



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**METİSİLİN DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS' UN ETKEN
OLDUĞU DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLU HASTALARDA NAZAL
MRSA TAŞIYICILIĞININ MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Çiğdem ÖZAYDIN

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. M. Tefik YAVUZ**

**DÜZCE
Mayıs-2008**



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**METİSİLİN DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS' UN ETKEN
OLDUĞU DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLU HASTALARDA NAZAL
MRSA TAŞIYICILIĞININ MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Çiğdem ÖZAYDIN

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. M.Tevfik YAVUZ**

**DÜZCE
Mayıs-2008**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. A.Demet Kaya'ya;

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım Doç. Dr. M. Tefvik Yavuz 'a

Gerek eğitimim gerekse tez hazırlama dönemim boyunca her zaman her konuda desteğini gördüğüm kişiliği, bilgisi ve deneyimleriyle her zaman bana destek olan, yol gösteren Doç. Dr. İdris Şahin'e;

Asistanlık eğitimime katkıda bulunan Doç. Dr. C. Elif Öztürk' e;

Yaşadığım tüm zorluklarda yanımda olan, ihtisas sürem boyunca ve tezimin hazırlanması sırasında yardımları ve dostluğunu esirgemeyen Dr. Selda Acar'a;

Tez hazırlamam sırasında yardımlarını esirgemeyen Bio. Ziya Erdoğan ve Bio. Uğur Öz'e,

Berber çalışma şansını yakaladığım, deneyim, sabır ve dostluklarını benden esirgemeyen biyologlarımız Seda Karaman'a, Fulya Özaras'a, Arif Kızılırmak'a ve teknisyenlerimiz Cemal Şahin'e, Gülnihan Karaduman'a, Emine Korkmaz'a, Yonca Öztürk'e ;

Materyallerin toplanması konusunda büyük desteğini gördüğüm ve tanımaktan mutluluk duyduğum Bolu İzzet Baysal Devlet Hastanesi İç Hastalıkları uzmanı Dr. Necati Çatakoğlu'na;

Bugünlere gelmemde hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tüm kararlarımda yanımda olan anneme, babama ve her konuda desteği ve sabırla yanımda olan eşim Yrd. Doç. Dr. İsmet Özaydın' a;

Sonsuz teşekkürü bir borç bilirim...

Dr. Çiğdem ÖZAYDIN

Düzce - 2008

İÇİNDEKİLER

1.Giriş ve Amaç	1
2.Genel Bilgiler	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1.Tanım	3
2.1.2.Epidemiyoloji	3
2.1.3.Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflandırılması	4
2.1.4. Sınıflandırma	4
2.1.5. Diabetes Mellitus'un Klinik Bulguları	5
2.1.6. Diabetes Mellitus'un Tanısı	6
2.1.7. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	7
2.2. Diyabetik Ayak Yaraları	8
2.2.1.Epidemiyoloji	8
2.2.2. Diyabetik Ayak Ülserlerinin Etiyopatogenezi	8
2.2.3. Diyabetik Ayak Ülserlerinin Sınıflaması	8
2.2.4. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları	9
2.3. Stafilokoklar	12
2.3.1. Tarihçe	13
2.3.2. Morfoloji ve Kimyasal Özellikleri	13
2.3.3. Hücre yapısı ve virulans faktörleri	14
2.3.4. Klinik	17
2.3.5. <i>S.aureus</i> Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi ve Patogenezi	19
2.3.6. Tedavi	21
2.3.7. <i>S.aureus</i> suşlarında antibiyotik direnç problemleri	22
2.3.8. MRSA enfeksiyonlarının kontrolü	26
2.3.9. Hastalar arası MRSA transferinin önlenmesi	26
3. Gereç ve Yöntemler	28
3.1.Çalışma grubu	28
3.2. Örnek alınışı ve mikroorganizmaların izolasyonu	28
3.3. Antibiyotiklere duyarlılığın tespiti	31
3.4. <i>S.aureus'un</i> moleküler karakterizasyonu	32

3.4.1. DNA'nın ekstraksiyonu	33
3.4.2. Real time PCR ile identifikasyonu	33
3.4.3. PCR Amplifikasyon	34
3.4.4. Jel Elektroforezi	35
3.5. İstatistiksel Analiz	35
4. Bulgular	36
5.Tartışma	48
6. Sonuçlar	59
7. Özet	62
8. Summary	63
9. Kaynaklar	64
10. Resimlemeler Listesi	76
11.Özgeçmiş	78
12. Ekler	79
Ek.1. Diyabetik hasta takip formu	79

KISALTMALAR

CA-MRSA: Toplumdan kazanılmış MRSA

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DM: Diabetes Mellitus

EMB: Eosin Methylene Blue

HA-MRSA: Hastane kaynaklı MRSA

HbA_{1c}: Glikolize hemoglobin

KNS: Koagülaz negatif stafilokok

MRSA: Metisilin rezistans *Staphylococcus aureus*

MSCRAMM: Microbial surface component reacting with adherence matrix molecules

MSSA: Metisilin duyarlı *S.aureus*

PBP: Penicillin Binding Protein

PVL: Panton-Valentine leukocidine

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

SCCmec: Stafilokoksik kaset kromozomu mec

TSST: Toksik şok sendromu toksini

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), hem akut hem kronik komplikasyonlara neden olabilen ilerleyici bir endokrin bir hastalıktır. Kronik komplikasyonlarından birisi olan diyabetik ayak, nöropati ve periferik damar hastalığına enfeksiyonunda eklenmesi ile oluşan, ekstremitayı tehdit edebilen multifaktöryel bir sorundur.¹

Ayak enfeksiyonları diyabetli hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Diyabetli hastaların yaklaşık % 25'i hayatları boyunca diyabetik ayak ülserleri ile karşı karşıya kaldığı ve bunların % 15-20'nin amputasyonla sonuçlandığı bilinmektedir.²

Bu amputasyonların %85'inden fazlasında derin ayak yarası üstünde de gelişmiş enfeksiyon ve gangren mevcuttur.³ Yapılan çalışmalar diyabetik ayak ülserlerinde Gram pozitif bakterilerin özellikle de *Staphylococcus aureus*'un (*S.aureus*) baskın olduğunu ve metisilin rezistans *Staphylococcus aureus* (MRSA) prevalansının arttığını göstermektedir.

MRSA diyabetik ayak ülserli hastalar için acil ve ciddi bir problemdir. Amputasyon uygulanan hastaların % 45' inde MRSA enfeksiyonu olduğu ve bu hastaların yaklaşık % 25' de postoperatif amputasyon güdüğünde enfeksiyon geliştiği ve bununda % 71' nin MRSA enfeksiyonu olduğu göz önüne alınırsa uzun süre hastanede kalma, ekstremita amputasyonu, rehabilitasyon, ev bakımı ve iş gücü kaybı gibi maliyeti; mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir komplikasyonu azaltmak için enfekte veya nonenfekte diyabetik ayak ülserlerinin MRSA ile enfeksiyonuna ve /veya kolonizasyonuna predispozan faktörleri belirleyip önlem almak gerekir.⁴

MRSA ya bağlı gelişen diyabetik ayak enfeksiyonunun en önemli risk faktörü geçirilmiş MRSA enfeksiyonu öyküsü ve MRSA taşıyıcılığıdır. Nazal *S. aureus* taşıyıcılığının enfeksiyonlarının yayılmasında önemli bir kişisel risk faktörü olduğu bilinmektedir.⁵

Çalışmalar nazal *S. aureus* taşıyıcılığının cilt enfeksiyonu ve cerrahi yara yeri enfeksiyonu gelişiminde rol oynadığını; bunda burun taşıyıcısı olanların el kontaminasyonu yolu ile çevreye yayıldığı göstermektedir.⁴

Biz bu çalışmada DM'lu hastaların nazal MRSA taşıyıcılık oranını ve diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastaların karakteristiğini, risk faktörlerini belirlemeyi ve nazal MRSA taşıyıcılığı ile MRSA ülser enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1 Tanım:

DM, genetik ve immün yapının neden olduğu bir seri patolojik olaylar sonucu, pankreas beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun, mutlak veya göreceli azlığı veya etkisizliği sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında bozukluklara yol açan, hemen hemen tüm sistemlerde komplikasyonlara neden olabilen, kronik, hiperglisemik ve metabolik bir hastalıktır.^{6,7}

2.1.2. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tahminlerine göre dünya diyabetli nüfusu halen 200 milyon civarındadır ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı öngörülmektedir.^{8,9}

Ülkemizde 1997–98 yıllarında Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Grubunun 270 köy ve 270 mahalle merkezinde gerçekleştirilen ve random olarak seçilmiş 20 yaş üzerinde 24788 kişiyi kapsayan TURDEP Çalışmasının sonuçlarına göre Tip 2 diyabet prevalansı %7,2, bozulmuş tolerans testi (IGT) sıklığı %6,7'dir. Bu oranlara

dayanarak 2000 yılı nüfus sayımına göre ülkemizde 2,6 milyonun üzerinde diyabetli ve 2,4 milyon civarında IGT' linin yaşadığı tahmin edilmektedir.^{10,11}

2.1.3.Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması

Farklı etiyolojik nedenlerden kaynaklanan DM için etiyolojiye yönelik tedavi protokolleri geliştirmeyi amaçlayarak; 1979 yılında, National Diabetes Data Group ve 1985 yılında WHO Study Group, sınıflandırma ile ilgili çalışmalarını yayınladılar.^{8,12} 1997 ve 2003 yıllarında International Expert Committee, DM'un sınıflaması ve tanısıl kriterlerini tekrar inceledi.^{13,14} Bütün bu çalışmaların ışığında 2005 yılında American Diabetes Association tarafından DM'un etiyolojik sınıflandırması yapılmıştır.¹⁵

2.1.4. Sınıflandırma

I. Tip 1 Diyabet (IDDM)

A. İmmünolojik

B. İdiopatik

II. Tip 2 Diyabet (NIDDM)

III. Diğer spesifik tipler

A. Beta hücre fonksiyonunda genetik hasar

1. MODY 1 (Maturity Onset of Diabetes of the Young)

(hepatosit nükleer transkriptör faktör 4 alfa = HNF-4 alfa)

2. MODY 2 (Glukokinaz)

3. MODY 3 (HNF-1 alfa)

4. MODY 4 (İnsülin Promoter Faktör 1 =IPF-1)

5. MODY 5 (HNF-1 beta)

6. Mitokondrial DNA

7. Proinsülin veya insülin konversiyonu defektleri

B. İnsülin etkisinde genetik defekt

1. Tip A insülin rezistansı

2. Leprechuanizm

3. Rabson-Mendenhall Sendromu

4. Lipoatrofik diyabet

- C.** Ekzokrin pankreas hastalıkları (pankreatit, pankreatektomi, neoplazm, kistik fibrozis,hemakromatozis, fibrokalküloz pankreas)
- D.** İnsülin direncine neden olan Endokrinopatiler (Akromegali, Cushing Sendromu, Glukagonoma, Feokromasitoma, Hipertiroidizm, Somatostatinoma, Aldosteronoma)
- E.** İlaç ya da kimyasal maddelere bağlı (pentamidin, nikotinik asit, glukokortikoidler, tiroid hormonu, diazoksit, beta adrenerjik agonistler, tiazidler, fenitoin, alfa interferon, klozapin, beta blokerler, proteaz inhibitörleri).
- F.** Enfeksiyonlar (konjenital rubella, coxakie, sitomegalovirus)
- G.** İmmün diyabetin yaygın olmayan formları (Stiff-Man Sendromu, antiinsülin Ab.)
- H.** Diyabet ve insülin direnci ile birlikteliği olan bazı sendromlar (Down Sendromu, Klinefelter Sendromu, Turner Sendromu, Friedrich Ataksisi, Huntington Koreası, porfiriya, Prader –Willi Sendromu, Miyotonik Distrofi)

IV. Gestasyonel DM

2.1.5. Diabetes Mellitus'un Klinik Bulguları

En sık rastlanan semptomlar hiperglisemi ile ilgili olan poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı gibi semptomlardır. Hiperglisemi sonucu hastalarda piyelonefrit veya sistit gibi diğer infeksiyonlara da duyarlılık artmıştır. Dehidratasyona bağlı düşük turgor ve mukoza ve cilt kuruluğu görülebilir. Fakat ilk olarak diyabetik koma ile hasta, dekompanse bir metabolik tablo ile de gelebilir. Kontrolsüz olan insüline bağımlı diyabette yağ katabolizması sonucu oluşan ketoasidoz tablosu, anoreksi, mide bulantısı, hava açlığı, aseton kokan hızlı ve derin solunum ve tedavi edilmez ise bilinç kaybı, koma ve ölüm ile sonuçlanır.^{6,16-18}

Uzun vadede makrovasküler hastalık sonucu ateroskleroz, mikrovasküler hastalık sonucu nefropati ve retinopati, simetrik duyu kaybı ile karakterize distal polinöropati oluşabilir. Erkeklerde seksüel impotans oldukça yaygın (%50-%60) bir semptomdur. Laboratuvar bulgularında; hiperglisemi,

hiperketonemi, hiperpotasemi, hiponatremi, yüksek serum ozmolaritesi, glukozüri, ketonüri, asidoz gelişmişse düşük serum bikarbonat seviyesi, düşük kan pH değeri saptanabilir.^{6,16-18}

2.1.6. Diabetes Mellitus'un Tanısı

Amerikan Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) ve WHO tarafından tanımlanmış olan tanı kriterleri revize edilmiştir ve günümüzde kullanılmakta olan tanı kriterleri Tablo -1'de gösterilmiştir.

