 2003). Amerikan Diyabet Birliği Kriterlerine (2011) göre, $HbA1c \geq \% 6,5$ olmalıdır.

DM'lu hastalarda bu oran %7 ve üzerindedir. HbA1c seviyesindeki yüksekliğin de diyabetik ülser gelişimi ve yara iyileşmesindeki gecikmeyle olan yakın ilişkisi de bilinmektedir (Akçay ve ark., 2013). HbA1c ölçümleri diyabetin rutin takibinde ve plazma glikoz kontrolü ile komplikasyonların gelişmesi arasındaki ilişkinin incelenmesinde son derece değerlidir. Tip 2 diyabetiklerde diyabetin komplikasyon riski daha önceki hiperglisemi ile ilişkilidir. Glikoz düzeyleri için bir gösterge olan HbA1c'deki herhangi bir düşüş komplikasyon riskinde azalma ile korelasyon göstermektedir. HbA1c'de %1 oranında azalmanın diyabetle ilişkili tüm komplikasyonlarda %21, diyabetle ilişkili tüm ölümlerde %27, miyokard enfarktüsünde %14 ve mikrovasküler komplikasyonlarda %37 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir (Stratton ve ark., 2000).

Güner'in 2005 yılında Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Diyabet Polikliniği ve Özel Diyabet Hastanesinde toplam 90 olgu üzerinde yaptığı çalışmasında ortalama HbA1c düzeyi $8,7 \pm 2,4$ olarak tespit edilmiştir. Mart-Haziran 2007 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Bolu İzzet Baysal Devlet Hastanesinde diyabet tanısı ile takip edilen tip 1 ve tip 2 DM tanısı konulan ve bunların 47 tanesinde diyabetik ayak ülseri olan toplam 250 olguyla yapılan çalışmada HbA1c ortalamaları $5,7 \pm 1,5$ olarak ölçülmüştür (Özaydın, 2008). Bu çalışmada HbA1c ortalamasının düşük çıkmasının nedeni 250 hastadan sadece 47 tanesinde DAÜ olmasından kaynaklı olabilir. Çünkü, DM'un komplikasyonu olan DAÜ'nin ortaya çıkmasında artmış HbA1c etkisi vardır. Özer ve ark. (2010) glikolize hemoglobin (HbA1c) ortalamasını %9,7 olarak, Motor ve ark. (2013) ise %7 olarak bulmuşlardır. 120 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, HbA1c $9,1 \pm 2$ idi (Demirci ve ark., 2016). Zubair ve ark. (2011) Kuzey Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada, DAE ile başvuran (n:102) 12 (% 11,7) hastada HbA1c değerini < 7 ; 2 hastada (% 1,9) 7-8 ve 88 hastada (% 86,2) > 8 olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu literatür çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulunmuş ve hastalarımızın HbA1c değer ortalamaları %10,4 olarak belirlenmiştir.

DAÜ'lerinde enfeksiyonun polimikrobiyal olması beklenmektedir. Bakteriyel grupların sayısı ve yoğunluğu iyileşmeyi etkilemektedir (Nelson ve ark., 2006).

Genel olarak sık karşılaşılan mikroorganizmalar *S. aureus*, Streptokoklar, Gram-negatif basiller ve anaeroblar olup bunların prevalansları değişebilmektedir (Şerefhanoglu ve ark., 2006). Bu enfeksiyonlardan en sık izole edilen bakteriler *S. aureus* ve beta-hemolitik streptokoklardır (Lipsky, 2004). Şiddetli DAE'larında etken mikroorganizma genel olarak birden fazla olabilirken, hafif-orta şiddetteki enfeksiyonlarda etken genellikle tektir. Etkenler en sık Gram pozitif ajanlar olmakla birlikte çok ciddi, derin ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlarda Gram negatif bakteriler ve anaeroblar etken olabilir (Hartemann-Heurtier ve ark., 2004).

DAE'larında mikrobiyolojik etkenlerin spektrumu değişkendir. Gelişmiş Avrupa ülkelerinde ve Kuzey Amerika kıtasında baskın patojenin Gram pozitif olduğunu ve bunların başında da *S. aureus* (MRSA) ve *Streptococcus spp.*'in geldiği bildirilmektedir. Batı toplumlarına nazaran daha sıcak iklim kuşağında yer alan Afrika ve Asya Ülkelerinde ise gram pozitif etkenler yerini Gram negatif aerobik etkenlere bırakmaktadır. Bunların başında ise *P. aeruginosa* ve diğer Gram negatif patojenler gelmektedir. Ülkemiz coğrafik olarak bölgeler ve kıtalar arası geçiş konumundadır. Hatipoğlu ve arkadaşları (2014) tarafından ülkemizde 1989-2011 ile 2007-2011 yılları arasında yapılmış olan, mikrobiyolojik etkenlerin profillerinin ortaya konulduğu tüm çalışmalar sistematik meta analiz ile değerlendirmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre; Gram pozitif (%48,4 ve %48,4) ve Gram negatif (% 49,9 ve %48,8) oranlarının neredeyse eşit ve son 5 yılda çok fazla değişiklik göstermediğini bildirmişlerdir. *S. aureus*'un son 20 yılda %23,8'lik prevelansın son 5 yılda %19,1'e düştüğünü, MRSA'nın ise buna paralel olarak %7,8'den %5,7'ye gerilediğine dikkat çekmişlerdir. Yine aynı çalışmada *P. aeruginosa* oranının ise son 5 yılda %13,7'den %14,9'a yükseldiğini belirtmişlerdir. Ülkemizdeki *S. aureus* ve özellikle MRSA prevelansının Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinden oldukça az olduğu, *P. aeruginosa* görülme sıklığının ise fazla olduğu ve Asya ülkeleri ile hemen hemen aynı olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Hatipoğlu ve ark., 2014). Aynı yazarların 2016 yılında ülkemizde yaptıkları çok merkezli çalışmada Gram-negatif bakterilerin oranı %60 iken, Gram-pozitif bakterilerin oranının %36 olduğu bildirilmiştir (Hatipoğlu ve ark., 2016). Birçok çalışmada, DAE'larındaki baskın aerob etkenlerin *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *P. aeruginosa* olduğu belirtilmiştir (Öztürk ve ark., 2017).

Çalışmamızda, benzer şekilde 85 izolatin %63,5'i (n:54) *S. aureus* ve %36,5'i (n:31) KNS olarak bulunmuştur. Gökel 1996 yılında 40 hasta üzerinde yaptığı çalışmasında *Enterococcus faecalis* % 32,5 ve *S. aureus* % 27,5 izole etmiştir. Hill ve arkadaşlarının 1999 yılında 150 diyabetik ayaklı hasta üzerinde yaptığı çalışmada %28 oranında *S. aureus*, %20 oranında *Streptococcus*, %14 oranında *Pseudomonas* saptanmıştır. Dinççağ ve arkadaşları 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde yaptıkları çalışmada %39 *S. aureus* bulmuşlardır.

Sert ve arkadaşlarının 2000 yılında Çukurova Üniversitesi'nde yaptıkları bir çalışmada en sık izole edilen mikroorganizmalar sırasıyla *S. aureus*, KNS, *Enterococcus spp*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* olmuştur. Bostanoğlu ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı çalışmada ise, %47,7 oranında *S. aureus*, %13,6 oranında *E. coli*, %6,8 oranında ise, *Pseudomonas* etken mikroorganizma olarak saptanmıştır.

Jeffcoate ve Harding 2003 yılında yaptıkları çalışmada da ağırlıklı olarak *S. aureus* tespit edilmiş ve osteomyelit oluşmasına neden olan en önemli etken mikroorganizma olarak vurgulanmıştır. Tanyel ve ark. (2003) DAE'lerini araştırdıkları bir çalışmada en sık MSSA izole ederken bunu *E. coli* izlemiştir. Dang ve ark.'nın (2003) İngiltere'de yaptıkları retrospektif bir çalışmada, baskın Gram pozitif aerobik etkenin *S. aureus* (%79) olduğu görülmüştür. Carvalho ve arkadaşlarının 2004 yılında Brezilya'da yapmış olduğu çalışmada, 141 DAE'lu hastadan izole edilen 298 bakteriden %83,7'si Enterobacteriaceae, %43,3'ü *S. aureus* ve %17'si anaerob olarak belirlenmiştir. Gadepalli ve ark. (2006) ise, izole ettikleri aerob mikroorganizma etkenlerin içinde en sık %51,4 oranında Gram negatifleri tespit etmişlerdir. Gram pozitif izolasyon oranı %33,3 bulunurken en sık etken olarak %13,7 *S. aureus* olduğunu bildirmişlerdir. Tentolouris ve ark. (2006) Yunanistan da yaptığı bir çalışmada enfekte ve enfekte olmayan DAÜ'lerinde en sık izole edilen Gram pozitif koklar (%56,7) olurken, bunların ilk sırasında *S. aureus* 'un (%28,8) yer aldığını bildirmişlerdir. Gadepalli ve ark. (2006) en sık Gram negatif bakterilere (%51,4) rastlandığını ve ilk sırada *Proteus* türleri ile *E. coli* 'nin olduğunu bildirmişlerdir. Açar'ın 2006 yılında Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesinde tedavi gören ve tümü tip 2 diyabetli olan 49 hastada yaptığı kültür antibiogramlarında en fazla üreyen mikroorganizmanın *S. aureus* %40,8 (20), *E. coli* %14,3 (7), *Proteus* %10,2 (5), Grup D streptokok %6,1 (3), *Pseudomonas* %6,1 (3), *Klebsiella* %4,1 (2) olduğu saptanmıştır.

Şerefhanoglu ve ark. (2006) ise, DA'ların aerobik bakteriyolojik analizi ile ilgili yaptıkları çalışmada %46 oranında Gram pozitif, %54 oranında ise, Gram negatif bakteri izole etmişlerdir. En sık izole edilen organizma %38 oranı ile *S. aureus* olduğunu bildirmişlerdir. Citron ve ark. (2007) çalıştıkları DA örneklerinden aerob bakterilerin %80,3'ünü Gram pozitifler oluştururken bunların da içinde %76,6 ile en sık izole edileni *S. aureus* olmuştur.

Örmen ve ark. (2007) ise, DA lezyon kültüründe %66 oranında üreme tespit ederken bunun %40'ının Gram pozitif ve %60'nın Gram negatif bakteriler olduğunu ve Gram pozitif bakteriler içinde en sık izole ettiklerinin *S. aureus* suşları olduğunu bildirmişlerdir. Özaydın (2008) yaptığı çalışmada da benzer şekilde Gram pozitif bakteriler içinde en sık izole edilen etkenin *S. aureus* (%25,6) olduğunu bildirmiştir.

Ata'nın 2009 yılında yaptığı bir çalışmada toplam 136 diyabetik hastadan 143 etken izole edilmiş ve bu mikroorganizmalar sırayla Gram-pozitif 78 (%54,5), Gram-negatif 62 (%43,4) olarak saptanmıştır. En sık olarak 23'ü koagülaz pozitif, 29'u koagülaz negatif olmak üzere toplam 52 stafilokok izole edilmiştir. Arıkan ve ark. 2010 yılında yaptığı çalışmasında diyabetik yara kültürlerinde en sık *S. aureus* ürediğini tespit etmiştir. Hatay ilinde Özer ve ark. (2010) tarafından 78 DA hastasıyla yapılan aerob mikroorganizma profilinin belirlenmesine yönelik çalışmada, en sık izole edilen organizmalar Enterobacteriaceae (%36,5), *Pseudomonas aeruginosa* (%18,9), *Enterococcus spp.* (%14,9), *S. aureus* (%10,8), *Streptococcus spp.* (%6,8), KNS (%5,4), *Candida spp.* (%4) ve *Acinetobacter spp.* (%2,7) olmuştur. Özaydın ve ark. (2010) izole edilen toplam 93 bakteriden 49'unun (%52,7) Gram pozitif, 44'ünün (%47,3) Gram negatif olduğunu saptamıştır. En sık izole edilen mikroorganizma *S. aureus* (26 izolasyon; %28) olup, onu *E. coli* (%18,3), *Klebsiella* türleri (%12,9) ve *Enterococcus* türleri (%12,9) izlemiştir. Bezirgan'nın 2010 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Mayıs 2008 – Şubat 2010 tarihleri arasında DAE'u ile izlenen 91 hastadan toplam 101 patojen izole edilmiş ve *S. aureus* %15,8 oranı ile en fazla izole edilen mikroorganizma olmuştur.

Dicle Üniversitesi ve Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yatarak tedavi gören DAE'lu hastaların lezyon kültürlerinden alınarak yapılan bir çalışmada 90 Gram-pozitif ve 71 Gram-negatif olmak üzere toplam 161 bakteri izole edilmiş ve en sık izole edilenlerin baskın patojen olarak *S. aureus* (%26), B grubu *hemolitik*

streptokoklar (%12) ve *Klebsiella spp.* (%12) olduğu bildirilmiştir (Bozkurt ve ark., 2011). Al Benwan ve ark.'larının (2012) yaptığı çalışmada ise Gram-negatif patojenler (%51,2), Gram-pozitif patojenlerden daha fazla izole edilmiş ve izole edilen baskın organizmalar Enterobacteriaceae üyeleri olmuştur. Turhan ve arkadaşları (2013), 2005-2010 yılları arasında yaptıkları çalışmalarında, Sualtı ve Hiperbarik Tıp Kliniğine başvuran 107 DAE'lu hastanın 298 kültür sonuçlarını incelemiştir.