Tablo- 1. Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri

1. Diabetes mellitusun poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı gibi klasik semptomlarının varlığında, son öğüne bakılmaksızın günün herhangi bir saatinde plazma glukozunun >200mg/dl olması veya
2. AKŞ' nin >126mg/dl olması (en az 8 saatlik açlık sonrası alınan kanda) veya
3. OGTT sırasında 2.saat plazma glukozunun >200mg/dl olması,

:

DM tanısında plazma glukoz düzeylerinin ölçümünün yanısıra glikolize hemoglobin (HbA_{1c}) ve serum proteinlerinin (fruktozamin) ölçümleri de önemlidir. HbA_{1c} normalde total hemoglobinin %4-6 'sını teşkil eder ve kan glukozu uzun süre yüksek kalan diyabetlilerde bu değer yükselir. Glukolize hemoglobin, önceki 8-12 haftadaki kan glukoz durumunu yansıtır.¹⁸⁻²⁰

2.1.7. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

A. Diabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları

1. Diyabetik Ketoasidoz
2. Hiperozmolar non-ketotik koma
3. Hipoglisemi

B. Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları

1. Diyabetik mikroanjiopati
 - a. Diyabetik Retinopati
 - b. Diyabetik Nefropati
2. Diyabetik makroanjiopati (ateroskleroz)
 - a. Koroner arter hastalığı
 - b. Serebro-vasküler hastalık
 - c. Periferik arter hastalığı
3. Diyabetik Nöropati
 - a. Simetrik Periferik Polinöropati
 - b. Otonom Nöropati
 - c. Asimetrik Mononöropati
 - d. Radikulopati
 - e. Diyabetik Amiyotrofi
4. İnfeksiyonlar
5. Dermopatiler
6. Depresyon
7. Diyabetik Ayak Yaraları

2.2. DİYABETİK AYAK YARALARI

2.2.1. Epidemiyoloji

DM' un en sık görülen komplikasyonlarından biri diyabetik ayak problemidir. Yapılan çalışmalar, diyabetli hastaların hayatları boyunca yaklaşık % 15'inin ayak yarası komplikasyonu ile karşılaşacağını gösterir.²¹ Nontravmatik amputasyonların % 50 si diyabetik ayak nedeniyle olmaktadır.²²

Epidemiyolojik veriler, 40 yaşından sonra diyabet hastalarında ayak problemlerinin çok sıklaştığını ve yaş ile insidansının arttığını göstermektedir. Amputasyon insidansı erkeklerde kadınlardan daha yüksektir.²³

2.2.2. Diyabetik ayak ülserlerinin etiyopatogenezi

Diyabetik hastalarda ayak infeksiyonlarına duyarlılığın artmış olması, bazı faktörlere bağlıdır. Bağışıklık sisteminin yetersizliği (nötrofil fonksiyon yetersizliği gibi), nöropati ve vasküler yetmezlik bu faktörlerin en önemlileridir.

Günümüzde diyabetik ayak infeksiyonu gelişiminde en önemli faktörün nöropati olduğu kabul edilmektedir. Nöropati ayak sorunları olan hastalarda diyabetin metabolik dengesizliği ve sinirlerde mikrovasküler sorunlar nedeniyle oluşmaktadır.²⁴⁻²⁶ En sık ülser gelişen alanlar ayak parmaklarının uçları, birinci metatars başının medial yüzeyi, beşinci metatars başının lateral yüzeyi ve topuktur. Bu ülser bölgeleri bakterilerin yerleşmesi için oldukça elverişli alanlardır.²⁴⁻²⁶

2.2.3. Diyabetik ayak ülserlerinin sınıflaması

Diyabetik ayak ülserlerinin bugüne kadar tanımlanmış sınıflamalar içinde en çok kabul göreni Wagner tarafından yapılmış olanıdır. Tablo-2 de gösterilen bu sınıflama tedavinin takibi için de kullanılmaktadır.

Tablo- 2. Wagner sınıflaması ²⁷

Evre 0	Sağlam deri ile birlikte kemik çıkıntısı veya kallus oluşumu (ayak yarası için risk)
Evre 1	Derin dokulara yayılımın olmadığı yüzeysel yara
Evre 2	Tendon, kemik, ligament veya eklemi içermeyen derin yara
Evre 3	Tendon, kemik, ligament veya eklemi içeren derin yara
Evre 4	Parmakları ve/veya metatarsı kapsayan gangren
Evre 5	Kurtarılamayacak düzeyde ve amputasyon gerektiren parmak ve/veya ayağın bütününün gangreni

2.2.4. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları

Diyabetik ayak enfeksiyonlarında enfeksiyona duyarlılığın yanında asıl sorumlu faktörler iskemi ve nöropatidir. ^{27,28}

Diyabetik ayak enfeksiyonları komplike olmamış selülit, pürülan ülserasyon ve gangrenöz nekroza kadar değişiklik gösterebilir fakat tanısı zordur. İnfeksiyonda lokal bulgular olan eritem, ağrı, ısı artışı ve hassasiyet apse ve osteomyelit varlığında bile saptanmayabilir. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında klinik, hematolojik ve bakteriyolojik göstergelerin yalancı sonuçlar verme olasılığı yüksektir. Ateş gibi sistemik belirtiler ekstremitesi tehdit altında olan hastaların 2/3 ünde saptanmayabilir. Lökositoz olmayabilir. ²⁹

Son zamanlarda antimikrobiyal almayan hastalardaki akut enfeksiyonlar sıklıkla monomikrobiyaldir (Çoğunlukla Gram pozitif aeroptur), diğer yandan kronik enfeksiyonlar polimikrobiyaldir. Bu tür karışık etkenli enfeksiyonlu hastalardan alınan kültürlerde genellikle Gram-pozitif ve Gram-negatif aeroplara ve anaeroplara kapsayan 3-5 izolat elde edilir. Polimikrobiyal bir enfeksiyondaki her bir izolatın patojenik rolü genellikle anlaşılır değildir.

Aerobik Gram pozitif koklar derideki akut enfekte çatlaklarda ve kolonizasyonda baskın mikroorganizmalardır. *S.aureus* ve Beta hemolitik streptokoklar en yaygın izole edilen patojenlerdir. Kronik yaralarda enterokok, Enterobakter spp, zorunlu anaerop, *Pseudomonas aeruginosa* ve bazen diğer non fermentatif Gram negatif basilleri de içeren çok kompleks flora gelişir.

Hospitalizasyon, cerrahi prosedür ve uzun süreli antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençli organizmalarla kolonizasyon veya infeksiyon için predispozan olabilir. MRSA ve vankomisin rezistans enterokok kökenleri çoğunlukla hastanede yatan hastalardan izole edilse de son zamanlarda toplum kaynaklı olgularda da görülmeye başlamıştır. Sonuçta MRSA lar daha çok diyabetik ayak infeksiyonlu hastalarla ile ilgilidir. Tablo- 3' de yaygın diyabetik ayak infeksiyonlar ve izole edilen muhtemel patojenler gösterilmektedir.³⁰⁻³⁵

Tablo- 3. Diyabetik ayak enfeksiyonları ve izole edilen muhtemel patojenler

Ayak infeksiyon sendromu	Patojenler
Açık deri yarası haricindeki selülitler	Beta Hemolitik streptokoklar <i>S. aureus</i>
Antibiyotik almayan ve enfekte ülser (genellikle monomikrobiyal)	<i>S. aureus</i> Beta Hemolitik streptokoklar
Önceden antibiyotik tedavisi almış veya kronik enfekte (genellikle polimikrobiyal)	<i>S. aureus</i> , Beta Hemolitik streptokoklar Enterobacteriaceae
Islandığı için masere olan ülserde (sıklıkla polimikrobiyal)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (sıklıkla diğer organizmalarla kombine edilir)
Uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine rağmen uzun sürede iyileşmeyen yara (polimikrobiyal ve antibiyotiğe dirençli örnekler)	Aerobik Gram pozitif kok (<i>S. aureus</i> , KNS ve enterokok), difteroidler, Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> spp, nonfermentatif Gram negatif basiller ve mantarlar
Kötü kokulu ayak, geniş nekroz ve gangren pis kokulu (polimikrobiyal)	Karışık aerobik Gram pozitif kok (enterokok dâhil) Enterobacteriaceae, non fermentatif ve Gram negatif basil ve zorunlu anaeroplardır

Hem monomikrobiyal hem de polimikrobiyal tip enfekte diyabetik ayak ülserli hastalarda en yüksek oranda izole edilen bakteriler Gram pozitiflerdir. Gram pozitif bakteriler içinde ise *S.aureus* birinci sırada yer alır. Özellikle MRSA diyabetik ayak ülserli hastalar için ciddi ve acil bir problemdir.^{34, 36-39}

Yüzeysel sürüntü şeklinde alınan kültür örneklerinin etkenden çok kolonizasyonu yansıtması nedeniyle güvenilir olmadığı bilinmektedir. En güvenilir yöntem deri doku kültürlerinin yapılmasıdır. Eğer bu olanaklı değilse, yaranın tabanından küretajla elde edilen materyalin veya pürülan eksüdanın Gram yayması, aerop ve anaerop kültürleri, antimikrobiyal tedaviyi yönlendirecek gerekli bilgiyi sağlayabilir.²⁶

Diyabetik ayak infeksiyonlarının başlangıç tedavisi genellikle ampiriktir. Antibiyotiklerin seçiminde başlıca dikkat edilecek hususlar sıklıkla karşılaşılan mikroorganizmaların kapsanması, infeksiyonun ciddiyet derecesi ve varsa lokal antibiyotik duyarlılık verileridir. Antibiyotik tedavisi öyküsü ve daha önceden yapılmış kültür sonucu varlığı da dikkate alınması gereken diğer faktörlerdir. MRSA'nın lokal prevalansının yüksek olması durumunda bu organizmaya etkili antibiyotiklerin de (örn. glikopeptidler) ampirik tedavide yer alması önerilmektedir.^{35,36,40}

Diyabetli hastalar hayatları boyunca diyabetik ayak ülserleri için risk altındadırlar. Diyabetik ayak ülserlerinin hayat kalitesini azalttığı, mortalite ve morbiditeyi arttırdığı hastanede yatış süresini uzatarak diğer komplikasyonların da oluşumunu artırıp amputasyon riskini arttırdığı göz önüne alınırsa önemi anlaşılacaktır.³⁴⁻³⁷



Resim -1. Enfekte bir diyabetik ayak ülseri

2.3. STAFİLOKOKLAR

Gram pozitif kok morfolojisindeki bakterilerin önemli bir bölümünü içinde bulunduran Micrococcaceae familyasında Micrococcus, Planococcus, Staphylococcus ve Stomatococcus cinsleri yer almaktadır. Stafilocoklar katalaz pozitif, Gram pozitif koklar içinde primer klinik öneme sahip olan cinsdir. *S. aureus* stafilocoklar içinde en virulan türdür. Koagulaz negatif stafilocoklardan (KNS) da insanda en fazla enfeksiyona neden olanlar *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* ve *S.lugdunensis*'dir. Micrococcaceae ailesinin diğer üyeleri (Planococcus, Stomatococcus, Micrococcus) ise insanda hastalık oluşturmaz veya özel hasta gruplarında nadiren enfeksiyona neden olurlar.

2.3.1. Tarihçe

İlk olarak 1881 yılında İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından stafilokok olarak tanımlanmışlardır. 'Staphyle' sözcüğü eski Yunanca da üzüm salkımı anlamına gelip üremeleri esnasında birbirinden ayrılmayıp üzüm salkımına benzeyen düzensiz kümeler oluşturmalarına bakılarak bu bakterilere bu ad uygun görülmüştür. Hastalık etkeni olarak ise stafilokoklar ilk kez Rosenbach tarafından 1884 yılında hastalık örneklerinden soyutlanmıştır. 1940'larda penisilinlerin kullanıma girmesiyle stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiş, ancak kısa bir süre sonra penisilinaz üreten suşların ortaya çıkmasıyla direnç problemi başlamış, 1950'li yıllarda penisilin yanısıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişmiştir. 1960 yılında penisilinaza dirençli olan metisilin kullanıma girmesinin üzerinden on yıl geçmeden MRSA suşlarında "çoğul antibiyotik direnci" (MDR) problemi ortaya çıkmıştır.⁴¹⁻⁴⁴

2.3.2. Morfoloji ve Kimyasal Özellikler

Stafilokoklar 0.5-1.5 µm çapında, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, katı besiyerinde birbirine bakan iki dik yüzeyde bölünerek üreyen ve yavru hücrelerin birbirinden ayrılması sonucu üzüm salkımına benzeyen, sıvı besiyerinde diplokoklar veya kısa zincirler halinde görülen mikroorganizmalardır.^{41,42}

Stafilokokların üreme ısı aralığı oldukça geniştir (6,5°C–45°C). Optimal üreme ısıları 30°C–37°C dir; pH:7-7.5 arasında iyi ürerler. Aerop ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Kanlı agarda 18-24 saatte yuvarlak, düzgün yüzeyli, 1-4 mm çapında, hafif konveks S koloniler yaparlar. *S. aureus* kanlı agarda beta hemoliz yapar. Çukulata agarda da benzer şekilde ürerler.

Ayırt edici besiyeri olan mannitol salt agarda yüksek yoğunlukta tuz varlığında üreyebilen stafilokoklardan *S. aureus*, diğerlerinden mannitolu fermente ederek koloniler etrafında sarı hale oluşturmasıyla ayrılır. Fakat diğer bazı stafilokoklar (örn. *S. saprophyticus*) da mannitolu fermente ederek benzer koloniler

oluşturabilir. Mannitol salt agar ve diğer ayırt edici besiyerlerinde üremenin belirlenmesi için 48–72 saat inkubasyon gerekli olabilir.^{41,42,44}

Katalaz ve Gram pozitif koklar içinde Staphylococcus, Micrococcus, zayıf katalaz pozitif olabilen Rothia (daha önceden Stomatococcus olarak isimlendirilen), Aerococcus ve Enterococcus yer almaktadır. Stafilocoklar fakültatif anaerop üreme özellikleri, 200 µg/ml lizostafinle erimeleri, 0.04 U basitrasine dirençli, 100 µg furazolidona duyarlı, oksidaz negatif, anaerop ortamda glikozdan ve 0,4 µg/ml eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturmalarıyla diğerlerinden ayrılır.⁴⁴

Stafilocok tanımlanmasında bir ileri adım koagulaz testidir. Bağlı koagulazın tayininde lam, serbest koagulazın tayini için ise tüp yöntemi kullanılır. Lam koagulazı negatif olan stafilocoklar için mutlaka tüp koagulazı testi de uygulanmalıdır. *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi subsp. coagulans* gibi bazı koagulaz negatif türlerde var olan “clumping factor” nedeniyle testin pozitif bulunabileceği unutulmamalıdır. Koagulaz pozitif stafilocokların tanımlanmasında Voges-proskauer ve pyrolydonyl aminopeptidase (PYR) testleri kullanılır.⁴¹

2.3.3. Hücre yapısı ve virulans faktörleri:

S. aureus virulansı en yüksek olan stafilocok türüdür. Stafilocokların virulansında rol oynayan faktörler hücre duvar yapıları, kapsül, yüzey proteinleri, toksinleri ve enzimleridir.

1. Hücre duvarı: Diğer Gram pozitif bakterilerde olduğu gibi stafilocokların da hücre duvarı kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini peptidoglikan tabaka oluşturmaktadır. Bu tabaka insanda makrofajlardan sitokin salınımını uyarır, komplemanın aktivasyonuna yol açar ve trombosit agregasyonuna neden olur. Ayrıca monositlerden interlökin–1 salınımını uyararak polimorfonükleer lökositlerin infeksiyon bölgesine toplanmalarına ve sonuçta apse oluşumuna da yol açar.⁴¹

2. Kapsül: *S.aureus* klinik izolatlarının %90'ından fazlasında polisakkarid yapıda mikrokapsül bulunmaktadır. Bu kapsül bakteriyi fagositozdan korur ve konak hücrelerine ve özellikle kateter gibi yabancı cisimlere adheransını sağlar. Günümüze kadar tanımlanan 11 kapsül serotipinin içinde özellikle tip 5 ve 8 insan

infeksiyonlarının %75'inden sorumludur. Ayrıca toksik şok sendrom toksini üretimi ile tip 8'in, metisiline direnci ile de tip 5'in yakın ilişkide oldukları gösterilmiştir.⁴⁴

3. Yüzey proteinleri: Protein A, clumping faktör A ve B, kollajen bağlayıcı protein, fibronektin bağlayıcı protein A ve B, plazmin sensitif protein, serin-aspartat tekrarlayıcı protein, *S. aureus* yüzey proteini A - K konakçı proteinlerine adheransta rol oynayan yüzey proteinleridir. Hepsi "microbial surface component reacting with adherence matrix molecules" (MSCRAMM) olarak adlandırılır. Bu proteinler stafilokokların konak dokusunda kolonize olmasında en önemli faktörlerdir. Protein A bazı immunglobulinlerin (IgG₁, IgG₂, IgG₄) Fc reseptörleri ile birleşebilmekte, böylelikle antifagositer ve antikomplementer etkinlik gösterebilmektedir. Ayrıca bu protein *S.aureus*'un nonspesifik taşıyıcı olarak kullanıldığı koaglutinasyon testlerinin esasını oluşturmaktadır. Stafilokok protein A'nın koagulaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon göstermesi, antifagositik etki yaratması ve antibiyotik duyarlılığını azaltması gibi özellikleri patojenite kriteri olacağına işaret etmektedir.^{41,44}

4. Toksinler: *S. aureus* α-, s-, γ-, δ- olarak adlandırılan en az beş çeşit hemolizine sahiptir. Bunlar eritrosit ve diğer ökaryotik hücreleri eritebilirler.⁴⁴

α toksin Memeli hücrelerinde por oluşumuna neden olarak inflamatuvar yanıtı indükler. Subkutan verildiğinde nekroza yol açar ve potansiyel nörotoksin etkisi de vardır. Kanlı agarda oluşan β-hemolizden bu toksin sorumludur.

α hemolizinin deneysel endokardit oluşumunda önemli olduğu saptanmıştır.⁴⁵

β toksin sfingomyelinaz özelliğiyle membranları lipid komponentlerini bozarak hasara uğratar. Sıcak - soğuk hemolizin olarak da bilinir. Ayrıca B grubu streptokoklar ve *Listeria monositogenes* tarafından üretilen ve *S. aureus*'ün hemolizini artırıcı etkiye sahip olan CAMP (Christie, Atkins, Munc Peterson) faktörle etkileşerek sinerjik hemolize neden olan yapıdır.⁴¹⁻⁴⁴

δ-toksin deterjan benzeri etki ile biyolojik membranlarda hasar oluşturur. Kolera enzimine de benzer etki ile cAMP salınımına neden olur. Bu enzimatik aktivitenin toksik şok sendromu ve stafilokoksik besin zehirlenmesi gibi hastalıklarda görülen diyarenin oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir.⁴²

Lökosidin: *S. aureus* tarafından oluşturulan bu toksinin polimorf nüveli lökositler ve makrofajlar üzerine litik etkisi vardır. Toksin elektroforetik olarak

birbirinden ayrı F (Fast) ve S (Slow) adında iki protein komponentinden oluşmuştur. Bu komponentlerden her biri iyi antijen yapısında olup, her birinden ayrı toksoid oluşturulur. Hücre zarında potasyum ve diğer kationlara karşı geçirgenliği artırıcı gözeneklerin açılmasını sağlayarak etkili olurlar.^{42, 43}

Bu dört hemolizin kromozom üzerinde kodlanmıştır ve çoğu *S. aureus* suşunda bulunur. Panton Valentine toksini bir lökosidin olduğu için Panton Valentine lökosidini (PVL) olarak da adlandırılır ve γ -hemolizinin bir homologudur. Mobil bir faj üzerinde kodlanır ve transfer edilebilir. Ayrıca diğer hemolizinden farklı olarak *S. aureus* suşlarının %2'sinde bulunur.⁴² Toplum kaynaklı MRSA ya bağlı cilt enfeksiyonları, genç hastalarda ağır hemorajik pnömoni ve fronküllerle ilişkili bulunmuştur.⁴⁶

Enterotoksinler: Isıya dirençli, 100°C ye 30 dakika dayanabilen, polipeptit yapısında maddelerdir. Özellikle yüksek CO₂'li atmosfer ortamında karbonhidratlı ve proteinli besiyerlerinde üreyen stafilokoklar tarafından oluşturulurlar. Enterotoksinin A, B, C1, C2, D, E ve F şeklinde yedi immünolojik tipi vardır. *S. aureus* kökenlerinin %35-50'sinin bu toksinleri oluşturabildikleri saptanmıştır. A ve D besin zehirlenmelerinde, B ise hastane enfeksiyonlarında çok karşılaşılan bir toksindir.⁴¹⁻⁴⁴

Eksfoliyatif toksin (Eksfoliyatin): Epidermolitik toksin olarak da bilinen bu toksin, stafilokok enfeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumludur. Antijenik ve biyokimyasal yapıları bakımından en az iki farklı eksfoliyatif toksin bulunduğu saptanmıştır. A tipi kromozomal, B tipi plazmide bağlı genlerle oluşturulur.⁴¹⁻⁴⁴

Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1): Toksik şok sendromunda yer alan stafilokokların çoğu faj-1 grubundan 29 ve 52 tiplerindedir.⁴⁷

Epidermolitik toksin, enterotoksinler, toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1) gibi pirojenik toksinler süperantijen yapısındadır. Monosit ve makrofajlardaki hücre içi protein hazırlığına (bu antijen sunan hücreler tarafından peptidlerin sunulma aşamalarına) gerek kalmadan, yani MHC sınıf II reseptörlerine klasik antijen bağlanma bölgesinden değil, T hücre reseptörlerinin değişken bölgesine bağlanarak aşırı miktarda IL-1, TNF, ve IFN- γ salgılamasına neden olurlar.

Vücutta küçük bir süperantijen üreten *S. aureus* odağı bulunması bile ciddi sistemik etkilere neden olabilir.⁴⁷

5. Enzimler: Stafilokoklar lipaz, hiyalüronidaz, fibrinolizin, penisilinaz, katalaz, koagulaz ve DNaz gibi birçok enzim üretirler. Bu enzimler özellikle stafilokokların komşu dokulara yayılımını kolaylaştırarak infeksiyon patogeneğinde rol alırlar

a. Katalaz: Tüm stafilokok türleri toksik hidrojen peroksidi toksik olmayan oksijen ve suya ayrıştıran katalaz enzimi üretir. Bakteriler, bu enzim sayesinde fagositlerin içinde toksik oksijen radikalleri tarafından öldürülmeye direnç kazanır.

b. Koagulaz: Ekstrasellüler bir proenzimdir. Coagulase-Reacting faktör(CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır. *S. aureus* için standart belirleyici olan koagulazla, patojen olan ve olmayan stafilokok ayrımı yapılır. Koagulaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı sağladığı ileri sürülmektedir.

c. Lipaz: *S. aureus* suşlarının tümü ve koagulaz negatif stafilokokların da yaklaşık 1/3'ü lipaz enzimi üretir. Lipaz, yağları hidrolize ederek vücudun lipid içeren bölgelerinde stafilokokların yaşamasını sağlamakta ve stafilokokların yüzeyel dokuları invaze ederek fronkül ve karbonkül gibi infeksiyonlarının gelişimine neden olmaktadır.

d. Hiyalüronidaz: Bağ dokusunun aselüler matriksindeki asit mukopolisakkaridler olan hiyalüronik asidi hidrolize eden enzimlerdir.

e. Deoksiribonükleaz: DNaz enzimleri endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır.

f. β laktamazlar: Stafilokoklarda penisilin direncine neden olan mekanizma β laktamaz üretimidir.⁴¹⁻⁴⁴

2.3.4. Klinik

Stafilokoklar basit deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından, sepsis gibi ağır tablolara uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunu içerirler. Hastaneye yatış, tanı ya da tedavi amaçlı kullanılan yabancı cisimler *S. aureus* infeksiyon sıklığını arttırmırlar. Başta influenza infeksiyonu olmak üzere viral infeksiyonlar da *S. aureus*

enfeksiyon sıklığını arttırır. Diyabetik hastalar *S. aureus* enfeksiyonları için önemli bir risk grubudur.^{43,44}

1. Deri enfeksiyonları: İnsanlarda en sık görülen enfeksiyon tipidir. Kıl folikülü enfeksiyonunun (folikülit) deri altı dokuya yayılmasıyla fronkül ve karbonkül meydana gelir. Püstüler ve impetigo şeklindeki lezyonlar yenidoğanlarda ve çocuklarda daha sık görülür.^{43,44}

S. aureus ile ilişkili bütün lokalize, primer cilt enfeksiyonları yumuşak dokulara hızla yayılabilir ve sellülit, lenfanjit ve nekrotizan fasiit meydana getirebilir. Puerperal dönemin genellikle ikinci veya üçüncü haftasında olmak üzere emziren kadınların %1-3'ünde *S. aureus* ile ilişkili mastit gelişebilir. Cerrahi yara enfeksiyonları, ameliyattan iki gün veya daha sonra insizyon bölgesinde ödem, eritem ve ağrı gelişmesiyle karakterizedir.^{43,44}

2. Kemik ve Eklem Enfeksiyonları: Stafilokoklar yetişkinlerde kemik ve eklem dokusuna en sık travma veya penetran yaralar sonucunda direk inokülasyonla ulaşırlar. Çocuklarda daha sık olmak üzere, hematogen yayılım komplikasyonu olarak da osteomyelit veya septik artrit ortaya çıkabilir; bu da sıklıkla yeni doğanda umbilikal enfeksiyonlardan sonra hematogen yayılım sonucu özellikle alt ekstremitelerde görülür.^{43,44}

3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları: *S. aureus* pnömonisi aspirasyona veya hematogen yayılıma bağlı meydana gelir. Her iki durumda pulmoner enfeksiyon, apse oluşumu ve plevral empiyem gibi lokal komplikasyonlara yol açabilir.^{43,44}

4. Üriner Sistem Enfeksiyonları: *S. aureus* bakteriyemi esnasında renal kortekse yerleşerek renal kortikal apseye, kalıcı üriner kateteri olanlarda ise assendan yolla enfeksiyona yol açabilir.^{43,44}

5. Endokardit: Stafilokoklar tüm bakteriyel endokardit vakalarının %20-30'undan sorumludurlar, bu vakaların da %80-90'ında etken *S. aureus*' dur. İntravenöz ilaç alışkanlığı olanlarda gelişen sağ kalp endokarditlerinde de en sık rastlanan etken *S. aureus*' dur.^{43,44}

6. Bakteriyemi: Bakteriyemilerin çoğunun intravenöz kateter (%26) ve solunum yolu enfeksiyonu (%13) ile ilişkili olduğu saptanmıştır.⁴³⁻⁴⁴ Dolayısıyla hem toplum hem de hastane kökenli bakteriyemiler, uygun antibiyotik tedavisine rağmen yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederek.

7. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Hastalıklar:

a. Stafilokoksik Besin Zehirlenmesi: Bakteriyel besin zehirlenmelerinin en sık görüleni stafilokoksik besin zehirlenmeleridir. Hastalık *S. aureus*'un bir toksijenik suşu tarafından oluşturulan ısıya dirençli enterotoksin B veya diğer enterotoksinlerle kontamine gıdaların yenilmesi sonucu ortaya çıkar. Uygun olmayan koşullarda saklanmış kremalı tatlılar, işlenmiş et, dondurma, konserve gıdalar, patates salatası gibi yiyecekler bulaşmaya yol açar. Hastalık 2-6 saatlik bir inkubasyon periyodundan sonra bulantı ve kusmayla başlar, daha sonra karında kramplar ve ishal tabloya eklenir.⁴²

b. Stafilokoksik Haşlanmış Deri Sendromu: Stafilokokların eksfoliyatif toksinine bağlı olarak ortaya çıkan ve deride yaygın büller ve soyulmayla karakterize bir klinik tablodur. En çok 5 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Yenidoğanlarda hastane epidemileri şeklinde görülebilir.^{42,43}

c. Toksik Şok Sendromu: Toksik şok sendromu 1980'li yıllarda vajinal tampon kullanan kadınlarda menstrüasyon sırasında oluşan bir hastalık olarak dikkati çekmiştir. *S. aureus*'un toksik şok sendromu toksini (TSST-1) salgılayan suşlarıyla kolonizasyon veya enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan ateş, diyare, eritrodermi, mental konfüzyon ve ciddi refrakter hipotansiyonla karakterize bir klinik tablodur. Menstrüasyonla ilişkili toksik şok sendromunun azalmasıyla menstrüasyonla ilişkisiz toksik şok sendromunun da belirgin epidemiyolojik önemi olduğu anlaşılmıştır. Bazı menstrüasyonla ilişkisiz toksik şok sendromu vakaları *S. aureus* TSST'i vajinal taşıyıcıları ve nazal taşıyıcılarında daha sık görülmektedir. Vajinal enfeksiyon, kontraseptif aletlerin kullanımı, doğum, abortus ve postpartum dönem gibi koşullarda da enfeksiyona sebep olur.⁴⁷

2.3.5. *S. aureus* enfeksiyonlarının epidemiyoloji ve patogenezi

Nazal kolonizasyon:

İnsanda hastalık etkeni olan stafilokoklar cilt ve mukozal yüzeylerde kolonize olurlar. İnsanda anterior burun mukozası, nazofarinks, perineal bölge ve cildin normal flora üyesidir. Çalışmalar anterior burun deliklerinin en sık kolonize olan bölge olduğunun göstermiştir.