Toplam 267 kültür pozitifliğinden 312 bakteri izole edilmiş ve 121 (%38,7) etkenin Gram pozitif, 191'inin (%61,3) ise, Gram negatif olduğu saptanmıştır. İzolatlardan en sık rastlanan etken *P. aeruginosa* (n:93; %29,8) olup, bunu *S. aureus* (n:52; %16,7) ve *Enterococcus spp.* (n:36; %11,5) izlemiştir. Gram pozitifler arasında en sık rastlanan etken ise yine %43,4 ile *S. aureus* olmuştur.

DAE'lu 56 hastadan altı aylık bir sürede alınan klinik örnekler üzerinde yapılan prospektif bir çalışmada; izole edilen 65 bakteriden 34'ünün (%52,3) Gram negatif 31'inin (%47,7) Gram pozitif olduğu bulunmuştur (Kavitha ve Khaja Mohiddin, 2014). Banu ve ark. 2015 yılında yaptığı çalışmada 100 numunedan 82'sinde pozitif kültür bulmuş ve bunların arasında baskın tür *S. aureus* ve onu *Pseudomonas aeruginosa* izlemiştir. Karaahmetoğlu (2015), GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Diyabetik Ayak Kuruluna (DAK) 2012-2014 tarihleri arasında başvuran toplam 198 hastanın kültürlerden izole edilen toplam 136 etkenin 34'ünün (%25) Gram pozitif, 97'sinin (%71,3) Gram negatif bakteri olduğunu tespit etmiştir. Farklı lokalizasyonda ve farklı evrelerde DA yarası mevcut olan toplam 104 hastayla yapılan bir çalışmada, %17 *Pseudomonas*, %10 *S. aureus*, %7 Enterokok, %4 *Proteus*, %3 *E. coli* izole edilmiştir (Korkmaz ve ark., 2015). Al-Gadaa ve ark.'da 2015'de yaptığı çalışmasında en sık izole edilen mikroorganizmanın *S. aureus* (%36,2) olduğunu belirtmiştir. Mottola ve ark. (2016) çalışmalarında test ettikleri 95 izolattan 31'ini *S. aureus* olarak tanımlamıştır. Shashikala ve ark. (2016) ise çalışmalarında kronik DAÜ'i olan hastalardan 100 numune toplayarak, 82 izolat elde etmişlerdir.

En sık izole edilen organizmalarında %24,4 ile *S. aureus* ve *E. coli*, %17,1 *Pseudomonas aeruginosa*, %12,1 *Citrobacter sp.*, %12,1 *Klebsiella oxytoca* ve *Proteus sp.* (%9,76) olduğunu raporlamışlardır. 2017 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada 53 DAE'lu hastada en sık üreyen mikroorganizma olarak MSSA %42,1 (n:8) bulunmuştur (Konya ve Demirtürk, 2017).

Öztürk ve ark. (2017) çalışmalarında 55 hastanın kemik ve yumuşak doku örneklerinden, 81 etken izole etmiş ve bunların %34,6'sının Gram-pozitif kok, %65,4'ünün Gram-negatif basiller olduğunu ifade etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda *S. aureus* prevelansı tüm literatür sonuçlarına göre en yüksek oranda %63,5 olarak bulunmuştur. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında çoğunlukla Gram pozitif etken olarak *S. aureus* bulunması bu türün önemli olduğunu göstermektedir.

Diyabetik ayak yaralarında *S. aureus* izolatlarının dominant üremesinin virülans faktörleri ile antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirme özelliklerinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

DAE'lerinin tedavisinde antibiyotik tedavisi önemli bir yer tutar. Olası etken mikroorganizmaya yönelik başlanacak olan ampirik antibiyotik tedavisiyle birlikte cerrahi tedavinin uygulanması morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadır (Bridges ve Deitch, 1994). Tüm önleyici tedbirlere rağmen, ciddi komplikasyonlarla seyreden diyabet hastalarında ayak ülserasyon ve enfeksiyonu yaygın olup potansiyel olarak ciddi bir problem oluşturur. Bu nedenle enfekte DAÜ'lerinde uygun tedavinin belirlenebilmesi için etken mikroorganizmanın izolasyonu ve bunların antibiyotik duyarlılıklarının tespiti çok önemlidir (Ertuğrul ve Baktıroğlu, 2005). *S. aureus* mikrobiyoloji laboratuvarlarından izole edilen en yaygın 5 etkenden birisidir. Uygun antibiyotik tedavisine rağmen *S. aureus* hastane kaynaklı enfeksiyonların başta gelen nedenlerindendir. Antibiyotik çağının başlamasından günümüze doğru gelindiğinde, stafilokoklarda da antibiyotiklere karşı gelişen bir direnç gözlenmektedir. Özellikle metisiline dirençli suşlar tedavisi güç, morbidite ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara yol açarlar. Stafilokoklar antibiyotiklere farklı mekanizmalarla direnç kazanabilmektedir. Stafilokoklarda beta-laktam antibiyotiklere direnç başlıca iki mekanizma ile ilişkilidir.

Mekanizmalardan ilki beta-laktamaz sentezidir. İkinci mekanizma beta-laktam antibiyotiklere düşük affiniteye sahip PBP2a sentezi ile gerçekleşmektedir (Fuda ve ark., 2005). MRSA suşlarının çoğu, başta beta-laktam antibiyotikler olmak üzere, linkozamidler, makrolidler ve aminoglikozidlere karşı da direnç gösterir (Lentino ve ark., 2008). Günümüzde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid grubu antibiyotiklerdir.

Glikopeptidlerin yanı sıra linezolid, daptomisin ve tigesiklin gibi yeni antibiyotikler de kullanılmaktadır. Ancak ne yazık ki stafilokoklarda antibiyotiklere karşı görülen hızlı direnç gelişimi hem glikopeptid grubu ilaçlara hem de yeni geliştirilen ilaçlara karşı da ortaya çıkmıştır (Tsiodras ve ark., 2001). Günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir.

Ülkemizde DA'da MRSA belirleme çalışmalarında metisilin direncinin % 24-60 oranında değiştiği görülmektedir (Örmen ve ark., 2007; Ata, 2009; Saltoğlu ve ark., 2010; Bozkurt ve ark., 2011; Yaşar ve ark., 2011; Turhan ve ark., 2013; Şenoğlu ve ark., 2017; Konya ve Demirtürk, 2017).

Türkiye dışında dünya genelinde yapılan çalışmalarda ise, DAE'larında etken olarak izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direncinin %7 ile %51,9 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tentolouris ve ark., 1999; Pellizzer, 2001; Ge ve ark., 2002; Slater ve ark., 2004; Carvalho ve ark., 2004; Abdulrazak ve ark., 2005; Unachukwu ve ark., 2005; Senneville, 2006; Al Benwan ve ark., 2012; Al-Gadaa ve ark., 2015; Akhi ve ark., 2015). Benzer şekilde, Dang ve ark. (2003) Manchester Ayak Hastanesi polikliniğine on iki ay süreyle devam eden 63 diyabetik hastadan izole ettikleri *S. aureus* izolatlarında %30,2 oranında metisilin direncine rastladıklarını bildirmişlerdir. Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı %1'in altında iken, Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika'da ve bazı Asya ülkelerinde bu oran %50'lere ulaşmıştır. Bu oran Amerika Birleşik Devletleri (ABD) yoğun bakım ünitelerinde ise %60'ları aşmıştır (Shorr, 2007; Hawkey, 2008). DAE'ü olan DM'lu hastalardan izole edilen MRSA suşlarının antimikrobial direnç profillerinin bilinmesi önemlidir. Ülkemizde yapılan *S. aureus* kökenli çalışmalarda penisilin direncinin %80-100; metisilin direncinin ise %9-71 arasında değiştiği görülmektedir (Aydın ve ark., 2001). Çalışmamızda sırasıyla penisilin direnci %96,3 ve metisilin direnci %38,8 olarak bulunmuştur.

Kara ve ark. (2014) ise DAE örneklerden izole ettikleri *S. aureus* suşlarındaki metisilin direncini %50 olarak belirlemişlerdir. Bu durum, beta laktam antibiyotiklerinin yaygın kullanımına ve izolatların farklı kaynaklardan izole edilmesi ile açıklanabilir. Humphreys (2002) MRSA prevalansının ve antibiyotik direnç profillerinin yıllara ülkelere hatta bölgelere göre farklılık göstermesini enfeksiyon kontrol önlemlerinin iyi

veya yetersiz olmasına ayrıca da antibiyotik kullanım politikalarındaki farklılığa bağlamıştır.

MRSA'lara bağlı enfeksiyonların tedavisi için ilaç seçiminde vankomisin rağbet görmektedir (Dündar ve Öztük Dündar, 2002; Bannerman, 2003). Ancak vankomisine orta duyarlı *S. aureus*'ların ve dirençli KNS'ların olması, aynı zamanda direnç gelişme potansiyeli antibiyotik kullanımında ihtiyatlı olmayı gerektirmektedir (Gülhan ve ark., 2007).

Birkaç ülkede vankomisine (glikopeptid) orta duyarlı *S. aureus* suşları izole edilmiştir. Ayrıca vankomisin dirençli *S. aureus* için bildirilen ilk iki etkenin diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalara ait olması da önemlidir (Lipsky ve ark., 2004).

Ülkemizde Erdem ve ark. (1995), Esen ve ark. (1992), Gülay ve ark. (1998) tarafından farklı kaynaklardan izole edilen saptandığı bildirilen vankomisin direnci haricinde stafilokoklarda vankomisin direncinin bildirildiği bir çalışma yoktur. A.B.D'de, 2015 yılında DA yarası izolatlarından MRSA'dan kaynaklı 14. VRSA (vankomisin dirençli *S. aureus*) vakası olduğu CDC'ye (Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri) bildirilmiştir (CDC, 2015). Tez çalışmamızda incelediğimiz *S. aureus* izolatlarının hepsi vankomisine duyarlı bulunmuştur.

Çalışmamızda *S. aureus* izolatlarının diğer antimikrobiyallere ise değişen oranlarda direnç gösterdiği belirlenmiştir: Ampisilline %94,4 (n:51), eritromisine %59,3 (n:32), rifampisine %57,4 (n:31), amoksisilin/klavulanik asite %53,7 (n:29), siprofloksasine %50 (n:27), tetrasikline %38,9 (n:21), gentamisine %31,5 (n:17), sulfametoksazol/trimetoprim %22,2 (n:12)'dir.

Gökel 1996 yılında 40 diyabetik hasta üzerinde yaptığı çalışmasında izolatları siprofloksasin, gentamisin ve sulfametoksazol/trimetoprim %54,5 ve vankomisine %100 duyarlı olarak bulmuştur.

Hatay bölgesinde diyabetik ayak hastalarıyla yapılan bir çalışmada etken olarak izole edilen Gram negatif bakterilere karşı en etkili antibiyotiklerin imipenem ve meropenem, Gram pozitif bakterilere karşı ise vankomisinin en etkili ajan olduğu bildirilmiştir (Özer ve ark., 2010). Ülkemizde yapılan bir başka çalışmada DAE'ü olan hastalardan izole edilen mikroorganizmaların %22'sinde çoklu ilaç direnci varlığı saptanmıştır (Kandemir ve ark., 2005).

Gadepalli ve ark. (2006) DAE’unda Gram pozitif izolasyon oranı %33,3 bulurken en sık etken olarak *S. aureus* (%13,7) ve bunların %56’sının MRSA olduğunu bildirmişlerdir. İzole ettikleri MRSA suşlarında en yüksek direncin eritromisin (%85,7), tetrasiklin (%64,3) ve siprofloksasine (%64,3) karşı olduğunu bildirirken vankomisin ve linezolidde karşı direnç bildirmemişlerdir.

Zubair ve ark. (2011) Kuzey Hindistan’da yaptıkları bir çalışmada DAE’u ile başvuran 102 hastadan 152 bakteri izole etmiş ve bunların %24,3 (n:37)’sini *S. aureus* olarak belirlemiştir.

S. aureus izolatlarının antimikrobiyallere direnç oranlarını ise; vankomisine duyarlı, amoksisiline %48,6 (n:18), oksasiline %43,2 (n:16), sefoksitine %48,6 (n:18), seftriaksona %70,3 (n:26), sefotaksime %37,8 (n:14), sefiksimine %73 (n:27), gentamisine %37,8 (n:14), streptomisine %86,5 (n:32), kloramfenikole %10,8 (n:4), sefotaksim/klavulanik asite %54,1 (n:20), eritromisine %45,9 (n:17), klindamisine %43,2 (n:16) olarak tespit etmiştir. DAE’lu 56 hastadan altı aylık bir sürede alınan klinik örnekler üzerinde yapılan prospektif bir başka çalışmada, izole edilen 65 bakteri arasında 34 (%52,3) Gram negatif, 31 (%47,7) Gram pozitif, 21 (%32,3) *S. aureus* izole edilmiştir. Tüm Gram negatif basillerin imipenem, piperacillin-tazobactama ve tüm Gram pozitif kokların vankomisine %100 duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *S. aureus* izolatlarının gentamisine 8 (%38,1), eritromisine 9 (%42,8), klindamisine 15 (%71,4), siprofloksasine 13 (%61,9), amoksisilin /klavulanik asite 12 (%57,1) duyarlı bulunmuştur (Kavitha ve Khaja Mohiddin, 2014). Şerefhanoglu ve ark. (2006) ise diyabetik ayakların aerobik bakteriyolojik analizi ile ilgili yaptıkları çalışmada, MRSA oranının %18 ve tüm MRSA suşlarının vankomisine duyarlı, penisiline dirençli olduğunu bildirirken en yüksek direncin tetrasiklin (%58,8), eritromisin (%41,2) ve klindamisine (%29,5) karşı olduğunu tespit etmişlerdir.