2 tip *S. aureus* taşıyıcılığı görülebilir: Sağlıklı bireylerin %10-35'i persistan taşıyıcıdır ve bu suşu her zaman taşırlar. %20-75'i ise intermittan taşıyıcıdır. Persistan taşıyıcılarda bakteri yükü daha fazladır ve bu yüzden bunlarda infeksiyon gelişme riski daha yüksektir. Persistan taşıyıcılık çocuklarda erişkinlerden daha fazladır ve çoğu kişide 10-20 yaşlar arasında intermittan taşıyıcılığa dönüşür.^{42,43}

S. aureus burun mukozasına teikoik asit komponentleri aracılığıyla bağlanır. Bu bağlantıda nazofaringeal mukozadaki musin de önemli yere sahiptir. *S.aureus*'un travmatize ve bütünlüğü bozulmuş deriye, yabancı cisimlere ve endotelial hücrelere adezyonunda ise bakterinin MSCRAMM molekülleri ile konak dokularındaki fibrinojen, fibronektin, laminin, trombospondin, vitronektin, elastin, kemik sialoproteinleri, kollajen ve laminin yapıları arasındaki ilişki rol oynamaktadır.⁵⁵

Nazal taşıyıcılığı etkileyen başka faktörler de vardır. Bunlar *S. aureus*'un hücre duvarında bulunan lipoteikoik asit ve bazı yüzey proteinleri, viral infeksiyonlar sırasında burun epiteline adheransın artması, bazı HLA tipleri (DR3 gibi), yaş, ırk, genetik yapı, immünolojik durum, kadınlarda hormonal durum ve hastanede yatış gibi durumlardır.⁵⁰

Bazı hasta gruplarında taşıyıcılık belirgin olarak artmıştır; insülin bağımlı diabetes mellitus, hemodiyaliz veya periton diyaliz hastaları, intravenöz ilaç kullanıcıları, *S. aureus* cilt enfeksiyonu olanlar, karaciğer yetmezliği ve HIV enfeksiyonu olanlardır. Yapılan çalışmalarda kontrol gruplarına göre hemodiyaliz uygulananlarda (%30.1–84.4), insüline bağımlı diyabetlilerde (%24.1-76.4), HIV enfeksiyonu olanlarda (%26.9-54.7), *S. aureus* deri enfeksiyonu olanlarda (%42-100) ve intravenöz uyuşturucu bağımlılarında (%33.8-61.4) nazal *S. aureus* taşıyıcılığı daha yüksek olarak bulunmuştur.^{48,49}

S. aureus kolonizasyonu genelde genetik özelliklerle ilişkilendirilirken, MRSA için kolonizasyon ve infeksiyon açısından en önemli risk faktörleri, yaş, altta yatan hastalıklar, yabancı cisimler olarak belirlenmiştir. Ayrıca MRSA enfeksiyonu açısından burun taşıyıcılığı, antibiyotik kullanımı fazlalığı ve uzun süreli hastanede kalma da önemli risk faktörleri olarak gündeme gelmektedir.⁴⁸⁻⁵⁰

Birçok hastanede endemik hale gelmiş olan MRSA için de kaynak genelde kolonize veya infekte olan hasta ya da sağlık çalışanları olmaktadır. MRSA'nın zemin, lavabolar, çalışma alanları gibi ortamdan; turnike, tansiyon aleti gibi araç

gereçten izole edilebildiği gösterilmiş olmakla birlikte bunların mikroorganizmanın yayılması için kaynak olması olasılığı düşüktür. Ancak pansuman malzemesi gibi kritik, yarı-kritik malzemenin ve yanık ünitesi gibi riskli bölümlerde duş, sedye gibi malzemelerin salgın olabildiği bildirilmektedir. Hastadan hastaya bulaşmada sağlık çalışanlarının elleri en önemli araçtır. Yara debridmanı, trakeal aspirasyon, kateter bakımı, elbise değiştirme gibi işlemlerden sonra personelin ellerinde MRSA bulunabildiği gösterilmiştir. Kendisi nazal taşıyıcı olan personelin elleriyle hastaya bulaştırması çok daha sık karşılaşılan bir durumdur.⁴⁸⁻⁵⁰

Enfeksiyonlar genellikle kolonize suşun cilt veya mukozal yüzeylere olan travma, sıyrık sonucu normalde steril olan bölgelere girişi ile gelişir. Fakat bu travma genelde fark edilemeyecek kadar küçüktür. Ayrıca insandan insana bulaş (hava, eller, infekte yaralar yoluyla) da mümkündür ki bu genellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan mekanizmadır. Direkt olarak steril bölgeye inokulasyon olabileceği gibi genelde önce kolonizasyon, ardından enfeksiyona neden olur. *S. aureus* mukozalara veya epitelyal tabakaya penetre olduğu zaman peptidoglikan tabaka, teikoik asit ve protein A gibi hücre duvarı komponentleri ve ekstraselüler ürünleri aracılığıyla konakta kemotaksis ve fagositoz yanıtları oluşur. Opsonizasyonun ardından fagosite edilen stafilokoklar fagositler vakuoller içinde hızla öldürülür. Bu öldürme işleminde hidrojen peroksit, süperoksit ve diğer reaktif radikaller ile fagositler içindeki düşük pH, laktoferrin ve granüler katyonik proteinler görev alır. Ancak bazı durumlarda *S. aureus* fagositer hücreler içinde de yaşamını sürdürebilir veya konağa ait diğer savunma mekanizmalarında bozukluklar ya da yetersizlikler nedeniyle sık tekrarlayan invazif enfeksiyonları oluşturabilir.⁴⁸⁻⁵⁰ Genel popülasyonda %20-45 olan taşıyıcılık, sağlık çalışanlarında %50 - 90'a kadar çıkmaktadır.⁵¹

2.3.6. Tedavi

Lokalize kendini sınırlayan stafilokok enfeksiyonlarının çoğunda antibiyotik tedavisine gerek yoktur. Penisilinaz üretiminin % 95 ten fazla saptanması sebebi ile penisilinler günlük uygulamadan çıkarılmıştır.

Eğer yayılmaya eğilim gösteren stafilokok enfeksiyonlarında etken toplumdan kazanılmış ise penisilinaza dirençli penisilinler ilk seçenek olarak

görülmektedir. Ancak endokardit, osteomyelit gibi enfeksiyonlar söz konusu ise rifampisin veya gerekirse bir aminoglikozidle kombinasyon düşünülmelidir.⁴⁴

Hastane kökenli ağır enfeksiyonlarda metisiline direnç sıklığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durumda ilk seçilecek ilaç glikopeptidler (vankomisin ve teikoplanin) olmalıdır. ABD'den glikopeptid direnci bildirilmiştir.⁵² Ülkemizde glikopeptidlere karşı direnç bildirilmemekle birlikte VISA ve azalmış duyarlılık bildirilmiştir.⁴⁹ Son yıllarda glikopeptidlere karşı gelişen azalmış duyarlılık durumlarında ve VISA (Vankomisine orta derece duyarlı *Staphylococcus aureus*) enfeksiyonlarında linezolidler ve streptograminler denenmeye başlanmıştır. Streptograminlere karşı ülkemizde yapılan klinik çalışmalarda genelde direnç tespit edilmemekle birlikte bildirilen en yüksek direncin %1dir.⁵³ Linozolidlere karşı ise dünyada ve ülkemizde MRSA' lara karşı henüz direnç bildirilmemiştir.^{54,55} Ciddi veya glikopeptidlere cevap vermeyen MRSA 'lı diyabetik ayak ülserlerinde tedavide bu antibiyotikler kullanılabilir. Ülkemizde Metisiline dirençli enfeksiyonlar trimetoprim sülfametaksazola duyarlı olsalar da tedavi sırasında hızla direnç geliştiği için ağır enfeksiyonların tedavisinde tercih edilmez.⁵⁴

2.3.7. *S. aureus* suşlarında antibiyotik direnç problemleri

1940'lı yılların başında kullanıma giren penisilinlere olan direnç penisilinaz üreten bakterilerin selektif seçilmesi üzerine 5 yıl içinde %50'ye çıkmış, günümüzde ise %95'lere ulaşmıştır.⁵⁶ 1961 yılında, klinik kullanıma girdikten 2 yıl sonra metisilin direnci görülmeye başlanmıştır. Bunu 1970'li yıllarda yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe (klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler, rifampisin, aminoglikozidler ve trimetoprim/sulfometoksazol) direnç gelişmesi ve 1980'li yıllarda kinolon direncinin saptanması izlemiştir.⁵⁷

S. aureus'un β laktam antibiyotiklere karşı en sık görülen direnç mekanizması genellikle plazmidle taşınan bla geni üzerine kodlanan penisilinaz enzimi üretimidir.⁵⁷ Penisilinaz penisilin ve diğer penisilinaz hassas bileşikleri penisiloik aside parçalar. İlk kez Kirby ve ark. tarafından 1944 yılında bildirilmiştir.⁵⁷ Günümüzde hem hastane hem toplum kaynaklı izolatlarda %80 oranında bulunmaktadır.^{56,58}

Metisilin direnci:

1960'lı yıllarda kullanıma giren semisentetik β laktamaz dirençli penisilinlere kısa süre içinde direnç geliştiği gözlenmiştir. Bu antibiyotiklerin hiç kullanılmadığı ülkelerde dirençli suşların bulunması stafilokoklarda bu direnç şeklinin daha önceden var olduğunu göstermiştir.⁵⁹

1. İntrinsik (kromozomal olarak geçen) direnç: Bu direnç şekline metisilin direnci adı da verilmektedir. Penisiline dirençli suşlarda olduğu gibi metisiline dirençli suşlar da beraberinde diğer antimikrobiyallere direnç genlerini taşımışlardır. Oksasilinin minimal inhibitör konsantrasyonunun 4 $\mu\text{g/ml}$ üzerinde olması durumunda metisilin direncinden bahsedilir.⁵⁹ Metisilin dirençli stafilokoklarda duyarlı olanlardan farklı olarak ilave bir PBP (Penicillin Binding Protein) vardır. PBP2' nin hemen altında yer alan PBP 2a veya PBP 2' adı verilen 78 kDa moleküler ağırlığındaki bu enzimin β laktam antibiyotiklere ilgisi diğer PBP'lerden daha düşüktür. Bu nedenle metisilin dirençli bakteri β laktam antibiyotiklerle karşılaştığında diğer tüm PBP' ler antibiyotik tarafından bloke edilse dahi bu enzim düşük afinitesi sebebi ile β laktam antibiyotiğe bağlanamaz ve tüm fonksiyonları üzerine alarak bakteri duvar sentezini devam ettirir ve bakterinin yaşamını idame ettirir. Bu nedenle metisiline dirençli olan bir stafilokok suşunun, duyarlılık testi yapılmaksızın tüm β laktam grubu antibiyotiklere (penisilinler, β laktam + β laktamaz inhibitörü kombinasyonları, tüm sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler) dirençli olduğu kabul edilir.⁶⁰⁻⁶²

Metisilin direncinin düzenlenmesinden mec1 ve mecR1 proteinleri, blaZ sisteminin regülatör-sinyal verici proteinleri, fem (factors essential for resistance to methicillin) genleri sorumludur. Ayrıca penisilin bağlayan protein 2a'nın (PBP 2a) fonksiyon görebilmesi için bazı internal ve eksternal faktörlere ihtiyaç vardır. Bu nedenle heterojen direncin saptanması için laboratuarda bazı çevresel ortam şartları sağlanmalıdır.⁶⁰⁻⁶²

Metisilin direncinden sorumlu mekanizmalar başta mecA geni varlığına bağlı PBP 2a yapımı olmak üzere PBP' lerin beta laktam antibiyotiklere afinitelerinde azalma ve beta laktamazların aşırı yapımıdır. mecA geni tüm MRSA suşlarında bulunan mobil bir genetik elemanın parçasıdır.⁶⁰ Katayama ve ark. mecA'nın stafilokoksik kaset kromozomu mec (SCCmec) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçası olduğunu göstermişlerdir.⁶² Stafilokokal kaset kromozomu 2 gen

bölgesi tarafından kontrol edilir; ccr ve mec4 tür. ccr ORF den kaynak alır. Mec4 plazmid ile ilişkili bölgedir. Bunlardaki mutasyon ve çeşitliliğe bağlı olarak oluşan 21-67 kb ağırlığında tanımlanmış 5 farklı SCCmec elemanı vardır: tip I, II, III, IV ve V. Prototip olan SCCmec tip I ilk MRSA Jevons suşudur ve ccr1 ve mecB genlerini, SCCmec tip II ise ccr2 ve mecA genlerini, SCCmec tip III ise ccr3 ve mecA genlerini içerir. SCCmec I,II,III MRSA suşları çoklu ilaç direncine neden olmaktadır ve bunlar genellikle hastane ortamında bulunmaktadır. Bu hastane kaynaklı MRSA (HA-MRSA) olarak adlandırılır ve uzun süre hastanede yatma, cerrahi, altta yatan kronik bir hastalığın olması ve immünsüpresyon gibi etkenlere bağlı oluşur. SCCmec tip IV ccr2 ve mecB genlerini SCCmec tip V ise ccr5 ve mecC2 genlerini içerir. SCCmec IV ve V daha önce hastane ortamında bulunmamış ve altta yatan bir risk faktörü bulunmayan kişilerde saptanmıştır ve bu metisilin rezistans bölgesinin bulunduğu suşlara toplumdaki kazanılmış MRSA (CA-MRSA) denilir ve bunlar HA-MRSA'lara oranla daha duyarlıdır.⁶³ SCCmec tip IV ve V'in diğer üç elemandan en önemli farkı daha küçük ve genetik olarak daha mobil olması ve yanında ek antimikrobiyal direnç geni taşımasıdır. CA-MRSA infeksiyonları için SCCmec IV karakteristiktir ve PVL(Panton-Valentine leukocidine) gen adı verilen insan ve tavşan polimorfonükleer hücrelerde zayıf sitotoksik etkili olan bir toksin kodlar.⁶²⁻⁶⁴ Toksik etki LukS-PV ve LukF-PV diye adlandırılan iki ekzotoksinin sinerjistik aktivitesine bağlıdır. Bu iki protein ılımlı bakteriyofajlar aracılığı ile taşınır ve lizojenik dönüşüm ile PVL (-) negatif *S.aureus*'un toksin ürettiği gösterilmiştir.⁶³ PVL tavşanlara intradermal enjekte edildiğinde enjeksiyon yerinde inflamatuvar lezyon, kapiller dilatasyon, kemotaksis, karyoreksis ve cilt nekrozu yapar. Bu toksin ile ilişkili olarak CA-MRSA sağlıklı toplumda cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ile genç erişkinlerde ve çocuklarda influenza benzeri nekrotizan pnömoni yapar.⁶⁵

PBP 2a'nın sentezini sağlayan genetik bilginin bakteri kromozomunda lokalize ilave 2 kb' lik bir gen olan mecA geninde taşıdığı gösterilmiştir. Bu gen metisilin dirençli olanlarda var iken duyarlı olanlarda yoktur. Transdüksiyon ile bu genetik bilgi dirençli suşlardan duyarlı suşlara aktarılabilmektedir. Bakteride metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için mecA geninin sunulması gerekir. MecA geni taşıdığı halde metisiline değişik düzeylerde dirençli ve hatta duyarlı stafilokoklar olabilmektedir yani mecA geninin varlığı bu tür metisilin direnci için

mutlak gerekli ancak yeterli değildir. Meydana gelen metisilin direnci iki şekilde olabilir.⁶²⁻⁶⁴

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

Heterojen direnç: Klinik uygulamalarda daha sık görülen tespiti güç ve esas problem teşkil eden dirençtir. Koloni oluşturan tüm bakteriler *mecA* genini taşımasına rağmen direnç ancak 10^6 ya da 10^8 bakteriden birinde tespit edilebilmektedir. Bunun *mecA* geninin fonksiyonunu kontrol ettiği sanılan "Factor essential for methicillin resisten" fem A veya factor X gibi kontrol genlerinin fonksiyonları ile meydana geldiği düşünülmektedir. Bu tür direnç duyarlılık testleri %4 NaCl içeren ortamda düşük ısıda yapıldığı ve inkubasyon süresinin 48 saat olduğu şartlarda daha iyi tespit edilebilmektedir.^{42,66} Koagülaz negatif stafilokoklarda (KNS) *mecA* geninin heterojen olarak sentezlenmesi fenotipik testlerle metisilin direncinin gösterilmesini zorlaştırmaktadır.