Özaydın (2008) çalışmasında izole edilen örneklerde %8,8 MRSA taşıyıcılığı ve tamamında glikopeptit ve linezolidlere karşı duyarlılık, penisilin direnci, tetrasiklin (%66,6), eritromisin (%55,5) ve klindamisine (%55,5) direnç görüldüğünü rapor etmiştir. Özaydın ve ark. (2010) çalışmalarına Mart 2007 ve Aralık 2008 tarihleri arasında DAE’u olan 62 hasta dahil etmiş ve izole edilen toplam 93 bakteriden 49’unun (%52,7) Gram pozitif, 44’ünün (%47,3) Gram negatif olduğunu saptamıştır.

En fazla izole edilen mikroorganizma *S. aureus* (26 izolasyon; %28) olmuş ve suşların dokuz tanesi metisiline dirençli (MRSA) olarak tespit edilmiştir. İzole edilen *S. aureus*'ların tamamında penisilin direnci tespit edilirken vankomisine ve linezolide karşı direnç tespit edilmemiştir. Eritromisine dirençli suşların hiçbirisinde de klindamisine direncine rastlanmadığı bildirilmiştir.

Bozkurt ve ark. (2012) çalışmalarında *S. aureus* en sık karşılaşılan etken olmuş ve izole edilen 77 mikroorganizmanın (n:20) %26'sını oluşturmuştur. *S. aureus* izolatlarının % 25'i metisilin dirençli bulunmuştur. Vankomisine direnç saptanmamıştır.

İzole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları; penisiline %90 (n:18), ampisiline %90 (n:18), siprofloksasine %40 (n:8), amoksisilin/klavulanata %30 (n:6), trimetoprim/sulfametoksazola %10 (n:2), rifampisine %15 (n:3), eritromisine %40 (n:8), klindamisine %35 (n:7), tetrasikline %60 (n:12) olarak bulunmuştur. Kara ve ark.'nın (2014) DAE'larını klinik ve bakteriyolojik olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, *S. aureus* suşlarındaki metisilin direncini %50 olarak belirlemişler ve lezyon kültürlerinin %30'unda Gram-pozitif bakteri izole etmişlerdir. Bunların da ancak yarısında β -laktam antibiyotiklere direnç, vankomisin, teikoplanin ve linezolid ise duyarlılık görüldüğünü bildirmişlerdir Akhi ve ark. (2015). DAÜ'leri bulunan 60 hastadan izole ettikleri 92 etkenin % 28'ini *S. aureus* olarak tanımlamış ve tümünün vankomisin ve linezolide duyarlı olduğunu göstermişlerdir. GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Diyabetik Ayak Kuruluna (DAK) Ocak 2012-Aralık 2014 tarihleri arasında başvuran toplam 198 hastadan izole edilen Gram pozitif etkenler arasında MRSA tanımlanmazken; izole edilen tüm etkenler arasında çoklu antibiyotik direnci sayısının 49 (%37,4) olduğu bildirilmiştir (Karaahmetoğlu, 2015). Shashikala ve ark. (2016) çalışmalarında kronik diyabetik ayak ülseri olan hastalardan 82 izolat elde etmiş ve 80 izolatta (% 97,6) çoklu antibiyotik direncine rastlamışlardır.

Biyofilm varlığı, kronik yaraların iyileşmesinde ilk engeldir. Diyabetik hastalarında düzenli olmayan kan şekeri, birçok bakterinin biyofilm üretimine olanak sağlar. Özellikle ortamdaki glikozun bakteri tarafından kullanılabilir olmasının, Pseudomonaslar, *Vibrio cholerae*, *E. coli* ve Stafilokokların ekzopolisakkarit (EPS) ekspresyonu ve biyofilm oluşturmalarını belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir (Öztürk ve ark., 2017). DA yaralarında mikroorganizmaların biyofilm üretimi %60 – 80'dir (Malik ve ark., 2013).

P. aeruginosa ve *S. aureus* 'un kronik yaralardaki biyofilmden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Zubair ve ark., 2011). Aynı zamanda birden fazla tür içeren biyo­filmin uzun süren DAÜ'lerinde gözlenen kronik enfeksiyonun nedeni olduğuda öne sürülmüşlerdir (Dowd ve ark., 2008).

S. aureus 'ların oluşturduğu biyofilmler, DAÜ'leri, venöz staz ülserler ve bası yaraları gibi kronik yara enfeksiyon vakalarından sorumlu tutulmuştur. PIA(Polisakkarit inter selüler adezin- *slime* üretiminde şekil veren madde) üretimi DAÜ'i olan hastalardan izole edilen *S. epidermidis* ve *S. aureus* 'un çok yaygın bir özelliğidir.

Bakterinin konakçı hücreyi parçalaması ve hücreyi işgal etme yeteneği bulaşma sürecinde önemli adım olarak kabul edilir (Schwaber ve ark., 2006). DAÜ'lerinden izole edilen bakterilerin araştırıldığı birçok çalışmada biyofilm oluşumu 24 saatte değerlendirmiştir (Öztürk ve ark., 2017). Ancak inkübasyon süresinin biyofilm oluşumunu etkilediği, çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (Podbielska ve ark., 2010; De la Rosa-Ramos ve ark., 2015). Mottola ve ark. (2016a) 48 saatlik inkübasyon sonrası *Pseudomonas* türlerinde güçlü (%85,7) veya orta (%14,3) düzeyde biyofilm oluşumunu göstermişlerdir. Stafilokok türlerinde ise suşların % 84,2'ünün 72 saatin sonunda orta düzeyde biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Mottola ve ark. (2016b) yaptıkları başka bir çalışmalarında ise Stafilokok izolatlarının ilk 24 saatte zayıf, 72 saat sonunda %84,4 biyofilm oluşturduklarını bulmuşlardır. Podbielska ve ark. (2010) DAE'larından izole edilen *S. aureus* suşlarının % 69'unun ve *S. epidermidis* suşlarının %75'inin biyofilm oluşturduğunu bildirmiştir. Öztürk ve ark. (2017) çalışmalarında, 55 DAE hastadan aldıkları kemik ve yumuşak doku örneklerinden etken olarak izole ettikleri *S. aureus* izolatlarının %75 biyofilm ürettiklerini belirtmişlerdir. Arciola ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada intravenöz kateterle ilişkili enfeksiyonlardan elde ettikleri 23 *S. aureus* suşunun %60,8 *slime* ürettiğini bildirmiştir.

Şahin 2007 yılında çeşitli klinik örneklerden izole ettiği 175 *S. aureus* suşunu dahil ettiği çalışmasında Congo red agar (CRA) besiyeri ve mikrotitrasyon plağı yöntemini karşılaştırmıştır. CRA besiyerinde yapılan koloni morfolojisine dayanan fenotipik değerlendirmeler sonrasında 175 örneğin 101'inde (%57,7) biyofilm oluşumu negatif bulunurken, 74'ünde (%42,3) biyofilm oluşumu pozitif bulunmuştur. Mikrotitrasyon plağı yöntemiyle kristal viyole kullanılarak yapılan absorbans ölçümlerine dayanan kantitatif değerlendirme sonucunda örneklerin 34'ünde (%19,4)

biyofilm üretimi negatif, 112'sinde (%64) orta derece biyofilm üretimi ve 29'unda (%16,6) güçlü biyofilm üretimi belirlemiştir. Kendi çalışmamızda her iki yöntem sonucunda *S. aureus* suşlarının tamamı biyofilm üretimi yönünden pozitif bulunmuştur.

DAÜ'li 50 hastayla yapılan bir benzer çalışmada, etken *S. aureus* suşlarının *slime* üretimi, Congo red agar (CRA) yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve polisakkarit hücreler arası adhesin (PIA) üretimi immünohistokimya ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta, 55 *S. aureus* suşunun %69'unun CRA metodu ile biyofilm, % 84,2 'sinin de PIA ürettiği bildirilmiştir (Podbielska ve ark., 2010).

Kouidhi ve ark. 2010 yılında 22 *S. aureus* suşu ile yaptıkları çalışmalarında CRA yöntemi ile 11 suşu (%50) *slime* pozitif ve kalan 11 suşu ise *slime* negatif olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda, biyofilm oluşturma özellikleri incelenen *S. aureus* izolatlarının tamamı CRA ve MP yöntemlerine göre % 100, ST yöntemine göre ise %96,3'ü pozitif bulunmuştur. Sonuçlarımız literatür araştırma sonuçlarına uyumlu olmakla beraber daha yüksek oranda bulunmuştur. Ünal (2011) klinik örneklerden izole edilen 10 *Pseudomonas*, 20 *Klebsiella*, 55 *Staphylococcus* ve 15 *Candida* kökeninde biyofilm varlığı ve *slime* faktör oluşumunu araştırmıştır. Araştırmada *S. aureus* izolatlarının biyofilm üretimi Standart cam tüp ve CRA yöntemi ile kıyaslanmış ve *slime* varlığı %51,5 oranında pozitif bulunmuştur. Yaşar ve ark. (2011) çeşitli klinik örneklerden Haziran 2009-Mart 2011 arasında izole ettikleri 139 *S. aureus*, 94 KNS suşunu çalışmalarına dahil etmişlerdir. *S. aureus* suşlarında *slime* pozitifliği %39, KNS suşlarında %30 oranında saptanmıştır. *Slime* oluşturan stafilokoklar arasında antibiyotik direnci daha yüksek bulunmamış, aksine *slime* oluşturmayanlarda metisilin ve antibiyotik direnç oranları daha yüksek saptanmıştır. Banu ve ark. 2015 yılında DAÜ'li hastalarla yaptıkları prospektif çalışmalarında etken olarak izole ettikleri *S. aureus* izolatlarında biyofilm oluşumunu %20 olarak bildirmişlerdir.

Al-Gadaa ve ark. (2015) DAÜ'li bulunan hastalarla yaptıkları benzer bir çalışmada MRSA izolatlarının % 56,4 biyofilm oluşturduğunu raporlamışlardır. Shashikala ve ark.'ları (2016) çalışmalarında kronik DAÜ'li olan hastalardan 100 numune toplamış ve bu örneklerden 82 izolat elde etmişlerdir. İzolatların 38'i (%46,3) biyofilm oluşumu göstermiştir. Biyofilm oluşumu için pozitif test edilen izolatların 14'ünde (% 38,8) *S. aureus* baskın biyofilm oluşturunucusu olarak belirlenmiştir.

MRSA izolatlarının (n:10) tümünün %100, MSSA izolatlarının ise sadece 4'ünün (%40) biyofilm oluşturduğu gösterilmiştir.

SEM, bakteri/yüzey etkileşiminin araştırılmasını mümkün kılan ve yarı niceliksel bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Di Ciccio ve ark., 2015). Yılmaz ve Güvensen (2016) Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) sentezleyen *E. coli* izolatlarıyla yaptıkları çalışmalarında biyofilm oluşumunu hem fenotipik testlerle hemde SEM görüntüleriyle destekleyerek ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda aynı zamanda, D83 *S. aureus* izolatın 24. saat sonundaki biyofilm oluşumu SEM kullanılarak da görüntülenmiştir. SEM ile görüntülenen biyofilm oluşumu CRA, ST ve MP yöntemleriyle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bakteri hücre yüzeyinin hidrofobik ve hidrofilik doğası canlı ve canlı olmayan yüzeylere yapışmasının belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Rosenberg ve ark., 1980). Bakterilerin farklı maddelere tutunmasında öncelikle hücre yüzeyinin fizikokimyasal özellikleri, hücre tutunması ile pozitif ilişkisi olan hidrofobisite, otoagregasyon, hemaglutinasyon gibi kesin karakterlerle belirlenmektedir (Darılmaz, 2010). Hidrofobisite, artmış hidrofobikliğe sahip olanların, hücre dışı matriks ile bakteri arasındaki iticiliğini azalttığı için, bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Shashikala ve ark., 2016). Polar özellik taşımayan moleküllerin sıvı ortamda kendiliğinden bir araya gelme eğilimi 'hidrofobik etkileşim' olarak isimlendirilmektedir. Bu etkileşimin arkasındaki itici güç, hidrofobik grupların etrafını çevreleyen su moleküllerinin yer değiştirmesinden kaynaklanan entropi artışıdır (Mehrnia ve ark., 2014). Hidrofobik etkileşimlerin biyolojik sistemlerdeki en büyük önemi, mikroorganizmaların yüzeylere tutunmasını ve burada çoğalıp enfeksiyonlara neden olmasını kolaylaştırmasıdır. *Slime* oluşturan mikroorganizmalar ile kronik enfeksiyonların ilişkili olduğu ve bu mikroorganizmaların ortamdaki temizlenmesinin zor olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Ay ve ark., 2010). Mikroorganizmanın biyofilm oluşturabilme kabiliyeti, organizmaların hayatta kalmaları ve antibiyotikleri uzaklaştırmaları için koruyucu bir ortam oluşturmaları ve bu tür biyofilmlerin DAÜ'leri gibi birçok kronik enfeksiyonun ana sebebi olması nedeniyle önemli bir virülans faktörüdür (Shashikala ve ark., 2016).

Mikroorganizmayı oluşturan bazı yapılar, örneğin hücre duvarı, fimbria, bazı lipid bileşikler, lipoteikoik asit ve dış zarda yer alan fosfo-lipidler hidrofobik

özelliktir (Hall-Stoodley ve Stoodley, 2005). Bazı mikroorganizmalarda hidrofobik etki ile enfeksiyon arasındaki ilişki gösterilmiş olup, *S. aureus* suşlarının bazılarının da üretildikleri besiyerine hidrofobik özellikte maddeler salgıladığı bildirilmiştir (Hall-Stoodley ve Stoodley, 2005).

Yapılan çalışmalarda, biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarının, oluşturmeyen suşlara göre daha hidrofobik olduğu bildirilmektedir (Catalanotti ve ark., 2005). Ay ve ark.'ları (2010) yaptıkları çalışmalarda, biyofilm oluşturan izolatların daha hidrofobik olduğu, bununla birlikte biyofilm oluşturan suşlar içinde hidrokarbona orta derecede ya da sıkı olarak bağlanan farklı fraksiyonlar bulunduğunu saptamışlardır.

Malm ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada *S. aureus* ve KNS dahil toplanan 314 stafilokok suşu sağlıklı insanların nazofarenks veya cildinden izole edilmiştir. Ve *slime*-negatif izolatların genellikle hidrofobik hücre yüzeyine sahip iken, *slime*-üreten KNS suşlarının çoğunun hidrofilik hücre yüzey özelliği gösterdiği bulunmuştur. KNS izolatları ve *S. aureus* sırasıyla % 72,7 ve % 83,1 hidrofilik hücre yüzeyi göstermiştir. Hidrofobik hücre yüzeyli suşların, *S. aureus* izolatlarına göre KNS izolatları arasında daha sıklıkla izole edilmiş olduğu ve sırasıyla % 11,6 , % 1,4 özellikle kuvvetli hidrofobik hücre yüzeyine sahip olan suşlar oldukları bildirilmiştir (Malm ve ark., 2005). Sudağıdan ve ark. (2010) *S. epidermidis* suşlarıyla yaptıkları çalışmalarında çözücü olarak kullanılan toluen hidrokarbonuna karşı hidrofobisite değerlerinin % 2,5-86 arasında değiştiğini ve biyofilm oluşturan ve oluşturmeyen suşların gerek kendi içlerinde gerekse gruplar arasında hidrofobisite değerleri arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir.

S. aureus hücre zarı karakteristik olarak hidrofobik niteliktedir (Reifsteck ve ark., 1987). Bakteri hücre yüzeyinin hidrofobisitesi ne kadar yüksek ise konuk hücre yüzeyine tutunması o kadar yüksek olur (Kos ve ark., 2003).

Hidrokarbona mikrobiyal tutunma (hidrofobisite) testi sonuçlarımıza göre; 37 izolat (%68,5) orta hidrofobik, 9 izolat (%16,7) güçlü hidrofobik ve 8 izolat (%14,8) hidrofilik olarak belirlenmiştir. MRSA suşlarının ise ; %66,7'si (n:14) orta hidrofobik, %19'u (n:4) hidrofilik, %14,3'ü (n:3) ise güçlü hidrofobik olarak bulundu.

Literatür çalışmaları kıyaslandığında, hidrofobisite yeteneğinin türe ve suşa göre değişken olduğu görülmektedir. Ayrıca, genetik olarak yakın türler ve hatta aynı türün farklı suşları arasında bile hidrofobisite yeteneklerinin değişiklik gösterdiği

bildirilmektedir (Schar-Zammaretti ve Ubbink, 2003; Peres ve ark., 2014; Abdou, 2014).

Tez çalışmamız diyabetik ayak yaralarından izole edilen *S. aureus* suşlarının %85,2 oranında hidrofobik olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu tez çalışması ile yapılan literatür kaynaklarına göre, diyabetik ayak yaralarından izole edilen biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarında hidrofobisite özelliği yeni tespit edilmiştir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabetik ayak enfeksiyonlarında genel olarak *S. aureus* en sık karşılaşılan gram pozitif etkindir. Bu çalışmada diyabetik ayak yaralarından izole edilen *S. aureus* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları, biyofilm oluşturma ve hidrofobisite özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1. Çalışmaya diyabetik ayak yarası olan gönüllü 100 hasta dahil edilerek, %66'sının erkek, %34'ünün kadın olduğu ve yaş ortalamalarının sırasıyla 57,8 ve 54,9 olduğu belirlenmiştir. Hastaların açlık kan şekeri (AKŞ) ve HbA1c değer ortalamaları ise sırasıyla 216 mg/dl ve % 10,4'dür. Yüksek kan glikozu ve HbA1c seviyesi DAE'u komplikasyon riskini arttırmaktadır. Bu nedenle kan glikoz ve HbA1c seviyesini uygun değerlerde tutulması son derece önemlidir.

2. Diyabetik ayak yarası bulunan hastalardan alınan örneklerden 85 stafilokok etkeni izole edilmiş ve *S. aureus* sıklığı %63,5 olarak bulunmuştur. KNS (%36,5) örnekleri diğer çalışmalara dahil edilmemiştir. DAE'una neden olan tüm mikrobiyal etkenlerin doğru şekilde tanımlanması, tedavi yaklaşımında önemlidir. Bu yüzden, diğer Gram (-) ve anaerob etkenlerin de dikkate alındığı ileriye dönük çalışmalar yapılabilir.

3. 54 *S. aureus* izolatlarının, tümü vankomisine duyarlı ve %38,8'i metisiline dirençli bulunurken; penisilin G (%96,3), ampisillin (%94,4), oksasilin (%64,8), eritromisin (%59,3), rifampisin (%57,4), amoksisilin/klavulanik asit (%53,7), siprofloksasin (%50), sefoksitin (%48,1), tetrasiklin (%38,9), gentamisin (%31,5) ve sülfametoksazol/trimetoprim (%22,2) ise değişen oranlarda direnç gösterdiği belirlenmiştir. Yapılacak yeni çalışmalarla metisilin direncinin genotipik olarak da ortaya konması gereklidir. Ayrıca, diyabetik ayaktan izole edilen stafilokok suşlarının direnç durumlarının sürekli olarak izlenmesini önermekteyiz.

4. Çalışmamızda en fazla çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) fenotipleri OXA-FOX-AM-RA-TE-E-P-CN-AMC-CIP-SXT için % 11,1 olarak bulunmuştur. Çoklu antibiyotik direncinin DAE'lu hastalarda iyileşmeyi zorlaştırdığı ve amputasyonu arttırdığı bilinmektedir. Alternatif tedavinin bulunması iyileşmenin hızlanması yönünde fayda sağlayacaktır.

5. Kronik yaralarda birincil engel biyofilm oluşumudur. Çalışmamızda, diyabetik ayak yaralarından izole edilen *S. aureus*'ların yüksek oranda biyofilm ürettiği, biyofilm oluşumunun *S. aureus* enfeksiyonlarında önemli bir virülans faktörü olduğu, kantitatif MP yönteminin biyofilm oluşumunu saptamada pratik ve güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Stafilokoklarda biyofilm oluşumundan sorumlu pek çok gen bulunmakla birlikte, ileriki çalışmalarda bu genlerin araştırılmasının biyofilm oluşumunu daha açıklayıcı olabileceği görüşündeyiz.

6. Taramalı elektron mikroskobu (SEM), D83 izolatının oluşturduğu biyofilm yapısını göstermek için çalışmaya destek sağlayabilmek amacıyla kullanılmıştır. D83 izolatının 24 saat sonunda oluşturduğu biyofilm yapısı SEM görüntüleriyle de doğrulanmıştır.

7. Konak hücre yüzeyine adezyonda bakteri hücre yüzeyinin hidrofobisitesi önem taşır. Çalışmamızda diyabetik ayak yaralarından izole edilen biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarında hidrofobisite özelliği yeni tespit edilmiştir. *S. aureus* izolatlarının p-ksilen hidrokarbonuna tutunmaları (hidrofobisite) yüzde olarak belirlenmiş ve değerlerin % 7,72-83,3 oranında değiştiği görülmüştür. Buna göre; 37 suş orta hidrofobik, 9 suş güçlü hidrofobik, 8 suş hidrofilik bulunmuştur. Hidrofobisite değerlerindeki farklılığın ekstrasellüler polimerik maddeden (EPS) kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapışmaya yardımcı olan hidrofobisitenin daha iyi anlaşılabilmesi için, farklı hidrokarbonlar kullanılması ve EPS yapılarının çalışılması da önerilmektedir.

Sonuç olarak; her geçen gün sıklığı artan DAE'unun tanı ve takibinde, elde edilen verilerin paylaşılması, ülkemizdeki etiyolojinin bilinmesi, etken mikroorganizmaların saptanması ve patojenitiyle ilgili biyolojik özelliklerinin ortaya konması doğru tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu çalışmanın antibiyogram sonuçları, antibiyotik tedavisinin hemen başlanması gerekli durumlarda antibiyogram yapacak imkan ve zaman yoksa fikir verebileceğinden, ampirik tedavide uygun antibiyotik seçiminde rehberlik edebilir.

KAYNAKLAR

- Abbas, I., Omer, A.F., Ali, H., 2015. Detection of Cefoxitin Resistant *Staphylococcus aureus* in Khartoum Hospitals, Sudan, 2011. **American Journal of Research Communication**, 3(1): 73-83.
- Abbas, H.A., El-Sayed M.A., Al-Kadi L.M., Gad Amany, I., 2014. Diabetic foot infections in Zagazig University Hospital: bacterial etiology, antimicrobial resistance and biofilm formation. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, 7(7): 783-788.
- Abd El-Aziz, A., El-Banna, T., Abo-Kamar, A., Ghazal, A., AboZahra, R., 2010. In vitro and in vivo activity of some antibiotics against Staphylococcal biofilm and planktonic cells isolated from diabetic foot infections. **Journal of American Science**, 6(12).
- Abdou, M., 2014. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgarius* türüne ait suşların EPS üretimlerinin agregasyon özellikleri üzerine etkisinin ve hidrofobisiteslerinin araştırılması. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Abdulrazak, A., Bitar, Z.I., Al-Shamali, A.A., Mobasher, L.A., 2005. Bacteriological study of diabetic foot infections. **J. Diabetes Complications**, 19(3): 138-141.
- Açar, K.G., 2006. Diabetik ayakta tedavi yaklaşımları ve Wagner sınıflamasının tedaviyi yönlendirmedeki rolü. T.C. Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Cerrahi Kliniği Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Ahmad, J., Noor, S., Zubair, M., 2015. Diabetes & Metabolic Syndrome. **Clinical Research and Reviews**, 35-1(15): 1871-4021.
- Akan, M., 2006. Staphylococcus infeksiyonları. **Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)**. İlke Emek Yayınları, Ankara.
- Akçay, S., Satoğlu, İ.S., Kurtulmuş, A., Harman, E., Erpala, F., 2013. HbA1c'nin diyabetik ayak ülseri iyileşmesindeki prognostik önemi. **Fırat Tıp Dergisi**, 18: 48-50.
- Akdemir, N., Birol, L., 2005. Diyabetes Mellitus. Sistem Ofset Basım Yayım, 708-729, Ankara.
- Akhi, M.T., Ghotaslou, R., Asgharzadeh, M., Varshochi, M., Pirzadeh, T., Memar, M.Y., Bialvaei, A.Z., Yarijan Sofla, H.S., Alizadeh, N., 2015. Bacterial etiology and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infections in Tabriz, Iran. **GMS Hygiene and Infection Control**, 10: 1-6.
- Akıncı, E., 2005. Diyabetik Ayak İnfeksiyonu. **Klinik Dergisi**, 18(1): 6 – 7.
- Al Benwan, K., Al Mulla, A., Vincent, O., 2012. Rotimic A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait. **Journal of Infection and Public Health**, 5: 1-8.
- Albrant, D.H., 2000. Management of foot ulcers in patients with Diabetes. **J. Am. Pharm. Assoc.**, 40: 467 – 74.
- Al-Gadaa, A.H., Alkadi, A., Saleh, E., 2015. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and its biofilm in persistent diabetic foot ulcer in qassim region. **Life Science Journal**, 12(2): 1-8.
- Al-Talib, H., Yean, C.Y., Al-khateeb, A., Singh, K.B., Hasan, H., Al-Jashamy, K., Ravichandran, M., 2010. Comparative evaluation of five culture media with triplex PCR assay for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Curr Microbiol.**, 61(1): 1-6.
- Altındaş, M., 2002. Diyabetik Ayak. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

- American Diabetes Association, 2011. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, 34(1): 11–61.
- American Diabetes Association Clinical Practice Recommendation, 2003. Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care**, 26: 106–108.
- Apelqvist, J., Larsson, J., 2000. What is the most effective way to reduce incidence of amputation in the diabetic foot? **Diabetes Metab. Res. Rev.**, 16: 75-83.
- Appelbaum, P.C., 2007. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Clin. Infect. Dis.**, 45(3): 165- 170.
- Arciola, C.R., Baldassarri, L., Montanaro, L., 2001. Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of Staphylococcal strains from catheter-associated infections. **J. Clin. Microbiol.**, 39: 2151–2156.
- Arda, M., Aydın, N., Ilgaz, A., Minbay, A., Kahraman, M., İzgür, M., Leloğlu, N., Akay, Ö., Diker, K.S., 1997. “Özel Mikrobiyoloji” Medisan Yayın Serisi, 26(4), 39-44, Ankara.
- Arıkan, Y., Kuzgun, Ü., Sever, C., Armağan, R., 2010. Diyabetik ayak yarası olan hastalara multidisipliner yaklaşımda ortopedinin yeri. **Ş.E.E.A.H. Tıp Bülteni**, 44: 106-112.
- Armstrong, D.G., Liswood, P.J., Todd, W.F., 1995. William J. Stickel Bronze Award. Prevalence of mixed infections in the diabetic pedal wound. A retrospective review of 112 infections. **J. Am. Podiatr Med. Assoc.**, 85: 533-537.
- Armstrong, D.G., Lipsky, B.A., 2004. Advances in the treatment of diabetic foot infections. **Diabetes Technology & Therapeutics**, 6(2): 167-177.
- Aslan, Ö., 2005. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* kökenlerinde slime üretiminin fenotipik ve genotipik olarak saptanması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Ata, N., 2009. Diyabetik ayak enfeksiyonları tedavisinde risk faktörleri ve mikrobiyolojik tanının önemi. Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Ankara.
- Ataol, Ö., 2011. Gıda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus*’larda biyofilm oluşumu ve antibiyotik dirençliliğinin araştırılması. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Ay, S., Güldür, T., Tekerekoğlu, M.S., Otlı, B., 2010. Biyofilm oluşturan ve oluşturmayan *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarının hidrofobik özelliklerinin araştırılması. **Mikrobiyol. Bul.**, 44: 221-230.
- Aydın, N., Gültekin, B., Eyigör, M., Gürel, M., 2001. Klinik örneklerimizden izole edilen Stafilokokların Antibiyotik Direnci, **ADÜ Tıp Fak. Dergisi**, 2(3): 21-26.
- Baktıroğlu, S., 2012. Diyabetik ayak enfeksiyonları: genel bilgiler ve cerrahi tedavi. **Ankem Derg.**, 26: 204-211.
- Bania, J., Dabrowska, A., Bystron, J., Korzekwa, K., Chrzanowka, J., Molenda, J., 2006. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. **International Journal of Food Microbiology**, 108: 36-41.
- Banu, A., Noorul Hassan, M.M., Rajkumar, J., Srinivasa, S., 2015. Spectrum of bacteria associated with diabetic foot ulcer and biofilm formation: A prospective study. **AMJ**, 8(9): 280–285.
- Bannerman T.L., 2003. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. (P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller,