Metisilin direnci için *mecA* tespiti ile birlikte *nuc* geninin de tespit edilmesi KNS ile *S.aureus* ayrımının yapılmasını sağlamaktadır. TNase proteinini en iyi *nuc* geni karakterize eder. Termonükleaz (TNase) *S.aureus*'ün ürettiği koagülaza benzeyen ekstraselüler ısıya dayanıklı nükleaz enzimidir. TNase 17000 Da moleküler ağırlıkta bir proteindir ve bu endonükleazın enzimatik aktivitesi 100°C ye 1 saat dayanıklıdır.^{67,68}

2. Borderline (sınırdaki) metisilin direnci (BORSA): Bakteri tarafından aşırı β laktamaz salgılanmasına bağlı gelişir. Bu normalde penisilin direncine sebep olur. Metisilin bu enzime dirençlidir fakat aşırı miktarda salgılandığı zaman metisilini de kısmen parçalayarak metisilin direncine sebep olduğunu gösterilmiştir. Buna sınırdaki direnç (Borderline) denilir. Oksasilin MIK inin 4-8 $\mu\text{g/ml}$ olması halinde borderline direnç varlığından söz edilir. Bu direnç plazmid kontrolündedir. Bu tür direnç β laktam antibiyotiklerin β laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmesi ile yenilebilir.⁴²

3. İntermediate (Orta derecede) metisilin direnci (MODSA): Son yıllarda β laktamaz negatif olup *mecA* geni taşımayan *S. aureus* suşları izole edilmiştir. Bunlarda yeni bir direnç mekanizması olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizma

stafilokoklarda modifiye PBP lere bağlı duyarlılık azalmasıdır. Bu tip dirençli suşlara orta derecede dirençli *S. aureus* (MODSA) denmektedir. Bu suşlar normal yapıda PBP 1 ve PBP 2 içermektedirler ancak PBP' lerin β laktam antibiyotiklere afinitesi düşüktür.⁶⁶

Türkiye'de 1996 -1999 yılları arasında yapılan dokuz ayrı çalışmada bildirilen metisiline direnç oranlarının ortalaması %47.5 olarak hesaplanmıştır. 2000–2003 yıllarında ise sekiz ayrı çalışmada sonuçlarının ortalaması da bu orana çok yakın (%46.6) bulunmuştur. Ancak ülkemizde 2003–2004 yıllarında hastanede yatan hastalarda izole edilen suşlara yönelik veriler son iki yılda metisilin direncinin artarak % 52 ye yükseldiğini göstermiştir.⁶⁹

Ülkemizde 2003–2004 yıllarında bu oran İstanbul'da %20, Denizli'de %14 ve Düzce'de %32 olarak bulunmuştur.⁷⁰⁻⁷² Ayrıca üç ayrı çalışmada sağlıklı bireylerin burnunda taşınan *S. aureus* suşlarının %0.3 %6 ve %14'ünün metisiline dirençli olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda MRSA sıklığının, kreşlerde, yatılı okullarda ve IV uyuşturucu kullananlarda yükseldiği bildirilmektedir. 2010 yılına kadar bugün saptanan toplumdaki MRSA infeksiyonlarının % 25 artacağı öngörülmektedir.⁷³⁻⁷⁵

2.3.8. MRSA infeksiyonlarının kontrolü:

Her sağlık kuruluşunun MRSA sorunu farklı boyutlardadır. MRSA kontrol programları kolonizasyonun önlenmesi ve etkenin hastalar arası taşınmasının engellenmesine odaklanmaktadır. Böyle bir program el yıkama, izolasyon önlemlerinin uygulanması, iletişim, taşıyıcıların tedavisi, eğitim, surveyans, kontrollü antibiyotik kullanımı gibi temel öğeler üzerinde yapılandırılmaktadır.^{73,77}

2.3.9. Hastalar arası MRSA transferinin önlenmesi

1. Hasta izolasyonu: Sadece yüzeysel veya nazal MRSA taşıyıcısı olan hastalar ayrı bir odaya alınmalı ve tedavi başlanıp 2–3 günde bir kontrol kültürler ile takip edilmelidir.

2. Personel ile yayılımın önlenmesi: Salgın ile ilişkisi olduğu gösterilen durumlarda veya tedavi gereken MRSA enfeksiyonu varlığında antibiyotik tedavisi uygulanmalı ve iş kısıtlaması açısından değerlendirilmelidir.

3. Taşıyıcıların tedavisi: Dekolanizasyon rutin önerilmemektedir fakat gerekli durumlarda kaynak antibiyotik tedavisi ile küçültülebilir. Sistemik antibiyotikler artan direnç sebebi ile tercih edilmez. Lokal dezenfeksiyon daha başarılı olmaktadır ve bunun içinde %2 mupirosin pomat tercih edilir.⁷⁶

4. Eğitim: Hastane içinde MRSA enfeksiyonun kontrol altına alınabilmesi için hasta, hasta yakınlarının ve personelin eğitilmesi gerekir.⁷⁶⁻⁷⁹

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma grubu

Çalışmaya Mart 2007-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 konulmuş 250 hasta alındı ve bunların 47 tanesinde diyabetik ayak ülseri vardı.

Hastalarla önce yüz yüze görüşme ile hasta bilgilendirilip onay alındıktan sonra bir form dolduruldu. Formda demografik ve klinik özellikler yaş, cinsiyet, kullandığı ilaçlar, özgeçmişi (kaç yıldır hasta olduğu, daha önceden geçirilmiş diyabetik ayak öyküsü, hastanede yatış öyküsü, antibiyotik öyküsü, hastanın kırsal kesim ya da şehirde yaşadığı), ayağında ülser varsa bunun boyutu, süresi, HbA1c düzeyi sorgulandı.

3.2.Örneklerin alınışı ve mikroorganizmaların izolasyonu

Hastaların ayağındaki enfekte lezyonlar önce %0.9' luk serum fizyolojik ile yıkandı ve ülser debride edildikten sonra derin dokudan steril bir eküvyon ile bastırılarak ve 360° döndürülerek, bazısından ise derin doku küretajı ile ya da aspirasyon ile örnek alındı.⁸⁰⁻⁸² Ayrıca bir lam üzerine Gram boyama için yayma yapıldı.

Diyabetli hastaların burnundan *S.aureus* burun taşıyıcılığı için örnek alındı. Örnek almak için steril pamuklu eküvyonlar kullanıldı. Sürüntü örnekleri her iki burun ön deliklerinin 1-2 cm içerisinden eküvyonlar sürülerek ve 360° çevrilerek alındı.⁸⁰

Alınan örnekler tiyoglikolatlı buyyon içinde labarotuarı ulaştırıldı. Örneklerin aerop ve anaerop kültürleri yapıldı. Gram boyalı preparatlar hazırlandı. Aerop kültür için örnekler %5 koyun kanlı agar (GBL, İstanbul, Türkiye) ve Eosin Methylen Blue (EMB) (GBL, İstanbul, Türkiye) agara ekilerek 37° C 'de 24 saat enkübe edildi. Anaerop kültür amacı ile örnekler iki adet kanlı besiyerine, EMB besiyerine ve Schaedler besiyerine (Biolab, Macaristan) ekildi; kanlı agar, Schaedler besiyeri ve EMB besiyerinin bir tanesi anaerop kavanoz içinde 37° C de 72 saat enkübe edildi. Anaerop ortam (Anaero-Gen, Oxoid, Birleşik Krallık) gaz kitleri ile sağlandı. Anaerop enkübasyon sonrası üreme tespit edilen koloniler aerop besiyerlerinde kiler ile karşılaştırıldı ve Gram boyalı preparat hazırlanarak incelendi.⁸¹⁻⁸⁴

Gram olumlu kok morfolojisindeki bakterilerde öncelikle katalaz enzimi araştırıldı. Bu test için steril iğne öze ile alınan koloni bir lam üzerine damlatılan % 3' lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile karıştırıldı. Saniyeler içinde oksijenin serbest kalması sonucu hava kabarcıklarının oluşması olumlu reaksiyon olarak değerlendirildi. Katalaz olumlu bulunan bakterilerde daha sonra koagülaz özelliğine bakıldı. Koagülaz testinde önce lam sonrada bağlı koagulazı (clumping faktör) tespit etmek için tüp deneyi yapıldı.⁸¹⁻⁸⁴ Lam deneyinde temiz lam alınarak iki ucuna yakın kısımlarına birer damla distile su damlatıldı. Kuşkulu stafilokok kolonilerinden öze ile alınarak bu iki damlaya karıştırılıp homojen süspansiyon elde

edildi. Süspansiyonlardan birisinin üzerine bir damla plazma damlatıldıktan sonra elde çevirme hareketleri yapılarak karıştırıldı. Sonuçta 10 - 30 saniye içerisinde kontrol damlası homojen için ayrılan damla (bakteri + serum fizyolojik damlası) homojen görünümde olmasına karşın plazmalı damla içerisinde gözle görünür kümelerin oluşması durumunda stafilokokların plazmayı koagüle ettiğine karar verildi. Tüp yöntemi ile paralel sonuçlar alınmaması durumunda tüp yöntemi tekrarlandı.⁸¹⁻⁸⁴ Özellikle metisiline dirençli kökenlerde lam deneyi ile koagülazın negatif bulunabileceği ifade edilmektedir.⁸⁴ Tüp deneyi için bir tüpün içerisine fizyolojik tuzlu su ile 1/5 oranında sulandırılmış sitratlı tavşan plazmasından 1 ml konuldu, 24 saatlik kanlı agarda elde edilmiş koloni öze ile alınıp plazma içerisinde ezilerek süspansiyon haline getirildi ve 37°C lik su banyosu içine bırakılarak 1,2,4,8 ve 24 saatlerde kontrol edildi. Pıhtının oluşması olumlu oluşmaması olumsuz kabul edildi. Koagülaz olumlu bulunan koklar *S.aureus* olarak tanımlandı.⁸¹⁻⁸⁴

Katalaz olumsuz, Gram olumlu kokların ilk olarak hemoliz özellikleri incelendi. β hemoliz yapanlarda basitrasin ve trimetoprim /sülfametaksazol duyarlılığı araştırıldı. Bunun için kanlı agara bakteri ekimi yapıldı. Besiyerinin ortasına basitrasin ve trimetoprim/sülfametaksazol diski yerleştirilerek 24 saat 37°C de enkübe edildi. Basitrasin diskinin çevresinde inhibisyon zonu oluşturan, trimetoprim/sülfametaksazol diskinin etrafında ise inhibisyon zonu oluşturmayan β hemoliz yapmış Gram olumlu koklar A grubu β hemolitik streptokoklar olarak tanımlandı. Basitrasin dirençli β hemolitik streptokokların % 6.5 NaCl ' lü besiyerinde üreme ve eskülünü hidrolize etme özellikleri araştırıldı. Eskülünü hidrolize eden ve % 6.5 NaCl besiyerinde üreyen bakteriler enterokok cinsleri olarak tanımlandı.⁸¹⁻⁸⁴

Basitrasin dirençli β hemolitik, eskülünü hidrolize etmeyen, nonhemolitik ve α hemolitik streptokoklar RAPID ID 32 STREP (API, BioMérieux, Fransa) ile tanımlandı.

Gram olumsuz basil morfolojisindeki kolonilerde ise katalaz ve oksidaz bakıldı. Oksidaz testi için bir ucuna tetramethyl-p-phenylenediamine-dihydrochloride solüsyonu emdirilmiş çubuklar koloni üzerine değdirildi. Diskin bakteri ile temas eden bölgesinde mor renk oluşumu incelendi. Mor renk oluşumu oksidaz pozitif kabul edildi. Katalaz olumlu oksidaz olumsuz Gram olumsuz basiller ID 32E (API, BioMérieux, Fransa) ile tanımlandı.⁸¹⁻⁸⁴

Katalaz ve oksidaz olumlu nonfermentatif Gram olumsuz basiller API 32 GN (API, BioMérieux, Fransa) ile tanımlandı.