- R.H. Yolken, eds). **Manual of clinical microbiology**. 8. Baskı, ASM Press, 396-397, Washington, DC.
- Bayhün, S., 2008. Klinik ve gıda kaynaklı örneklerden izole edilen *S. aureus*'un antibiyotik diren ililiklerinin karşılaştırılması ve beta-laktamaz aktivitelerinin değerlendirilmesi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Bayraktar, B., Yildiz, D., Bulut, E., 2004. *Staphylococcus aureus*'un identifikasyonunda kullanılan üç metodun değerlendirilmesi. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi**, 34: 211-214.
- Becker, K., von Eiff, C., 2011. Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase-Positive cocci. (J. Versalovic, K. Carroll, G. Funke, J. Jorgensen, M. Landry, D. Warnock. Edition). In: **Manuel of clinical microbiology**. ASM Press, p 308-330. Washington, DC.
- Bennett, R., 2013. *Staphylococcus aureus*. USA: John Wiley and Sons.101-253.
- Bezirgan, S., 2010. Diyabetik ayakta enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Alan tezi, İzmit.
- Bilgehan, H., 1990. Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları.1. Baskı. Barış yayınları, 185-203, Konya.
- Bilgehan, H., 2000. Gram olumlu koklar.   inde: **Klinik Mikrobiyoloji  zel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları**, Fakülteler Kitabevi, 239-268, İzmir.
- Biswas, S., Rani, K.D., Mukherjee, P., Ghosh, C., 2010. Pathogenic *Staphylococcus aureus* isolates from postoperative wounds of hospitalized patients. **Journal of Medical Sciences**, 2(1): 1-10.
- Brem, H., Sheehan, P., 2006. Evidence based protocol for diabetic foot ulcers. **Plast. Reconstr. Surg.**, 117(1): 193-209.
- Bridges, R.M., Deitch, E., 1994. Diabetic foot infections. **Surg. Clinic. North. Am.**, 74: 537-555.
- Bostanoğlu, S., Erverdi, N., Karabulut, Z., 2000. Diyabetik ayak ve amputasyonu: Risk faktörleri ve risk skorlamasının  nemi. ** nsizyon Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi**, 3: 201-206..
- Boulton, A.J., Vileikyte, L., Ragnarson-Tennvall, G., Apelqvist, J., 2005. The global burden of diabetic foot disease. **The Lancet**, 366: 1719-1724.
- Boyle-Vavra, S., Daum, R.S., 2007. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: The role of Pantone-Valentine leukocidin. **Lab Invest**, 87(1): 3-9.
- Bozkurt, F., Tekin, R.,  elen, M.K., Ayaz, C., 2011. Diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda Wagner sınıflaması ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesi. **Dicle Tıp Dergisi**, 38 (1): 31-34.
- Bozkurt, F., Tekin, R.,  elen, M.K., Ayaz, C., 2012. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında tedavi yaklaşımı. **Konuralp Tıp Dergisi**, 4(2): 15-19.
- Caballero, E., Frykberg, R.G., 1998. Diabetic foot infections. **J. Foot Ankle. Surg.**, 37: 248-255.
- Caputo, G.M., Cavanagh, P.R., Ulbrecht, J.S., Gibbons, G.W., Karchmer, Adolf.W., 1994. Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. **N. Engl. J. Med.**, 331: 854-860.
- Carbonnelle, E., Beretti, J.L., Cottyn, S., Quesne, G., Berche, P., Nassif, X., 2007. Rapid identification of Staphylococci isolated in clinical microbiology

- laboratories by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. **Journal of Clinical Microbiology**, 45(7): 2156-2161.
- Carvalho, C.B., Neto, R.M., Araçao, L.P., Oliveira, M.M., Noqueira, M.B., Forti, A.C., 2004. Diabetic foot infection. bacteriologic analysis of 141 patients. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, 48(3): 398-405.
- Catalanotti, P., Lanza, M., Del Prete, A., Lucido, M., Catania, M.R., Gallè, F., Boggia, D., Perfetto, B., Rossano, F., 2005. Slime producing *Staphylococcus epidermidis* and *S. aureus* in acute bacterial conjunctivitis in soft contact lens wearers. **New Microbiol.**, 28: 345-54.
- CDC., (Centers For Disease Control And Prevention), 2002. *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin-United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 51(26): 565-567.
- CDC., (Centers For Disease Control And Prevention), 2015. Notes from the field: Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus* –Delaware. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, 64(37): 1056.
- Cengiz, A.T., 1999. *Staphylococcus*. **Temel ve Klinik Mikrobiyoloji**, 1. Baskı. (S. Ustaçelebi Ed.). Güneş Kitabevi, 339-349, Ankara.
- Chakraborty, S.P., Mahapatra, S.K., Roy, S., 2011. Biochemical characters and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 1(3): 212-216.
- Chambers, H.F., 2001. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. **Emerg. Infect. Dis.**, 7(2): 178-181.
- Chand, G., Mishra, A.K., Kumar, S., Agarwal, A., 2012. Diabetic foot. **Clinical Queries: Nephrology**, 1: 144-150.
- Choi, N.Y., Bae, Y.M., Lee, S.Y., 2015. Cell surface properties and biofilm formation of pathogenic bacteria. **Food Sci. Biotechnol.**, 24(6): 2257-2264.
- Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barrett, F.F., Melton, D.M., Beachey, E.H., 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. **J. Clin. Microbiol.**, 22(6): 996-1006.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standart Institute. Seventeenth informational supplemt, M100- S22, Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-third Informational Supplement. Document M100-S23, Wayne, PA.
- Cloete, E., Molobela, I., Van Der Merwe, A., Richards, M., 2009. Biofilms in the food and beverage industries: An introduction. (P.M. Fratamico, B.A. Annous, N.W. Guenther, eds.). In: **Biofilms in the food and beverage industries**. CRC Press Inc., pp. 1-41, Boca Raton, FL, USA.
- Citron, M.D., Goldstein, E.J., Merriam, C.V., Lipsky, B., Abramson, A.M., 2007. Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents, **J. Clin. Microbiol.**, 45(9): 2819-2828.
- Costerton, J.W., Cheng, K.J., Geesey, G.G., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M., Marrie, T.J., 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. **Annu. Rev. Microbiol.**, 41: 435-64.

- Culos, K.A., Cannon, J.P., Grim, S.A., 2011. Alternative agents to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Am. J. Ther.**, 2164-2833.
- Culos, K.A., Cannon, J.P., Grim, S.A., 2013. Alternative agents to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Am. J. Ther.**, 20(2): 200-212.
- Çalışkan, E., Öztürk, C., Şahin, İ., 2013. *Staphylococcus aureus* suşlarında sodyum klorürlü mueller hinton agar kullanımının metisilin direncini saptamadaki etkinliği. **Dergi Park**, 3(1): 10-12.
- Çavusoğlu, Z.B., 2012. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarından elde edilen bakteriyofajlarda bulunan *scin*, *chips*, *Sei*, *sek* toksin genlerinin varlığının PZR ve Southern Blot yöntemi ile kıyaslanması. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Çiftçi, Z., 2005. Kronik tonsillitte biofilmin rolü. T.C. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Kliniği, Uzmanlık Tezi.
- Dang, C.N., Prasad, Y.D., Boulton, A.J., Jude E.B., 2003. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the diabetic foot clinic: a worsening problem. **Diabetic Medicine**, 20: 159–161.
- Darılmaz, D.Ö., 2010. Geleneksel türk peynirlerinde propiyonik asit bakteri türlerinin belirlenmesi ve bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- De la Rosa-Ramos, M.A., Rodríguez-Cruz, M., López-Villegas, E.O., Castro-Escarpulli, G., Guerra-Infante, F.M., 2015. Conditions that induce biofilm production by *Ornithobacterium rhinotracheale*. **Avian Pathol**, 44: 366-369.
- Demir, C., 2008. Subklinik mastitisli sığır sütlerinden izole edilen *Staphylococcus* izolatlarında biyofilm üretiminin Araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.
- Demirci, H., Kalan Sarı, I., Kevlekçi, C., Küçüköyük, İ., Özdemir, K., Öztürk, B.Y., Arslan, M., 2016. Diyabetik ayak ülserlerine eşlik eden cilt lezyonlarının sıklığı ve Wagner sınıflaması ile ilişkisi. **GMJ**, 27: 104-106.
- Dhanasekaran, G., Sastry, G., Viswanathan, M., 2003. Microbial pattern of soft tissue infections in diabetic patients in South India. **Asian J. Diabet.**, 5: 8-10.
- Di Ciccio, P., Vergara, A., Festino, A.R., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Ianieria, A., 2015. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on food contact surfaces: relationship with temperature and cell surface hydrophobicity. **Food Control**, 50: 930–936.
- Dinççağ, A., Baktıroğlu, S., Dinççağ, N., 1999. Diyabetik ayak; Amputasyon önlenbilir mi? **İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası**, 62: 1-11.
- Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, M., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clin. Microbiol. Rev.**, 13: 16–34.
- Dizbay, M., 2010. Diyabetik ayak infeksiyonları. **Ankem Derg.**, 24: 144-9.
- Dowd, S.E., Wolcott, R.D., Sun, Y., McKeenan, T., Smith, E., Rhoads, D., 2008. Polymicrobial nature of chronic diabetic foot ulcer biofilm infections determined using bacterial tag encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). **PLoS ONE**, 3(10): e3326.
- Dunning, T., Ward, G., 2009. Uzun dönem komplikasyonlar. (H.H. Hatemi, editör). İçinde: **Diyabette Klinik Sorunların Bakım ve Gözetimi**. 1. Baskı. 121 Medikal Yayıncılık, 121-143, İstanbul.

- Dündar, V., Öztürk Dündar, D., 2002. Stafilocok infeksiyonları. (A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay). **İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi**. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, s. 1515-1516, İstanbul.
- Dündar, V., Öztürk Dündar, D., 2008. Stafilocok enfeksiyonları. (A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay, Ed.) **Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi**. Cilt 2. Nobel Tıp Kitabevleri, 3: 2065- 2077, İstanbul.
- Elizur, A., Orscheln, R.C., Ferkol, T.W., Atkinson, J.J., Dunne, W.M., Buller, R.S., Armstrong, J.R., Mardis, E.R., Storch, G.A., Cannon, C.L., 2007. Panton-Valentine leukocidin methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in patients with cystic fibrosis. **Chest**, 131(6): 1718- 1725.
- Erdem, B., Gerçek, D., Erler, F., 1995. Hastane personelinin boğaz ve burun kültüründen izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında kristal-viyole reaksiyonu. **İnfeksiyon Derg.**, 1(2): 11-17.
- Erol, İ., 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif matbaacılık, Ankara.
- Ertuğrul, M.B., 2010. Diyabetik ayak infeksiyonları. **Türkiye Klinikleri Genel Cerrahi Özel Dergisi**, 3(1): 46-56.
- Ertuğrul, M.B., Baktıroğlu, S., 2005. Diyabetik ayak ve osteomyeliti, **Klinik Derg.**, 18(1): 8-13.
- Ertuğrul, M.B., 2003. Diyabetik ayak infeksiyonlarında kemik dokudan ve yumuşak dokudan izole edilen infeksiyon etkeni mikroorganizmaların karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Esen, N., Köksalan, H., Mert, A., 1992. *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. **ANKEM Derg.**, 6: 149.
- Finks, J., Wells, E., Lee Dyke, T., Husain, N., Plizga, L., Heddurshetti, R., Wilkins, M., Rudrik, J., Hageman, J., Patel, J., Miller, C., 2007. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Michigan, USA.
- Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Rood, J.I., 2006. Gram-positive pathogens. **New York: American Society For Microbiology Press.**, 1-300.
- Fitzpatrick, F., Humphreys, H., O’Gara, J.P., 2005. The genetics of staphylococcal biofilm formation will a greater understanding of pathogenesis lead to better management of device-related infection? **Clin. Microbiol. Infect.**, 11: 967-973.
- Forsgren, A., Ghetie, V., 1983. Protein A and its exploitation-Staphylococcal infection. **Academic Press London**, 12: 429-480.
- Fosse, S., Hartemann-Heurtier, A., Jacqueminet, S., Ha Van, G., Grimaldi, A., Fagot-Campagna, A., 2009. Incidence and characteristics of lower limb amputations in people with diabetes. **Diabet Med.**, 26: 391–396.
- Freeman, D.J., Falkner, F.R., Keane, C.T., 1989. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. **J. Clin. Pathol.**, 42(8): 872-874.
- French, G.L., 1987. Infection in the Diabetic Foot. **The Hong Kong Practitioner**, 9 (8).
- Frykberg, R.G., Armstrong, D.G., Giurini, J., Edwards, A., Krawette, M., Kravitz, S., Ross, C., Stavosky, J., Stuck, R., Vanore, J., 2000. Diabetic foot disorders: A clinical practice guideline. **The Journal of Foot and Ankle Surgery**, 39(5): 1-60.
- Fuda, C.C., Fisher, J.F., Mobashery, S., 2005. Beta-lactam resistance in *Staphylococcus*

- aureus*: the adaptive resistance of a plastic genome. **Cell Mol. Life Sci.**, 62: 2617-2633.
- Fujishige, N.A., Kapadia, N.N., Hirsch, A.M., 2006. A feeling for the microorganism: structure on a small scale. Biofilms on plant roots. **Bot. J. Linnean Soc.**, 150 (1): 79- 88.
- Gadepalli, R., Dhawan, B., Sreenivas, V., Kapil, A., Ammini, A.C., Chaudhry, R.A., 2006. A clinico-microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital. **Diabetes Care**, 29(8): 1727-1732.
- Gallardo-Moreno, A.M., González-Martín, M.L., Pérez-Giraldo, C., Bruque, J.M., Gómez-García, A.C., 2002. Serum as a factor influencing adhesion of *Enterococcus faecalis* to glass and silicone. **Appl. Environ. Microb.**, 68: 5784-5787.
- Gariani, K., Uckay, I., Lipsky, B.A., 2014. Managing diabetic foot infections: a review of new guidelines. **Acta. Chir. Belg.**, 114: 7-16.
- Ge, Y., MacDonald, D., Hait, H., Lipsky, B., Zasloff, M., Holroyd, K., 2002. Microbiological profile of infected diabetic foot ulcers. **Diabet Med.**, 19(12): 1032-1034.
- Ghannoum, M., O'Toole, G.A., 2004. Microbial biofilms. **USA: American Society for Microbiology Press**, 300-380.
- Gibbs, P.A., Patterson, J.T., Thompson, J.K., 1978. Characterization of poultry isolates of *Staphylococcus aureus* by a new set of poultry phages. **J. Appl. Bacteriol.**, 44(3): 387-400.
- Goetz, F., 2002. Staphylococcus and biofilms. **Mol. Microbiol.**, 43: 1367–1378.
- Gökel, Y., 1996. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında etyoloji, tedavi ve prognoz. Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Adana.
- Griffiths, G.D., Wieman, T.J., 1992. Meticulous attention to foot care improves the prognosis in diabetic ulceration of the foot. **Surg. Gynecol. Obstet.**, 174: 49-51.
- Gröbner, S., Dion, M., Plante, M., Kempf, V.A., 2009. Evaluation of the BD GeneOhm StaphSR assay for detection of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from spiked positive blood culture bottles. **J. Clin. Microbiol.**, 47(6): 1689-94.
- Gülay, Z., Atay, T., Yuluğ, N., 1998. *Staphylococcus aureus* suşlarında vankomisin direncinin araştırılması. **ANKEM Derg.**, 12: 101.
- Gülbandılar, A., 2009. Kütahya yöresinde burun mukozasındaki *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması. **Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, 18: 1-6.
- Gülhan, B., Bilek, H., Onur, A., Gül, K., 2007. Metisiline dirençli stafilokoklarda linezolid, vankomisin ve bazı antibiyotiklere direnç. **Ankem derg.**, 21(4): 214-218.
- Gün, İ., Ekinci, F.Y., 2009. Biyofilmler: Yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. **Gıda**, 34 (3): 165-173.
- Güner, A., 2005. Diyabetik hastaların diyabetik ayak ile ilgili bilgi ve tutumlarının irdelenmesi ve HbA1c'nin diyabetik ayak ile ilişkisi. T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Gündeş, S., Yuluğkural, Z., 2007. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'un etken

- olduğu diyabetik ayak enfeksiyonlarında teikoplaninin etkinliği. **Ankem Derg.**, 21(3): 184-187.
- Güneşer, D., 2009. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında makrolid grubu antibiyotiklere direnç mekanizmalarının araştırılması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, **Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Jayaraman, A., Wood, T.K., 2008. Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. **Annual Review Biomedical English**, 10: 145-167.
- Jeffcoate, W.J., Harding, K.G., 2003. Diabetic foot ulcers. **Lancet**, 361: 1545-1551.
- Jessen, B., Lammert, L., 2003. Biofilm and disinfection in meat processing plants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 51(4): 265-269.
- Jung, N., Lehmann, C., Hellmann, M., Seifert, H., Valter, M.M., Hallek, M., Fatkenheuer, G., Kochanek, M., 2008. Necrotizing pneumonia caused by Panton-Valentine leucocidin- producing *Staphylococcus aureus* originating from a Bartholin's abscess. **Infect. Dis. Obstet. Gynecol.**, 1- 5.
- Hacıbektaşoğlu, A., Eyigün, C.P., Özsoy, M.F., 1993. Gıda elleycilerinde burun ve boğaz portörlüğü, **Mikrobiyoloji Bülteni**, 27: 62-70.
- Hall-Stoodley, L., Stoodley, P., 2005. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. **Trends Microbiol.**, 13: 7-10.
- Hartemann-Heurtier, A., Robert, J., Jacqueminet, S., Ha Van, G., Golmard, J.L., Jarlier, V., Grimaldi, A., 2004. Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: risk factors and impact. **Diabet Med.**, 21(7): 710-715.
- Hatipoğlu, M., Mutluoğlu, M., Uzun, G., Karabacak, E., Turhan, V., Lipsky, B.A., 2014. The microbiologic profile of diabetic foot infections in Turkey: a 20-year systematic review: diabetic foot infections in Turkey. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 33(6): 871-878.
- Hatipoğlu, M., Mutluoğlu, M., Turhan, V., Uzun, G., Lipsky, B.A., 2016. Causative pathogens and antibiotic resistance in diabetic foot infections: A prospective multi-center study. **Journal of Diabetes and its Complications**, 30(5): 910–916.
- Hauck, C.R., Agerer, F., Muenzner, P., Schmitter, T., 2006. Cellular adhesion molecules as targets for bacterial infection. **Eur. J. Cell Biol.**, 85: 235-242.
- Hawkey, P.M., 2008. The growing burden of antimicrobial resistance. **J. Antimicrob. Chemother.**, 62(1): 1-9.
- Haznedaroğlu, T., 2007. Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA), Korunma ve Kontrol. GATA Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Ankara.
- Heilmann, C., Schweitzer, O., Gerke, C., Vanittanakom, N., Mack, D., Götz, F., 1996. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. **Mol. Microbiol.**, 20: 1083–1091.
- Hepsert, A.S., 2009. Eritromisin dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklarda indüklenebilir MLSB direncinin araştırılması. T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- Hill, S.L., Hotzman, G.I., Buse, R., 1999. The effect of peripheral vascular disease with osteomyelitis in the diabetic foot. **Am. J. Surg.**, 177: 282-286.
- Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C., 1997. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **J. Antimicrob. Chemother.**, 40(1): 135-136.

- Holden, M.T., Feil, E.J., Lindsay, J.A., Peacock, S.J., Day, N.P., Enright, M.C. Foster, T.J., Moore, C.E., Hurst, L., Atkin, R., 2004. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 101(26): 9786-9791.
- Humphreys, H., 2002. Control of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals. An impossible dream? **J. Med. Microbiol.**, 51: 283–285.
- Humphrey, A.G., Dovvse, G.K., Thoma, K., 1996. Diabetes and nontraumatic lower extremity amputations. **Diabetes Care**, 19: 710-714.
- International Diabetes Federation(IDF), 2011. Global Diabetes Plan 2011-2021.
- International Diabetes Federation(IDF), 2013. (B. Brussels, ed.). IDF Diabetes Atlas.
- Ippolito, G., Leone, S., Lauria, F.N., Nicastrì, E., Wenzel, R.P., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the superbug. **Int. J. Infect. Dis.**, 14(4): 7-11.
- Izano, E.A., Amarante, M.A., Kher, W.B., Kaplan, J.B., 2008. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Appl. Environ. Microbiol.**, 74: 470–476.
- Kandemir, Ö., Şahin, E., Akbay, E., Gen, R., Ersöz, G., 2005. Diyabetik ayak ülserli olgularımızda çok ilaca dirençli mikroorganizmalar ve risk faktörleri. **Klimik Derg.**, 18(1): 277-278.
- Kandemir, Ö., Akbay, E., Şahin, E., Milcan, A., Gen, R., 2007. Risk factors for infection of the diabetic foot with multi-antibiotic resistant microorganisms. **Journal of Infection**, 54(5): 439-445.
- Karaahmetoğlu, G., 2015. Diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda mikrobiyolojik etkenlerin hasta sonlanım üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı, **Enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji uzmanlık dalı**, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Kanatlı, U., 2011. Diabetic foot infections (Diyabetik ayak enfeksiyonları). **TOTBİD Dergisi**, 10(4): 296-305.
- Kara, Z., Ormen, B., Turker, N., Vardar, İ., Ural, S., El, S., Kaptan, F., Demirdal, T., 2014. Diyabetik ayak enfeksiyonlarının klinik ve bakteriyolojik olarak değerlendirilmesi. **Klimik Dergisi**, 27(1): 21-25.
- Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu, K., 2000. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother**, 44: 1549-1555.
- Katz, D., Friedman, D., Ostrovski, E., Ravidd, D., Amramid, N., Avivid, D., Mengeshad, B., Zaidensteind, R., Lazarovitchf, T., Dadond, M., Marchaim, D., 2016. Diabetic foot infection in hospitalized adults. **J. Infect. Chemother.**, 22(3): 167-173.
- Kavitha, Y., Khaja Mohiddin S., 2014. Bacteriological profile of diabetic foot infections in a tertiary care teaching hospital. **Indian Journal of Basic and Applied Medical Research**, 3(4): 260-266.
- Khatri, G., Wagner, D.K., Sohnle, P.G., 2001. Effect of bone biopsy in guiding antimicrobial therapy for osteomyelitis complicating open wounds. **Am. J. Med. Sci.**, 321: 367-71.
- Kierek–Pearson, K., Karatan, E., 2005. Biofilm development in bacteria. **Adv. Appl. Microbial.**, 57: 79-111.

- Konaç, Y., 2006. Beyaz peynir örneklerinde *Staphylococcus aureus*'un farklı selektif besiyerlerinde sayımı ve tanımlanması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., 2006. Medical Bacteriology: taxonomy, morphology, physiology, and virulence. Colar Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6: 167-210.
- Konya, P., Demirtürk, N., 2017. The evaluation of diabetic Foot infection followed in our clinic for last three years. **Acta Med. Alanya**, 1(1): 11-14.
- Kos, B., Šušković, J., Vuković, S., Šimpraga, M., Frece, J., Matošić, S., 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. **Journal of Applied Microbiology**, 94: 981-987.
- Kouidhi, B., Zmantar, T., Hentati, H., Bakhrouf, A., 2010. Cell surface hydrophobicity, biofilm formation, adhesives properties and molecular detection of adhesins genes in *Staphylococcus aureus* associated to dental caries. **Microbial Pathogenesis**, 49: 14-22.
- Korkmaz, M., Şener, N., Bayram, E., Yılmaz, M., Çetinus, M.E., 2015. Diyabetik ayak yaraları ve klinik deneyimimiz. **Bakırköy Tıp Dergisi**, 11: 60-65.
- Kristian, S.A., Birkenstock, T.A., Sauder, U., Mack, D., Götz, F., Landmann, R., 2008. Biofilm formation induces C3a release and protects *Staphylococcus epidermidis* from IgG and complement deposition and from neutrophil-dependent killing. **J. Infect. Dis.**, 197(7): 1028-1035.
- Kumar, C.G., Anand, S.K., 1998. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. **Int. J. Food Microbiol.**, 42(1-2): 9-27.
- Kutlu, B.S., 2006. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci ve E- test ile vankomisin MİK değerlerinin araştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Lappin-Scott, H.M., Costerton, J.W., 2003. Microbial biofilms. Cambridge University Press, England.
- Lasa, I., Penades, J.R., 2006. Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. **Res. Microbiol.**, 157: 99-107.
- Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M., 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetic Molecular Research**, 2(1): 63-76.
- Lentino, J.R., Narita, M., Yu, V.L., 2008. New antimicrobial agents as therapy for resistant gram-positive cocci. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 27(1): 3-15.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Donato, A., Parrilli, M., 2006. The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. **Carbohydr Res.**, 341: 2456 – 2461.
- Levin, M.E., 1996. Foot lesions in patients with diabetes mellitus. **Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.**, 25: 447-462.
- Li, J., McLandsborough, L.A., 1999. The effects of the surface charge and hydrophobicity of *Escherichia coli* on its adhesion to beef muscle. **Int. J. Food Microbiol.**, 53(2-3): 185-193.
- Lina, G., Piemont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.O., Gauduchon, V., Vandenesch, F., Etienne, J., 1999. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and