Gram boyamada maya olduğu tespit edilen ve lamın üzerine 1 damla serum fizyolojik damlatılarak ezilen ve üzerine lamel kapatılarak mikroskopla bakılıp maya olduğu doğrulanan kolonilere önce germ tüp testi uygulandı. Bunun için bir öze dolusu koloni alındı ve serum içerisinde süspansiyon edildi; etüvde 37° C de 2 saat enkübe edildi ve mikroskop ile x400 büyütmede tomurcuklanma görülen mayalar germ tüp testi pozitif olarak değerlendirildi ve *Candida albicans* olarak kabul edildi. Şüpheye düşülen koloniler ve germ tüp negatif koloniler API ID 32 C (API, BioMérieux, Fransa) ile tanımlandı^{82,85,86}

Anaerob ortamda enkübe edilen örnekler 72 saat sonra değerlendirildi. Üreme tespit edilenlerde, aerotolerans kontrolü için kanlı besiyerine pasaj yapılarak, aerob ortamda 24 saat 37° C de enkübe edildi. Aerotolerans göstermeyen bakteriler anaerob kabul edildi.^{81-84,86}

3.3. Antibiyotiklere duyarlılığın tespiti

Klinik örneklerden izole edilen *S.aureus*' ların metisilin ve diğer antibiyotiklere duyarlılığını belirlemek için CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına uygun olarak yapılan Kirby-Bauer disk difüzyon testi kullanıldı.⁸⁷

Bunun için inokulumdaki bakteri yoğunluğu 0,5 Mc Farland olacak şekilde ayarlandı ve bu süspansiyondan pamuklu eküvyonlar ile Mueller-Hinton agar yüzeyine yayma ekimi yapıp besiyerleri 37° C de 18–24 saatlik enkübasyondan sonra değerlendirildi.^{82,83}

Sefoksitin 30 mikrogram ve oxacillin 1 mikrogram diskleri MRSA tanımlanması için kullanıldı.

Tablo 4'te kullanılan diskler (Bioanalyse (Ankara Türkiye) ve Oxoid (Birleşik Krallık)), antibiyotik miktarları ve *S.aureus* için zon çapları gösterilmiştir.⁸⁷

Tablo- 4. Kullanılan antibiyotik diskleri, miktarları, *S.aureus* için zon çapları

Antibiyotik	Miktar (µg)	Üretici firma	Duyarlı zon-mm	Orta zon-mm	Dirençli zon-mm
Penisilin(P)	10 IU/IE	Bioanalyse	≥29	-	≤28
Vankomisin(VA)	30	Bioanalyse	≥15	-	-
Linezolid (L)	30	Oxoid	≥21	-	-
Eritromisin (E)	15	Bioanalyse	23	14-22	13
Klindamisin(DA)	2	Bioanalyse	≥ 21	15-20	≤ 14
Trimetoprim/sülfametoksazol (SXT)	1.25+23.75	Bioanalyse	16	11-15	≤10
Gentamisin (CN)	10	Bioanalyse	15	13-14	12
Siprofloksasin (CİP)	5	Bioanalyse	17	15-16	15
Rifampisin (RD)	2	Oxoid	20	17-19	≥ 16
Mupirosin (MUP)	5	Bioanalyse	≥ 14	-	≤ 13
Tetrasiklin (TE)	30	Bioanalyse	19	15-18	14

3.4. *S.aureus*'un moleküler karakterizasyonu

Ayaktaki yaralardan ve burun sürüntülerinden elde ettiğimiz *S.aureus* kökenlerinin moleküler karakterizasyonu için *nuc*, *mecA*, *PVL* genlerine konvansiyonel PCR ve jel elektroforesisi ile bakıldı.

3.4.1. DNA 'nın ekstraksiyonu

Bunun için önce *S.aureus*'ların DNA'larını elde etmek için bakteri lizisi yapıldı. Bu amaçla besiyerinde üreyen saf tek kolonilerden 1-2 koloni alınıp steril serum fizyolojik içinde homojen süspansiyon haline getirildi (Mc Farland 4 olacak şekilde) Oda sıcaklığına (15-25 °C) getirilen örneklerden 200 µl'e 1.5 ml lik mikro santrifüj tüpünün dibine koyuldu ve vorteksle karıştırıldı. 56°C 'de 10 dakika bekletildikten sonra tüpe 200 µl etanol (%96–100) eklenip 15 saniye tekrar vorteksle karıştırıldı. Tüpün içindeki sıvı 2 ml lik temiz toplama tüplerine yerleştirilmiş olan spin kolonuna tüpün çeperine değmeden dikkatlice koyuldu ve kapağı kapatılıp 6000x g (8000 rpm) hızda 1 dakika santrüfjlendi. Alttaki 2 ml lik tüp içindeki sıvı ile birlikte atılıp kolon temiz bir 2 ml lik tüpe yerleştirildi. Kolonun içine 500 µl buffer AW1 (wash buffer (QIAGEN Gmb ltd Hilden, Almanya) ekleyip tekrar 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrüfj edildi. Tekrar toplama tüpü içindeki sıvı ile birlikte atılıp kolon temiz bir 2 ml lik tüp içine yerleştirildi ve kolonun içine 500 µl buffer AW2 (wash buffer) (QIAGEN Gmb ltd Hilden, Almanya) eklendi ve maksimum hızda 20000 x g (14000rpm) 3 dakika santrüfj edildi. Tekrar tüp ile birlikte biriken sıvı atıldı ve spin kolon 1.5 ml'lik temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi; içine 200 µl buffer AE (elution buffer) (QIAGEN Gmb ltd Hilden, Almanya) ilave edildikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 6000xg (8000rpm) hızda 1 dakika santrüfj edildi. Böylece DNA ekstraksiyonu yapılmış oldu. Son ürün 200 µl' lik toplama tüplerine alındı.⁸⁸

3.4.2. Real time PCR ile MRSA nın identifikasyonu

Real time PCR ile MRSA identifikasyonu için *nuc* (*S.aureus* identifikasyonu), *mecA* (MRSA tespiti) ve PVL genlerinin amplifikasyonda kullanılan primer ve problemlerin sekans ve reaksiyon konsantrasyonları ile birlikte oligonükleotid dizisi (İontek lab. İstanbul, Türkiye) Tablo- 5 'te gösterilmiştir.

Tablo- 5. Çalışmada kullanılan DNA oligonükleotidleri

Primer/Probe	Oligonükleotid Dizisi	Baz Sayısı (bp)	100 Um için µl*
mecA forward	5'-GGCAATATTACCGCACCTCA-3'	20	613.71
mecA reverse	5'-GTCTGCCACTTTCTCCTTGT-3'	20	681.12
nuc forward	5'-CAAAGCATCAAAAAGGTGTAGAGA-3'	24	462.50
nuc reverse	5'-TTCAATTTTCTTTGCATTTTCTACCA-3'	26	720.66
PVL forward	5'-ACACACTATGGCATTAGTTATTT-3'	23	510.06
PVL reverse	5'-AAAGCAATGCAATTGATGTA-3'	20	580.83

*100 µM elde etmek için üzerine eklenmesi gereken hacim (µl)

3.4.3.PCR Amplifikasyon

Çalışmada PCR amplifikasyonu için master mix olarak 100 Mm KCl, 40 Mm Tris HCl, pH 8.4, 1.6 Mm dNTPs, iTaq DNA polimeraz, 50 units/ml, 6 Mm MgCl₂ konsantrasyonlarında hazırlanmış ve stabilizatör içeren TagMan PCR Core kiti (Bio - Rad Laboratories Ltd. Hercules CA, ABD) kullanıldı. Her örnekten 0.5 µl, buna ilaveten 12.5 µl master mix TagMan, her örnek için primerlerin forward ve reverse

larından ayrı ayrı 0.5 µl ve 6.5 µl de steril distile su koyularak final konsantrasyonu olarak 25 µl elde edildi. Bunu takiben gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real time PCR) yöntemi ile amplifikasyon için thermal cyclers da (Real time PCR detection sistem - IQ5, Bio-Rad Laboratories Ltd. Hercules, CA, ABD) program ayarlanarak başlangıçta 95 °C de 15 dakikalık denatürasyonu takiben, 40 döngü olacak şekilde 95 °C' de 15 saniye ve 55 °C de 60 saniye ve son adım ise 40°C kalacak şekilde yapılarak denatürasyon tamamlandı. Böylece amplifikasyon her bir hedef gen için tamamlanmış oldu.^{89,90}

3.4.4. Jel Elektroforezi

Çoğaltılan PCR örneklerinin nuc, mecA, PVL genlerinin her birisi için jel elektroforezi metodu kullanılarak bant paternleri görüntülendi ve analiz edildi. Yürütme ve görüntüleme için %2'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için 1 gr agaroz (Molecular biology agarose, Bio-Rad laboratories Ltd. Hercules CA, ABD) ve 100 ml 0.5x TBE buffer (pH:8.3; 0.09 M tris, 0.09 borik asid, 2 mM EDTA) kullanıldı. Manyetik karıştırıcı yardımı ile 100–150 °C de homojen hale gelinceye kadar yaklaşık 10-15 dakika karıştırıldı.

Jel hava kabarcığı oluşturmada agaroz jel sistem aparatına döküldü. (Sub-cell GT Bio - Rad laboratories Ltd. Hercules CA, ABD) 10 dakika kadar jelin donması beklendi ve taraklar çıkarılıp elektroforez tankına yerleştirildi. Jelin kurumaması için üzeri 0.5x TBE solüsyonu ile kaplandı. DNA' yı boyamak için ethidium bromide (Promega, Madison, ABD) kullanıldı. Jelde tarakların açtığı çukurların içine 1 µl load buffer + 3µl örnek + 1µl ethidium bromide koyuldu, moleküler ruler çukuruna ise 1 µl load buffer + 2.5 µl moleküler ruler olarak kullandığımız düşük molekül ağırlıklı DNA (DNA size standart 100 bp) + 1µl ethidium bromide koyuldu ve 150 V ta 15 dakika yürütülüp UV ışığı altında görüntülenip (Gel Doc EQ 170–8060 Bio-Rad laboratories Ltd.Hercules CA, ABD) resimleri alındı ve oluşan bantlar değerlendirildi.^{89,91,92}

3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatiksels analiz SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 12,0) paket programı ile yapıldı.

Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında One-Way ANOVA testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen karşılaştırmalarda ise Kruskal- Wallis testi uygulandı. Katagorik verilerin karşılaştırılması için ise Chi-square test kullanıldı. Sonuçlar anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 250 olgunun 142 'si (%56,8) kadın ve 108'i (% 43,2) erkek idi. Hastaların yaşları 18 ile 95 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 58 ± 11 idi. Hastalar ortalama $11,5 \pm 7,5$ yıldır (1- 40yıl) DM hastası ve bunların 34 (%13.6) tanesi tip I DM, 216'sı ise (%86.4) tip II DM' du. HbA_{1c} ortalamaları $5,7 \pm 1,5$ olarak ölçüldü. Olguların demografik ve klinik özellikleri Tablo 6' da özetlenmiştir.

Tablo- 6. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Özellikler	n (=250)	%
Erkek : Kadın oranı	108: 142	43.2 : 56.8
Yaş (yıl)	58 ± 11 (18-95)	
Tip I : Tip II	34 :216	13.6 : 86.4
HbA _{1c} (%)	5.7 ± 1.5 (4-12)	
Kent : Kırsal	172 : 78	68.8 : 31.2
Diyabetin süresi (yıl)	11.5 ± 7.5 (1-40)	
Tedavi		
Antidiyabetik	179	71.6
İnsülin	41	16.4
Antidiyabetik + insülin	30	12.0

DM 'lu hastaların 203 (%81.2) tanesinde alt ekstremitte enfeksiyonu görülmezken 47' de (% 18.8) mevcut idi. Diyabetik ayak enfeksiyonu saptanan olguların ülser özellikleri Tablo -7. de gösterilmiştir.

Tablo – 7. Diyabetik ayak enfeksiyonu saptanan olguların ülser özellikleri

Özellikler	n (=47)	%
Ülserin tipi		
Nöropatik	24	51.0
İskemik	5	10.6
Vasküler	18	38.4
Ülserin süresi (hafta)	8.9 ± 7.4 (1-52)	
Boyutu (cm²)	2.9 ± 1.4 (1-6)	
Ülserin yeri		
Parmaklar	27	57.5
Plantar bölge	12	25.5
Üstü veya medial-lateral	8	17
Geçirilmiş ülser öyküsü	25	10

Alt ekstremitte enfeksiyonu saptanan 47 hastanın 3 (%6.3) tanesinde üreme saptanmazken,3 (%6.3)' ünde monomikrobiyal, 41(%87.4)' inde polimikrobiyal enfeksiyon tespit edildi. Polimikrobiyal enfeksiyon tespit edilen hastaların 25 (%53.2)' inde hastaneye yatış öyküsü, 27 (%57.4)' sinde antibiyotik kullanma öyküsü vardı ve 25 (%53.2)'i daha önce alt ekstremitte enfeksiyonu geçirmişti. Monomikrobiyal enfeksiyon tespit edilen hastaların hiç birinde hastanede yatış ve antibiyotik kullanım öyküsü yoktu ve daha önce diyabetik ayak enfeksiyonu geçirmemişler idi.(Tablo -8)

Tablo-8. Alt ekstremitte enfeksiyonu olgularında saptanan mikroorganizma ve enfeksiyon tipleri

Özellikler	n	%
Üreme olmayan	3	6.3
Monomikrobiyal enfeksiyon	3	6.3
Polimikrobiyal enfeksiyon	41	87.4
Sadece aerop	40	85.2
Sadece anaerop	-	-
Aerop + anaerop	4	8.5

Alt ekstremitte enfeksiyonu olup üreme saptanan 44 hastadan alınan klinik örnekten toplam 102 mikroorganizma izole edildi. Gram (-) negatif bakteri sayısı 44 (%43.1) olarak bulunurken; aerop Gram(+) pozitif bakteri 49 (%48) olarak tespit edildi. Hem izole edilen tüm bakteriler içinde hem de Gram (+) pozitif bakteriler içinde en sık etken *S.aureus* (%25.6) olarak saptandı.

İzole edilen anaerop bakteri oranı 4 (%3,9) olarak bulundu fakat anaerop bakteriler idantifiye edilmedi. Ayaktan alınan örneklerde 5 (%4,9) oranında mantar izole edildi ve tümü *C.albicans* tı. Alt ekstremitte enfeksiyonundan izole edilen mikroorganizmalar Tablo -9' da gösterilmektedir.