- pneumonia. **Clin. Infect. Dis.**, 29: 1128-1132.
- Lipsky, B.A., 1999. A current approach to diabetic foot infections. **Curr. Infect. Dis. Rep.**, 1: 253-260.
- Lipsky, B.A., 2001. Infectious problems of the foot in diabetic patients. (J. H. Bowker, M. A. Pfeifer, editos.). In: **The diabetic foot**. p. 467-480, St. Louis, Mosby.
- Lipsky, B.A., Berendt, A.R., Deery, H.G., Embil, J.M., Joseph, W.S., Karchmer, A.W., LeFrock, J.L., Lew, D.P., Mader, J.T., Norden, C., Tan, J.S., 2004. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. **Clin. Infect. Dis.**, 39: 885-910.
- Lipsky, B.A., 2004. Medical treatment of diabetic foot infections. **CID.**, 39: 104–114.
- Lipsky, B.A., Berendt, A.R., Cornia, P.B., Pile, J.C., Peters, E.J., Armstrong, D.G., Deery, H.G., Embil, J.M., Joseph, W.S., Karchmer, A.W., Pinzur, M.S., Senneville, E., 2012. Infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. **Clin. Infect. Dis.**, 54(12): 132-173.
- Litzler, P.Y., Benard, L., Barbier-Freboung, N., Vilain, S., Jouenne, T., Beucher, E., Bunel, C., Lemeland, J.F., Bessou, J.P., 2007. Biofilm formation on pyrolytic carbon heart valves: influence of surface free energy, roughness, and bacterial species. **J. Thorac Cardiovasc Surg.**, 134(4): 1025-1032.
- Luo, G., Spellberg, B., Gebremariam, T., Bolaris, M., Lee, H., Fu, Y., French, S.W., Ibrahim, A.S., 2012. Diabetic murine models for *Acinetobacter baumannii* infection. **J. Antimicrob. Chemother.**, 67: 1439-1445.
- Luong, T.T., Lei, M.G., Lee, C.Y., 2009. *Staphylococcus aureus* Rbf activates biofilm formation in vitro and promotes virulence in a murine foreign body infection model. **Infect. Immun.**, 77: 335-340.
- Lowy, F.D., 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation**, 111(9): 1265.
- Mafu, A.A., Roy, D., Gonlet, J., Magny, P., 1990. Attachment of listeria monocytogenes to stainless steel, glass, polypropylene, rubber surfaces after short contact times. **J. Food. Prot.**, 53: 742–746.
- Malik, A., Mohammad, Z., Ahmad, J., 2013. The diabetic foot infections: Biofilms and antimicrobial resistance. **Diabetes Metab. Syndr.**, 7(2): 101-107.
- Malm, A., Biernasiuk, A., Los, R., Kosikowska, U., Juda, M., Korona-Glowniak, I., Górniewski, G., 2005. Slime production and cell surface hydrophobicity of nasopharyngeal and skin staphylococci isolated from healthy people. **Polish Journal of Microbiology**, 54(2): 117-121.
- Mangili, A., Bica, I., Snyderman, D.R., Hamer, D.H., 2005. Daptomycin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clin. Infect. Dis.**, 40(7): 1058-1060.
- Mantey, I., Foster, A.V., Spencer, S., Edmonds, M.E., 1999. Why do foot ulcers recur in diabetic patients? **Diabet Med.**, 16(3): 245-249.
- Mark, P., Slovenkai, M.D., 1998. Foot problems in diabetes. **Med. Clin. North. Am.**, 82: 949-971.
- Masako, K., Hideyuki, I., Shigeyuki, O., Zenro, I., 2005. A novel method to control the balance of skin microflora: Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. **Journal of dermatological science**, 38(3): 197-205.
- Maslow, J.N., Whittam, T.S., Gilks, C.F., Wilson, R.A., Mulligan, M.E., Adams, K.S., 1995. Colon relation ships among blood stream isolates of *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, 63: 2409-2417.

- McClure, J.A., Conly, J.M., Lau, V., Elsayed, S., Louie, T., Hutchins, W., Zhang, K., 2006. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Panton-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. **J. Clin. Microbiol.**, 44(3): 1141-1144.
- Mehrnia, L., Yüksekdağ, Z.N., Aslım, B., 2014. Anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilen lactobacillus türlerinin bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması. **Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi**, 12(1): 67-81.
- Meislin, F.A., Lerner, S.A., Graves, M.H., McGehee, M.D., Kocka, F.E., Morello, J.A., Rosen, R., 1977. Anaerobic and aerobic bacteriology and out patient management. **Ann. Intern. Med.**, (87): 145-149.
- Mottola, C., Mendes, J.J., Cristino, J.M., Cavaco-Silva, P., Tavares, L., Oliveira, M., 2016a. Polymicrobial biofilms by diabetic foot clinical isolates. **Folia Microbiol.**, 61: 35-43.
- Mottola, C., Matias, C.S., Mendes, J.J., Melo-Cristino, J., Tavares, L., Cavaco-Silva, P., Oliveira, M., 2016b. Susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* biofilms in diabetic foot infections. **BMC Microbiology**, 16: 119.
- Motor, S., Dokuyucu, R., Sevil, F., Rifaioglu, M.M., Yengil, E., Ulutaş, K.T., Sümbül, A.T., Rızaoglu, H., Üstün, İ., Gökçe, C., 2013. Diabetes mellituslu hemodiyaliz hastalarında HbA1c ile kan glukozu düzeyleri arasındaki ilişki. **Dicle Tıp Dergisi**, 40(4): 6.
- Moulik, P., Mtonga, R., Gill, G.V., 2003. Amputation and mortality in new-onset diabetic foot ulcers stratified by etiology. **Diabetes Care**, 26: 491-494.
- Müştak, H.K., Esendal, Ö.M., 2008. *Staphylococcus aureus* ekzotoksinleri. **Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi**, 2(1): 63-68.
- Nelson, E.A., O'Meara, S., Golder, S., Dalton, J., Craig, D., Iglesias, C., 2006. Systematic review of antimicrobial treatments for diabetic foot ulcers. **Diabetic Medicine**, 23(4): 348-359.
- Obst, U., Schwartz, T., Volkmann, H., 2006. Antibiotic resistant pathogenic bacteria and their resistance genes in bacterial biofilms. **The International Journal of Artificial Organs**, 29(4): 387-394.
- O'Gara, J.P., Humphreys, H., 2001. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. **J. Med. Microbiol.**, 50(7): 582-587.
- O'Gara, J.P., 2007. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiol. Lett.**, 270: 179-188.
- Oyibo, S.O., Jude, E.B., Tarawneh, I., Nguyen, H.C., Harkless, L.B., Boulton, A.J., 2001. A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: the Wagner and the University of Texas wound classification systems. **Diabetes Care**, 24: 84-88.
- Örmen, B., Türker, N., Vardar, İ., Coşkun, N.A., Kaptan, F., Ural, S., El, S., Türker, M., 2007. Diyabetik ayak infeksiyonlarının klinik ve bakteriyolojik değerlendirilmesi. **İnfeksiyon Dergisi**, 21(2): 65- 69.
- Özaydın, Ç., 2008. Metisilin dirençli *staphylococcus aureus*'ün etken olduğu diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda nazal MRSA taşıyıcılığının moleküler yöntemlerle araştırılması. Düzce Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Düzce.
- Özaydın, Ç., Özaydın, İ., Acar, S., Yavuz, T.M., Öksüz, Ş., Şahin, İ., Yıldırım, M.,

- Karaman, S., 2010. Diyabetik ayak enfeksiyonlarının klinik ve aerobik bakteriyolojik analizi. **Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.**, 40(2): 109-116.
- Özer, B., Kalaci, A., Semerci, E., Duran, N., Davul, S., Yanat, A.N., 2010. Infections and aerobic bacterial pathogens in diabetic foot. **African Journal of Microbiology Research**, 4(20): 2153-2160.
- Özkara, A., Delibası, T., Selcoki, Y., Arikan, M.F., 2008. The major clinical outcomes of diabetic foot infections: One center experience cent. **Eur. J. Med.**, 3(4): 464-469.
- Öztürk, Ş.B., Ertuğrul, M.B., Çörekli, E., 2017. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında etken bakteriler ve biyofilm oluşturma oranları. **Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.**, 47(1): 33-38.
- Pace, J.L., Rupp, M.E., Finch, R.G., 2005. Biofilms, infection, and antimicrobial therapy. USA: Chemical Rubber Company Press, 220-440.
- Pagedar, A., Singh, J., Batish, V.K., 2010. Surface hydrophobicity, nutritional contents affect *Staphylococcus aureus* biofilms and temperature influences its survival in preformed biofilms. **Journal of Basic Microbiology**, 50: 98-106.
- Pathare, N.A., Bal, A., Talvalkar, G.V., Antani, D.U., 1998. Diabetic foot infections: a study of microorganisms associated with the different wagner grades. **Indian J. Pathol. Microbiol.**, 41: 437-441.
- Patti, J.M., Allen, B.L., McGavin, M.J., Hook, M., 1994. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. **Annu. Rev. Microbiol.**, 48: 585-617.
- Pellizzer, G., 2001. Deep tissue biopsy vs. superficial swab culture monitoring in the microbiological assessment of limb-threatening diabetic foot infection. **Diabetic Medicine**, 18(10): 822-827.
- Peres, C.M., Alves, M., Hernandez-Mendoza, A., Moreira, L., Silva, S., Bronze, M.R., Vilas-Boas, L., Peres, C., Malcata, F.X., 2014. Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics. **LWT - Food Science and Technology**, 59(1): 234-246.
- Podbielska, A., Galkowska, H., Stelmach, E., Mlynarczyk, G., Olszewski, W.L., 2010. Slime production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from patients with diabetic foot ulcers. **Arch. Immunol. Ther. Exp.**, 58(4): 321-324.
- Post, J.C., Stoodley, P., Hall-Stoodley, L., Ehrlich, G.D., 2004. The role of biofilms in otolaryngologic infections. **Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery**, 12 (3): 185-190.
- Rad, A.Y., Ayhan, H., Piskin, E., 1998. Adhesion of different bacterial strains to low temperature plasma treated sutures. **J. Biomed. Mater. Res.**, 41: 349-358.
- Rawat, V., Singhai, M., Kumar, A., Jha, P.K., Goyal, R., 2012. Bacteriological and resistance profile in isolates from diabetic patients. **North American Journal of Medical Sciences**, 4(11): 563-568.
- Reiber, G.E., Vileikyte, L., Boyko, E.J., del Aguila, M., Smith, D.G., Lavery, L.A., Boulton, A.J., 1999. Causal pathways for incident lower-extremity ulcers in patients with diabetes from two settings. **Diabetes Care**, 22(1): 157-162.
- Reifsteck, F., Wee, S., Wilkinson, B.J., 1987. Hydrophobicity/hydrophilicity of *Staphylococci*. **Journal of Medical Microbiology**, 24(1): 65-73.
- Rehm, S.J., Tice, A., 2010. *Staphylococcus aureus*: methicillin-susceptible *S. aureus* to methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *S. aureus*. **Clin.**

- Infect. Dis.**, 51(2): 176-182.
- Rıbu, L., Birkeland, K., Hanestad, B.R., Moum, T., Rustoen, T., 2008. A longitudinal study of patients with diabetes and foot ulcers and their health-related quality of life: wound healing and quality-of-life changes. **Journal of Diabetes and Its Complications**, 22: 400-407.
- Roberts, A.D., Simon, G.L., 2012. Diabetic foot infections: the role of microbiology and antibiotic treatment. **Semin. Vasc. Surg.**, 25: 75-81.
- Rodrigues, V., Busscher, H.J., 2004. Relation between macroscopic and microscopic adhesion of *S. mitis* strains to surfaces. **Microbiol**, 150: 1015-1022.
- Ronald, A., 2002. The etiology of urinary tract infection: tradition and emerging pathogens. **Am. J. Med.**, 113(1): 14-19.
- Rosenberg, M., Gutnick, D., Rosenberg, E., 1980. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell surface hydrophobicity. **FEMS Microbiology Letters**, 9(1): 29-33.
- Saltoglu, N., Dalkiran, A., Tetiker, T., Bayram, H., Tasova, Y., Dalay, C., Sert, M., 2010. Piperacillin/tazobactam versus imipenem/cilastatin for severe diabetic foot infections: a prospective, randomized clinical trial in a university hospital. **Clin. Microbiol. Infect.**, 16: 1252-1257.
- Satman, I., Yılmaz, T., Şengul, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Baştar, İ., Tutuncu, Y., Sargin, M., Dinçcağ, N., Karşıdağ, K., Kalaca, S., Özcan, C., King, H., 2002. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). **Diabetes Care**, 25(9):1551-1556.
- Satman, I., Imamoglu, S., Yılmaz, C., ADMIRE Study Group, 2012. A patient-based study on the adherence of physicians to guidelines for the management of type 2 diabetes in Turkey. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, 98(1): 75-82.
- Satman, I., Omer, B., Tutuncu, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinçcağ, N., Karsidağ, K., Genc, S., Telci, A., Canbaz, B., Turker, F., Yılmaz, T., Cakir, B., Tuomilehto, J., 2013. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. **Eur. J. Epidemiol.**, 28(2): 169-80.
- Schaechter, M., Ingraham, J.L., Neidhardt, F.C., 2006. Microbe. **American Society for Microbiology Press**, 99-102.
- Schar-Zammaretti, P., Ubbink, J., 2003. The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations. **Biophysical Journal**, 85: 4076-4092.
- Schleifer, K.H., 1984. Gr (+) Cocci. (H. A. Peter, S. M. Nicholas, M. E. Sharpe, G. J. Holt, eds). In: **Bergey's of manual systematic bacteriology**. Williams and Wilkins Baltimor, 2: 1013-1035, London, Los Angeles, Sydney.
- Schwaber, M.J., Navon-Venezia, S., Kaye, K.S., Ben-Ami, R., Schwartz, D., Carmeli, Y., 2006. Clinical and economic impact of bacteremia with extended spectrum beta lactamase producing Enterobacteriaceae. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 50: 1257-1262.
- Senneville, E., 2006. Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: Concordance with ulcer swab cultures. **Clinical Infectious Diseases**, 42(1): 57-62.
- Sert, M., Tetiker, T., Koçak, M., Aksu, H.S.Z., 2000. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında ampirik antibiyotik kullanılması. **Endokrinolojide Yönelişler**, 9(1): 47-49.
- Shahbazian, H., Yazdanpanah, L., Latifi, S.M., 2013. Risk assessment of patients with