Tablo- 9. Yara yerinden izole edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizma	n	%
Gram pozitif aerobik koklar (Toplam)	49	48.0
<i>S. aureus</i> (Toplam)	26	25.6
MRSA	9	8.8
MSSA	17	16.8
Koagülaz negatif stafilokoklar	3	2.8
Streptokoklar (Toplam)	6	5.8
B grubu streptokoklar	4	4.0
Diğer streptokoklar	2	1.8
Difteroidler	2	2.0
Enterococcus spp.	12	11.8
Gram negatif aerobik basiller (Toplam)	44	43.2
<i>Escherichia coli</i>	17	16.8
Klebsiella spp.	12	11.9
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	4.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	7.9
Proteus spp.	3	2.5
Anaerob bakteriler	4	3.9
Mantar	5	4.9
Toplam	102	100

Alt ekstremitte enfeksiyonlarında izole edilen *S.aureus*'ların 9 (%8,8)' u MRSA, 17 (%16.8)'si metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA)' du. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda alt ekstremitte enfeksiyonunda MRSA veya MSSA üremesi hastaların cinsiyeti, ülserin boyutu, yeri, süresi ve türü arasında anlamlı fark

bulunamadı ($p>0.05$); fakat diyabetik ayak enfeksiyonu gelişenlerde (7.26 ± 1.6) HbA_{1c} ortalamaları gelişemeyenlere (5.4 ± 1.2) göre daha yüksektir. DM'lu hastalarda diyabetik ayak enfeksiyonu olması ile HbA_{1c} yüksekliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0.001$) Diyabetik ayak enfeksiyonu olanların diyabet sürelerinin ortalaması (13.7 ± 8.2) olmayanlara (11.0 ± 7.2) göre yüksek olması hastalarda diyabetik ayak enfeksiyonu gelişimi ile diyabetin süresinin artması arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. ($p=0.03$, $p< 0.05$). Alt ekstremitte enfeksiyonlarında MRSA ve MSSA izole edilen hastaların ülser özellikleri Tablo -10 'da gösterilmiştir.

Tablo -10. Alt ekstremitte enfeksiyonundan MRSA ve MSSA izole edilen hastaların ülser özelliklerinin karşılaştırılması.

	MRSA	MSSA
Sayı	9	17
Erkek: Kadın n (%)	5 : 4 (55.5 : 44.5)	9: 8 (52,9: 47.1)
Yaş (yıl)	58 (42-70)	60.4 (38 -95)
*Diyabetin süresi (yıl)	16.7±9.5 (5.0 - 40)	15.4±8.4 (7 -41)
[†] HbA _{1c}	6.44 ± 0.52	6.88 ± 1.42
#Ülserin boyutu (cm ²)	3.7±1,6 (2,0 – 6.0)	2.7±0,8 (1.0 – 6.0)
#Ülserin süresi (hafta)	14.3±10.2 (1 – 52)	8.1±4.0 (1 – 52)
#Ülserin tipi (%)		
Nöropatik	7 (77.8)	7 (41.2)
İskemik	0 (0.0)	3 (17.6)
Vasküler	2 (22.2)	7 (41.2)
#Ülserin yeri		
Parmaklar n (%)	4 (44.4)	11 (64.7)
Plantar bölge n (%)	1 (11.2)	4 (23.5)
Üstü veya medial - lateral n (%)	4 (44.4)	2 (11.8)

[†]($p< 0.001$), *($p< 0.05$), #($p > 0.05$)

250 diyabetli hastanın 104 (%41,6) tanesi nazal *S.aureus* taşıyıcısı bulunmuştur. *S.aureus* taşıyıcısı olguların 26 (%25.0)'sı MRSA iken 78 (%75.0) 'i MSSA olarak belirlenmiştir. *S.aureus* taşıyıcısı olan hastaların 17 (%16.3)' sinde alt ekstremitte enfeksiyonu tespit edilmiştir. Bu olguların 13 (%27.6)'ünde MRSA, 4 (%8.6)' ünde MSSA tespit edilmiştir. Tablo- 11. da nazal *S.aureus* taşıyıcısı olan ve olmayan hastaların risk faktörleri açısından değerlendirilmesi gösterilmektedir.

Tablo-11. Nazal *S.aureus* taşıyıcısı olan ve olmayan hastaların risk faktörleri açısından değerlendirilmesi.

	NSAT (-)		NSAT (+)			
	n	%	MRSA		MSSA	
			n	%	n	%
Sayısı	146	58.4	26	25.0	78	75.0
#Erkek : Kadın	57:89	39.1:60.9	9:17	8.3:12.0	42:36	38.9:25.4
*Tip I : Tip II oranı	14:132	8.2:61.1	7:19	20.6:8.8	14:64	41.2:29.6
#Kent : Kırsal	106:40	61.2:51.2	16:10	9.3:12.8	50:28	29.1:35.9
†Diyabetik ayak ülserli	30	63.8	13	27.6	4	8.6
*Geçirilmiş ayak öyküsü	16	64.0	7	28.0	4	8.0
†Diyabeti>6 yıl olan	99	56.0	20	11.3	58	32.7
*İnsülin kullanan	26	36.6	21	30.5	24	32.9
†Son 6 ay içinde hastanede yatan	16	34.0	18	38.2	13	27.8
†Son 6 ay içinde antibiyotik kullanan	23	42.6	19	35.1	12	22.3

†(p< 0.001), *(p< 0.05), #(p> 0.05)

Burun taşıyıcılığına risk faktörleri ilişkisi değerlendirildiğinde, nazal MRSA taşıyıcılığı cinsiyet (p>0.05) ve yaşadığı yer (p>0.05), ile değişmez iken; 6 yılın üzerinde DM' u olanlarda (p<0.001), özgeçmişinde geçirilmiş diyabetik ayak enfeksiyonu olanlarda (p= 0.03, p<0.05), son 6 ay içinde hastaneye yatma öyküsü olanlarda (p<0.001), tip I DM olanlarda (p=0.02, p<0.05) ve son 6 ay içinde

antibiyotik kullanma öyküsü olanlarda ($p < 0.001$) ve tedavide insülin kullananlarda taşıyıcılık anlamlı bir şekilde artmıştır. ($p = 0.03$, $p < 0.05$)

Burundan ve ayaktan izole edilen MRSA suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon testi ile CSLI kriterlerine göre belirlenmiştir.⁸⁷ ve elde edilen sonuçlar Tablo -12. de gösterilmiştir.

Tablo- 12. Burundan ve ayaktan izole edilen MRSA suşlarının bazı antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	Ayak		Burun	
	n	%	n	%
Penisilin (P)	9	100	26	100
Vankomisin (VA)	-	-	-	-
Eritromisin (E)	5	55.5	10	36.4
Klindamisin (DA)	5	55.5	18	69.2
Gentamisin (CN)	4	44.4	14	53.8
Siprofloksasin (CIP)	3	33.3	8	30.7
Tetrasiklin (TE)	6	66.6	20	76.9
Rifampisin (RIF)	2	22.2	7	26.9
Trimetoprim/sulfametoksazol (SXT)	4	44.4	12	46.1
Mupirosin (MUP)	3	33.3	5	19.2
Linezolid (LZD)	-	-	-	-

Oksasilin ve sefoksitin disk düffüzyon yöntemi ile MRSA olarak belirlenen 38 suşun 35 (%92.1)' inde PCR yöntemi ile mec A geni pozitif bulunurken 3 (% 7.9)' ünde PCR ile mecA geni saptanamamıştır. Burundan ve ayaklardan izole edilen *S.aureus* suşları oksasilin disk düffüzyon ve sefoksitin disk düffüzyon yöntemleri ile MRSA ve MSSA olarak tanımlanıp; suşların jel elektroforez yöntemi ile mecA geni varlığına göre dağılımı Tablo -13. de gösterilmiştir.

Tablo- 13. *S.aureus* suşlarının mecA geni varlığına göre dağılımı ve kullanılan yöntemlerin MRSA ve MSSA olarak belirlediği suş oranları

Yöntem	Mec A (+)				Mec A (-)			
	MRSA		MSSA		MRSA		MSSA	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Oksasilin disk düffüzyon	35	92.1	-	-	3	7.9	95	100
Sefoksitin disk düffüzyon	35	92.1	-	-	3	7.9	95	100

MecA geni varlığına göre oksasilin ve sefoksitin disk düffüzyon yöntemi ve PCR yöntemine göre yöntemlerin duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif yorumlama gücü Tablo -14. de gösterilmektedir.

Tablo -14. MecA geni varlığı altın standart alındığında yöntemlerin duyarlılık, özgüllük ve yorumlama güçleri(%)

Yöntem	Duyarlılık	Özgüllük	Pozitif yorumlama	Negatif yorumlama
Oksasilin disk düffüzyon	92.1	96.9	92	95
Sefoksitin disk düffüzyon	92.1	96.9	92	95
PCR	100	100	100	100

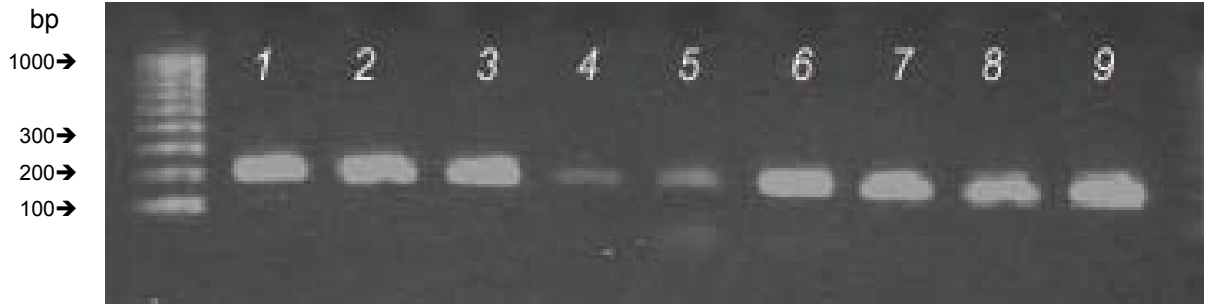
Burundan ve ayaktan izole edilen *S.aureus* ların tamamında(n=130) nuc geni (+) pozitif olarak bulunmuştur. Örneklere göre dağılım incelendiğinde izolatların 104 (%80)' ünün burundan, 26(%20)'sının ise ayaktan izole edildiği anlaşılmaktadır.

Mec A geni toplam 35 pozitif bulunmuş olup bunların 26 (%74.2)'sı burundan 9 (%25.8)' u ise ayaktan izole edilmiştir.

Konvansiyonel yöntemlerle MRSA olarak tanımlanan 3 (%7.9) kökünde ise mec A geni negatif bulunmuştur.

İzole edilen 130 *S.aureus* suşunun 2 (% 1.5)' sinde PCR analizi ile PVL geni tespit edilmiştir ve her ikisi de diyabetik ayak enfeksiyonundan izole edilmiştir. PVL

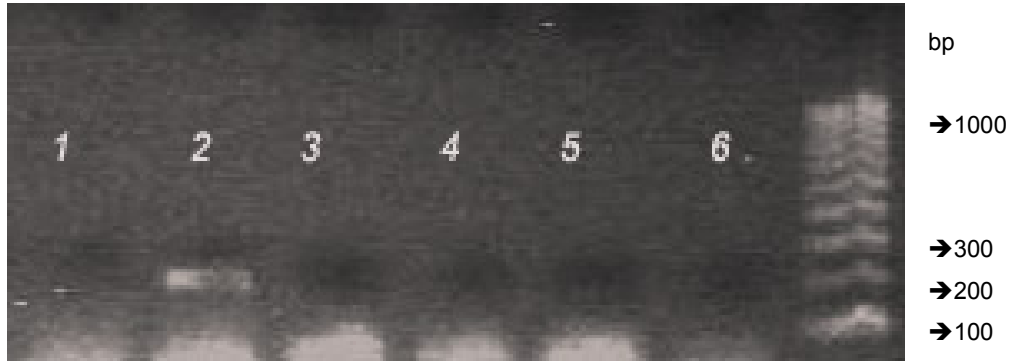
taşıyan MRSA suşlarının bulunduğu diyabetik ayaklı hastalar toplum kökenliydi. Hiç birisinde hastanede yatma ve antibiyotik kullanma öyküsü yoktu ve ilk defa diyabetik ayak enfeksiyonu geçiriyorlardı. Her ikisine de tedavide oral antibiyotik başlandı.



Şekil- 1. PCR ile analiz edilip, %2 lik agaroz jel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen mecA geni. { ilk bant düşük ağırlıklı DNA molekülü (moleküler ruler),1-9 arası bantlar ise mecA (+) MRSA }



Şekil- 2. PCR ile analiz edilip % 2 lik agaroz jel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen nuc geni. { İlk bant düşük moleküler ağırlıklı marker (moleküler ruler)1,2,4 ve 6. bantlar nuc (+) pozitif Stafilocok (S.aureus).3. ve 5. bantlar nuc (-) negatif stafilocok (KNS) }



Şekil- 3. PCR ile analiz edilip %2 lik agaroz gel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen PVL geni. { İlk bant düşük moleküler ağırlıklı marker(moleküler ruler) 2. bant PVL (+) pozitif MRSA, 1,3, 4. ve 5. bantlar PVL (-) negatif MRSA }

Diyabetik ayak enfeksiyonundan *S.aureus* izole edilen olgularda nazal MRSA taşıyıcılık oranı da istatistiksel olarak artmıştır. ($p < 0.001$)

Diyabetik ayak enfeksiyonundan *S.aureus* izole edilen hastaların nazal *S.aureus* taşıyıcılığını incelediğimizde ayağından MRSA izole edilen hastaların burnunda da MRSA taşıyıcılığının olduğu saptanmış ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0.001$).

Diyabetik ayak enfeksiyonundan MRSA ve MSSA izole edilen olan hastaların burun taşıyıcılığı durumu Tablo- 15. de gösterilmiştir.

Tablo -15. Ayağından MRSA ve MSSA izole edilen hastalarda burun taşıyıcılığı oranı

Ayak	Burun					
	MRSA		MSSA		NSAT (-)	
	n	%	n	%	n	%
†MRSA	5	55.5	1	11.2	3	33.3
MSSA	1	5.9	1	5.9	15	88.2

† ($p < 0.001$)

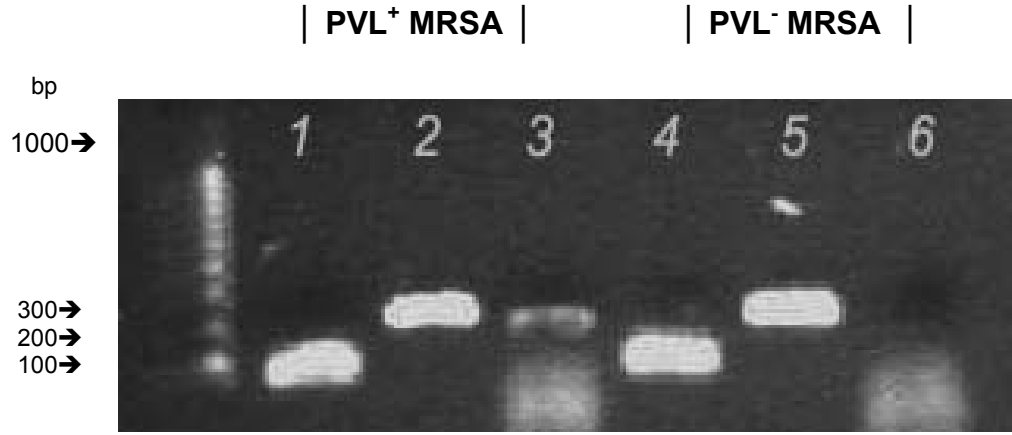
Ayağında MRSA üreyen 9 hastanın 5 (%55.5) tanesinin burnunda da MRSA üremiştir ve bunların hiç birisinde PVL pozitif değildir. Ayağında ve burnunda MRSA üreyen hastaların 2 (%22.2) tanesinin antibiyogramı aynı iken diğer 5 tanesi farklıdır.