- diabetes for foot ulcers according to risk classification consensus of International Working Group on Diabetic Foot (IWGDF). **Pak. J. Med. Sci.**, 29(3): 730-734.
- Shanks, R.M., Meehl, M.A., Brothers, K.M., Martinez, R.M., Donegan, N.P., Graber, M.L., 2008. Genetic evidence for an alternative citrate-dependent biofilm formation pathway in *Staphylococcus aureus* that is dependent on fibronectin binding proteins and the GraRS two-component regulatory system. **Infect. Immun.**, 76: 2469-2477.
- Shashikala, V., Ali, F., Lokare, N., Matew, J., 2016. Diabetic foot ulcers and biofilm formation- The culprits. **Journal of Biomedical and Advance Research**, 7(9): 428-433.
- Shorr, A.F., 2007. Epidemiology of staphylococcal resistance. **Clinical Infectious Diseases**, 45(3): 171-176.
- Singhal, D., Foreman, A., Bardy, J.J., Wormald, P.J., 2011. *Staphylococcus aureus* biofilms. **The Laryngoscope**, 121(7): 1578-1583.
- Slater, R.A., Lazarovitch, T., Boldur, I., Ramot, Y., Buchs, A., Weiss, M., Hindi, A., Rapoport, M.J., 2004. Swab culterres accurately identify bacterial pathogens in diabetic foot wounds not involving bone. **Diabetic Medicine**, 21(7): 705-709.
- Slovenkai, M.P., 1998. Foot problems in diabetes. **Med. Clin. North. Am.**, 82: 49-71.
- Smith, P.B., Hancock, G.A., Rhoden, D.L., 1969. Improved medium for detecting Deoxyribonuclease-producing bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, 8(6): 991-993.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., 1986. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Cilt 2**. Williams and Wilkins Co., Pp:1000-1080, Baltimore, U.S.A.
- Srey, S., Jahid, I.K., Ha, S.D., 2013. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food Control**, 31(2): 572-585.
- Stanley, N.R., Lazazzera, B.A., 2004. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. **Molecular Microbiology**, 52(4): 917-924.
- Stefani, S., Goglio, A., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. **Int. J. Infect. Dis.**, 14(4): 19-22.
- Stratton, İ.M., Adler, A.I., Neil, H.A., Mattheus, D.R., Manley, S.E., Cull, A.C., Hadden, D., Turner, R.C., Holman, R.R., 2000. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. **BMJ.**, 321(7258): 405-412.
- Stryjewski, M.E., Corey, G.R., 2009. New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Curr. Opin. Crit. Care**, 15(5): 403-412.
- Sudağıdan, M., Erdem, İ., Çavuşoğlu, C., Çiftçioglu, M., 2010. Biyomalzemelerden izole edilen *Staphylococcus epidermidis* suşlarının yüzey özelliklerinin belirlenmesi. **Mikrobiyol. Bul.**, 44: 93-103.
- Sweet, S.P., Macfarlane, T.W., Samarayanake, L.P., 1987. Determination of the cell hydrophobicity of oral bacteria using a modified hydrocarbonadherence method. **FEMS Microbiol. Lett.**, 48(1-2): 130-134.
- Şahin, R., 2007. *Staphylococcus aureus* suşlarında biyofilm üretimi, biyofilm pozitif ve negatif suşların genotipik ve fenotipik karakterlerinin karşılaştırılması. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Denizli.
- Şamlıoğlu, P., Ece, G., Atalay, S., Köse, Ş., 2012. Klinik örneklerden izole edilen

- stafilokok suşlarında makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLSB) direnç fenotipleri. **ANKEM Derg.**, 26(3): 116-119.
- Şenoğlu, S., Karabela, Ş.N., Yaşar, K.K., Durdu, B., Gedik, H., Ersöz, B., Şahin, V., Güleç, N., 2017. Diyabetik ayak enfeksiyonlu yirmi yedi olgunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. **Med. Bull. Haseki.**, 55: 56-60.
- Şerefhanoglu, K., Turan, H., Timurkaynak, F.E., Arslan, H., 2006. Diyabetik ayak enfeksiyonlarının aerobik bakteriyolojik analizi. **Ankem Dergisi**, 20(2): 85-88.
- Tamura, A., Ara, T., Imamura, Y., Fujii, T., Wang, P., 2008. The effects of antibiotics on in vitro biofilm model of periodontal disease. **European Journal Medical Research**, 13(9): 439-445.
- Tanyel, E., Tuncer, G.E., Tülek, N., 2003. Diyabetik ayak enfeksiyonlarının irdelenmesi. Klimik XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, P12/09.
- Tatar, M., Mollahaliloğlu, S., Sahin, B., Aydin, S., Maresso, A., Hernandez-Quevedo, C., 2011. Turkey health system review. **Health Systems in Transition**, 13(6): 1-186.
- Tel, O.Y., Aslantaş, Ö., Keskin, O., Yılmaz, E.Ş., Demir, C., 2012. Investigation of the antibiotic resistance and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from gangrenous mastitis of ewes. **Acta. Vet. Hung.**, 60(2): 189-197.
- Temple, M.E., Nahata, M.C., 2000. Pharmacotherapy of lower limb diabetic ulcers. **J. Am. Geriatr. Soc.**, 48: 822-828.
- Tentolouris, N., Jude, E.B., Smirnof, I., Knowles, E.A., Boulton, A.J., 1999. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: An increasing problem in a diabetic foot clinic. **Diabetic Medicine**, 16(9): 767-71.
- Tentolouris, N., Petrikos, G., Vallianou, N., Zachos, C., Daikos, G.L., Tsapogas, P., Markou, G., Katsilambros, N., 2006. Prevalence of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* in infected and uninfected diabetic foot ulcers. **Clin. Microbiol. Infect.**, 12(2): 186-189.
- Terzi, M., Cengiz, N., Onar, M.K., 2004. Diyabetik nöropati. **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi**, 21: 39-49.
- Tetiker, T., 2015. Diyabetik ayak risk faktörleri, tanı ve sınıflama. Ç.Ü.T.F. Endokrin ve Metab. Hast. BD, 51.Ulusal Diyabet Kongresi, Antalya.
- The World Bank. HPN Stats. 2011. World Health Organization. Global Health Observatory Data Repository.
- Topçu, A.W., 2004. Kinolonlar. **Türkiye Klinikleri J. Pharmacol-Special Topics**, 2(2): 154-161.
- Tsiodras, S., Gold, H.S., Sakoulas, G., Eliopoulos, G.M., Wennersten, C., Venkataraman, L., Moellering, R.C., Ferraro, M.J., 2001. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. **Lancet**, 358(9277): 207-208.
- Turhan, V., Mutluoglu, M., Acar, A., Hatipoglu, M., Onem, Y., Uzun, G., Ay, H., Öncül, O., Görenek, L., 2013. Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. **J. Infect. Dev. Ctries.**, 7(10): 707-712.
- Tünger, A., 2004. *Staphylococcus aureus*: mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji, gram-pozitif bakteri enfeksiyonları. (S. Ulusoy, G. Usluer, S. Ünal, ed.). Bilimsel Tıp Yayınevi, 9-38, Ankara.
- Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M., 2005. Stafilokoklar ve Benzer Bakteriler. **Asya Mikrobiyoloji**, 72-81.

- Türkyılmaz, S., Eskiizmirli, S., 2006. Detection of slime factor production and antibiotic resistance in staphylococcus strains isolated from various animal clinical samples. **Turk J. Vet. Anim. Sci.**, 30: 201-206.
- Uçan, U.S., 2001. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğrencilerinde el hijyeni ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının araştırılması. **Veteriner Bilimleri Dergisi**, 17(4): 27-30.
- Ukuku, D.O., Fett, W.F., 2002. Relationship of cell surface charge and hydrophobicity to strength of attachment of bacteria to cantaloupe rind. **J. Food Protec.**, 65: 1093-1099.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS), 2015. *Staphylococcus aureus* Tanımlanması ve AMD Testleri (MRSA saptama, Vankomisin duyarlılık, D-zon test). T.C. Sağlık Bakanlığı, 1-22.
- Ulusoy, S., Arda, B., Bayraktar, F., Sesli, E., Özinel, M.A., Yamazhan, T., Ünal, İ., Kısakol, G., Tüzün, M., 2000. Diyabetik ayak enfeksiyonları: 179 olgunun değerlendirilmesi. **Flora**, 5: 220-228.
- Ulusoy, S., 2006. Diyabetik ayak enfeksiyonları. Modern Tıp Seminerleri, 33: 40-45.
- Unachukwu, C.N., Obunge, O.K., Odia, O.J., 2005. The bacteriology of diabetic foot ulcers in Port Harcourt, Nigeria. **Niger. J. Med.**, 14(2): 173-6.
- Uyar, G.G., 2014. Diyabetik ayak enfeksiyonlarının klinik sınıflandırması. Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, UDAİS, Aydın.
- Ünal, D., 2011. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen pseudomonas, klebsiella, staphylococcus ve candida cinsi mikroorganizmalarda biyofilm varlığının araştırılması. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Valk, G.D., Kriegsman, D.M., Assendelft, W.J., 2005. Patient education for preventing diabetic foot ulceration. **Cochrane Database Syst. Rev.**, CD001488.
- van Belkum, A., Melles, D.C., Nouwen, J., van Leeuwen, W.B., vanWamel, W., Vos, M.C., Wertheim, H.F., Verbrugh, H.A., 2009. Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. **Infect. Genet. Evol.**, 9(1): 32-47.
- Vatsos, I.N., Thompson, K.D., Adams, A., 2001. Adhesion of the pathogen *Flavobacterium psychrophilum* to unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and n-hexadecane. **Lett. Appl. Microbiol.**, 33: 178-182.
- Walsh, C., 2003. Antibiotics. **USA: American Society of Microbiology**, 25-354.
- Whitman, W., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M., Ludwig, W., Suzuki, K.I., Parte, A., 2012. Bergey's manual of systematic bacteriology. **New York: Springer**, 5: 251-310.
- Wilson, R., Dowling, R.B., Jackson, A.D., 1996. The biology of bacterial colonization and invasion of the respiratory mucosa. **Eur. Respir. J.**, 9: 1523-1530.
- Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.C., 2012. Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function. **USA: Springer Science & Business Media**, 2(1): 1-10.
- Yaman, G., Çıkma, A., Berktaş, M., Parlak, M., Güdücüoğlu, H., Karahocagil, M.K., 2010. Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* izolatlarında MLS, fusidik asit ve diğer antibiyotiklere direnç. **Aknem Derg.**, 24(3): 130-135.
- Yarwood, J.M., Bartels, D.J., Volper, E.M., Greenberg, E.P., 2004. Quorum sensing in

- Staphylococcus aureus* biofilms. **Journal Of Bacteriology**, 186(6): 1838-1850.
- Yaşar, K.K., Bilir, Y.A., Pehlivanoglu, F., Şengöz, G., 2011. Stafilokok suşlarında slaym faktör pozitifliği, metisilin ve antibiyotik direnci. **Ankem Derg.**, 25(2): 89-93.
- Yerer, M., Metan, G., Alp, E., Eşel, D., Güven, M., Doğanay, M., 2007. Yoğun bakım ünitesine kabulde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kolonizasyonu. **Erciyes Tıp Dergisi**, 29(2): 110-114.
- Yılmaz, T., 1999. Global bir sağlık sorunu diyabetes mellitus. **Hemşirelik Forumu**, 2(2): 73-74.
- Yılmaz, E.Ş., Güvensen, N.C., 2016. In vitro biofilm formation in ESBL producing *Escherichia coli* isolates from cage birds. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 9(11): 1069–1074.
- Yücel, F., Sunay, D., 2016. Diyabetik hastaların diyabetik ayak ve ayak bakımıyla ilgili bilgi, tutum ve davranışlarının değerlendirilmesi. **Ankara Med. J.**, 16(3): 270-284.
- Yüksekdağ, Z.N., Baltacı, N., 2013. *Staphylococcus aureus* türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi**, 43(3): 77-83.
- Zgonis, T., Stapleton, J.J., Roukis, T.S., 2008. A stepwise approach to the surgical management of severe diabetic foot infections. **Foot Ankle Spec.**, 1: 46-53.
- Zubaira, M., Malika, A., Ahmad, J., 2011. Clinico-microbiological study and antimicrobial drug resistance profile of diabetic foot infections in North India. **The Foot**, 21: 6–14.
- Zukic, E., Gojak, R., Novakovic, A., Gazibera, B., 2015. Predictive role of preventive measures in preventing the progression of diabetic foot. **Mater Sociomed.**, 27(4): 234–36.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana’da doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Liseyi Adana’da tamamladı. 2003 yılında İnönü Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu Ebelik Bölümünü kazanıp, 2007 yılında mezun oldu. Aynı yıl Adana Kürkçüler Sağlık Ocağında göreve başladı. 2009 yılında Hatay Antakya Kisecik Sağlık Ocağına atandı. 2010 yılında kazandığı Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2014 yılında mezun oldu. 2011-2013 yılları arasında Antakya Toplum Sağlığı Merkezinde görev yaptı. 2015-2016 yılı Güz döneminde M.K.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Öğrenimine başladı. 2013 yılında Hatay Halk Sağlığı Müdürlüğünde göreve başlamış olup halen ebe olarak görevine devam etmektedir.

YAPILAN BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

- *Serpil Kuvvet Çetin, Ezgi Değirmenci, Ebru Şebnem Yılmaz ‘Üniversite Öğrencilerinin Cep Telefonlarında ve Elllerinde Stafilokok ve E. coli Kolonizasyonun Araştırılması’. 23.Ulusal Biyoloji Kongresi, 05-09 Eylül 2016, Gaziantep.*