Diyabetik ayak enfeksiyonundan MRSA izole edilen hastaların nazal taşıyıcılık durumu, izolatların moleküler özellikleri ve antibiyotik direnç durumları Tablo -16. da gösterilmiştir.

Tablo- 16. Diyabetik ayak enfeksiyonundan MRSA izole edilen 9 hastanın nazal taşıyıcılık durumu, suşun moleküler özellikleri ve antibiyotik direnç durumu

Örnek	Ayaktan izole edilen <i>S. aureus</i>				Burundan izole edilen <i>S. aureus</i>			
	Nuc	mecA	PVL	Ab direnci	Nuc	MecA	PVL	Ab direnci
1	+	+	+	OX, FOX, P, E, TE, DA, SXT	+	+	-	OX, FOX, P, E, CİP, DA
2	+	+	+	OX, FOX, P, E, CİP,	+	+	-	OX, FOX, P, GN, TE
3	+	+	-	OX, FOX, P, DA,CİP, TE, MUP	+	+	-	OX, FOX, P, E, CİP, DA
*4	+	+	-	OX, FOX, P, E, DA, TE, SXT	+	+	-	OX, FOX, P, E, DA, TE, SXT
*5	+	+	-	OX, FOX, P, GN, CİP, MUP	+	+	-	OX, FOX, P, GN, CİP, MUP
6	+	+	-	OX, FOX, P, E, GN, TE, SXT, FUR	+	-	-	P, CİP, TE, GN, MUP
7	+	+	-	OX, FOX, P, E,GN, TE, RIF	-	-	-	NSAT (-)
8	+	+	-	OX, FOX, P, DA, GN, RIF, MUP	-	-	-	NSAT (-)
9	+	+	-	OX, FOX, P, DA, TE, SXT	-	-	-	NSAT (-)

*antibiyotik duyarlılıkları aynı olan suşlar



Şekil 4. PCR ile analiz edilip %2 lik agaroz gel elektroforez ile bant görüntüleri tespit edilen PVL pozitif MRSA (1.bant nuc pozitif,2.bant mecA pozitif, 3.bant PVL pozitif)ve PVL negatif MRSA (4.bant nuc pozitif,5.bant mecA pozitif ve 6.bant PVL negatif)

5.TARTIŞMA

Diyabetik ayak enfeksiyonları diyabetli hastalar için yaşam kalitesini etkileyen majör medikal, sosyal ve ekonomik bir problemdir. Yatan hastalarda ise yatış süresini uzatmakta ve amputasyon oranını belirgin bir şekilde artırmaktadır.^{29,38}

Diyabetli hastaların konak savunma bölgesindeki bozukluk, lezyonun bulunduğu bölgedeki iskemi ve dolaşım bozukluğu tedavisini zorlaştırmaktadır. Antibiyotiklere karşı hızlı direnç söz konusu olduğundan bakteriyolojik inceleme iyi yapılarak ampirik tedavi yerine etkene yönelik antibiyoterapi başlanması önerilmektedir.⁹³ Yüzeysel sürüntü şeklinde alınan örneklerin enfeksiyon etkenlerinden çok kolonizasyonu yansıtmaması sebebi ile güvenilir olmadığı bilinmektedir.³⁷ Ayak lezyonunda cilt altı koleksiyon apse materyali, kemik ve yumuşak doku biyopsileri incelenebilir. Biyopsi ile örnek alınamadığı durumlarda antiseptik kullanmadan serum fizyolojik ile dikkatli temizlik yapıldıktan sonra lezyonun tabanından küret ile alınan örneklerde yüzeysel sürüntüden daha güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir.^{32,94}

Bizim çalışmamızda örnek alınacak yer serum fizyolojik ile temizlendikten sonra üstteki nekroze dokular debride edilip; derin dokudan bisturi ile veya apse varlığında ise ponksiyonla alınan örnekler tiyoglikolatlı buyyon içinde labarotudara ulaştırılmıştır.

Ülkemizde diyabetik ayak ile ilgili veriler sınırlıdır. Tüm dünyadan bildirilen veriler ise; diyabetik ayak enfeksiyonlarının % 40 - 90 oranında hem aerop hem de anaerop etkenin görüldüğü karma enfeksiyonlar şeklinde olduğunu göstermektedir.^{30,31}

Lipsky ve ark.⁹⁵ diyabetik ayak enfeksiyonlu olguların %46' sında monomikrobiyal, %47' sinde polimikrobiyal tip enfeksiyon saptamışlardır. Olgulardan alınan örneklerin % 7' de üreme saptamamışlardır. Örneklerde %87 oranında tek başına aerop, %13 oranında hem aerop hem anaerop bakteri üremesi tespit etmişlerdir. Anaerop bakterinin tek başına etken olduğu enfeksiyon saptamamışlardır. Aerop etkenlerin içinde Gram pozitif koklar %94 oranında saptamışlardır ve bunun da %50 sini *S.aureus* oluşturmuştur. Gram negatif basilleri %23 oranında saptamışlardır ve bunun da %10 unun *K. pneumoniae* olduğunu bildirmişlerdir.

Ravisekhar ve ark.⁹⁴ ise izole ettikleri mikroorganizmaların %65 inin sadece aerop, %33,8' inin aerop + anaerop ve %1,2' sinin ise yalnızca anaeroptan oluştuğunu bildirmişlerdir. Aerop etkenlerin içinde en sık (%51,4) oranında Gram negatifleri tespit etmişlerdir ve (%12,6) ile *Proteus spp.* en sık izole edilen Gram negatif basil olmuştur. Gram pozitif izolasyon oranı %33,3 bulunurken en sık etken olarak *S.aureus*' ların (%13,7) ve %56 sının MRSA olduğunu bildirmişlerdir .

Tentolouris ve ark.⁴⁰ ise %52,2 oranda monomikrobiyal enfeksiyon belirlerken izole ettikleri mikroorganizmaların %79,1' i sadece aerop, %16,4 aerop+anaerop ve %4,5' inin ise sadece anaerop olduğunu bildirmişlerdir. Gram pozitif koklar (%56,7) en sık izole edilen bakteriler olurken bunların %28,8'ini *S. aureus* ilk sırada alırken bunların da %40' ının MRSA olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada izolatların %29,8 nin aerobik Gram negatif basil olduğu ve bunlarında içinde %21,2 ile *Enterobacteriaceae* (%21,2)' ların en sık Gram negatif grup olarak izole edildiğini bildirmişlerdir.

Citron ve ark.⁹⁶ çalıştıkları diyabetli ayak örneklerinden %83,8 oranında polimikrobiyal, %16,2 oranında monomikrobiyal etken izole etmişlerdir. Çalışmadaki örneklerin %5,9' da ise üreme olmazken, %48,9 sadece aerop, %1,3 ü sadece anaerop, %43,8 aerop + anaerop bakteriler üretilmiştir. Aerop bakterilerin %80,3' nü Gram pozitifler oluştururken bunların da içinde %76,6 ile en sık izole edileni *S.aureus* olmuştur. *S.aureus* ların da %11,8' nin MRSA olduğunu bildirmişlerdir. Gram negatif aerobik bakteri oranını %35,7 olarak izole ederlerken bunların içinde de en yüksek oranı (%8,6) *Pseudomonas aeruginosa* olduğu bildirilmiştir.

Ülkemizde diyabetik ayağın bakteriyolojik analizi ile ilgili çok fazla veri bulunmamaktadır. Tanyel ve ark.⁹⁷ diyabetik ayak enfeksiyonlarını irdeledikleri bir çalışmada 16 (%57,1) örneğe üreme saptarlar iken bu örneklerin 2 tanesinde birden fazla etken saptamışlardır. En sık MSSA izole edilirken bunu *E.coli* izlemiştir.

Örmen ve ark.⁹⁸ ise diyabetik ayak lezyon kültüründe %66 oranında üreme tespit ederken bunun %40' ının Gram pozitif ve %60' nın Gram negatif bakteriler olduğunu bildirmişlerdir. Gram pozitif bakteriler içinde en sık izole ettikleri *S.aureus* suşlarıdır ve bunların %37,5' unun MRSA olduğunu tespit etmişlerdir. Gram negatif bakteriler arasında en sık *E.coli* nin izole edildiğini bildirmişlerdir.

Şerefhanoglu ve ark.⁹⁹ ise diyabetik ayakların 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 oran ile *S.aureus* olurken bunların %18' inin MRSA olduğunu bildirmişlerdir. Gram negatif aerobik basiller arasında ise en sık *E.coli* izole etmişlerdir.

Çalışmamızda ise %87.4 oranında polimikrobiyal enfeksiyon saptanırken %6.3 monomikrobiyal enfeksiyon tespit edildi ve örneklerin %6.3'sında üreme olmadı. İzole edilen mikroorganizmaların ise %85,2 si sadece aerop, %8,5 i aerop+anaeropken sadece anaerop üreyen ayak enfeksiyonu olmadı. Aerop Gram pozitif bakteri oranı %48 olarak tespit edilirken bu grubun içinde en sık *S.aureus* izole edildi.(%25,6) İzole edilen tüm bakteriler arasında en sık *S.aureus* izole edildi ve bunun da %8,8' i MRSA idi. Gram negatifler içinde ise en sık izole edilen bakteri %16,8 ile *E.coli* oldu.

Yapılan çalışmalarda mantarlar da etken olarak saptanmıştır. Grayson ve ark.¹⁰⁰ yaptığı çalışmada %3 oranında mantar tespit edilmiştir.

Bamberg ve ark.¹⁰¹ ise yaptıkları diyabetik ayak çalışmasında %6 oranında *Candida* cinsi maya izole edilmiştir. Bizim çalışmamızda da tamamı *C. albicans* olmak üzere %4,9 oranında mantar izole ettik.

Son 25 yılda yapılan diyabetik ayak ile ilgili bakteriyolojik analiz çalışmalarına baktığımızda farklı sonuçlarla karşılaşmaktayız. Bazı çalışmalar en fazla izole edilen patojenin *S. aureus* olduğunu bildirirken bazıları ise Gram negatif aeroplara rapor etmişlerdir. Anaeroplara rolü üzerinde fazla durulmamasının sebebi ise örneğin uygun şartlarda alınıp gönderilmesinin ve idantifiye edilmesinin

zorluğundan kaynaklanmaktadır. Bildirilenleri içinde de *Bacteroides fragilis* birinci sırada yer almaktadır. Bizim yaptığımız çalışmada anaerop izolasyonu yapılmış fakat tiplendirilmemiştir.

Bu izole edilen bakterilerin farklılığını Citron ve ark.⁹⁶ çalışmaların farklı bölgelerde yapılmış olması, örneklerin alınış yeri ve alınış tekniği, hastanın antibiyotik alıp almaması, hastanede yatıp yatmaması ve yatış süreleri ile ilgili olduğunu ifade etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda monomikrobiyal enfeksiyonlu diyabetik ayaklı hastaların hiçbiri hastanede yatma ve antibiyotik kullanma öyküsü bulunmamaktadır. Polimikrobiyal enfeksiyonu olanlar ise hastanede yatan hastalardır. En sık etken olarak izole edilen *S.aureus* enfeksiyonu olan diyabetik ayaklar ise özellikle MRSA izole edilenlerin yaranın boyutu, yeri, süresi, hastanın yaşı ve cinsiyeti ile ilgili olmazken artan HbA_{1c} düzeyi ile enfeksiyon gelişim riskinin arttığı görülmüştür. Bu da kontrolsüz diyabet ile enfeksiyon. gelişme riskinin ilişkisini vurgulamaktadır.

Burunda *S.aureus* taşıyıcılığı enfeksiyonların epidemiyoloji ve patogeneğinde anahtar rol oynamaktadır. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan diyabetli hastalarda enfeksiyon yerinden *S.aureus* izolasyonunun özellikle de MRSA izolasyonunun artması nazal *S.aureus* taşıyıcılığının takibini gerektirmektedir. Yapılan çalışmalarda kolonizasyona etki eden faktörler araştırılmış ve diyabetik hastaların bunların başında geldiği gözlenmiştir.

Lipsky ve ark.¹⁰² insülin kullanımı, antibiyotik tedavisi, yaş, ırk ve diyabetin klinik durumu ile kolonizasyon arasında anlamlı bir fark saptamazlarken glisemik kontrol ve HbA_{1c} arasında ters yönde ilişki belirlemişlerdir. Son 6 ayda hastanede yatma öyküsü ile kolonizasyon arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır fakat diyabetli hastalarda nazal taşıyıcılığı (%30,5) kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır.

Hidron ve ark.¹⁰³ yaptıkları çalışmada hastaneye başvuran hastalardan alınan nazal örneklerin %7.3' de MRSA saptamışlardır. Bu da hastaların demografik özellikleri ve antibiyotik kullanımı hastaneye yatış süresi ve kullanılan antibiyotiklerle anlamlı bulmuşlardır.

Şahin ve ark.¹⁰⁴ DM lu hastalarda burun taşıyıcılığına etkileyen risk faktörlerini belirleyen çalışmalarında %66 oranında burun taşıyıcılığı belirlerken bunun ise %32' nin MRSA olduğunu bildirmişleridir. Tip1 DM lu hastalarda %58, tip

2 DM lu hastalarda ise %67 olarak saptamışlardır ve yaş, cinsiyet, diyabetin tipi, diyabetin süresi, insülin kullanımı ve antibiyotik kullanma öyküsünün bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir.

Gül ve ark.¹⁰⁵ ise insülin kullananlarla oral antidiyabetik kullanan DM lu hastaların nazal *S.aureus* ve MRSA taşıyıcılığını araştırmışlar ve insülin kullananlarda *S.aureus*' un %33, MRSA' nın ise %11,1 olarak tespit etmişler ve oral antidiyabetik kullananlara göre daha yüksek bulmuşlardır (%12 ve % 3,1)

Tamer ve ark.¹⁰⁶ ise sadece tip2 DM hastalarda nazal *S.aureus* taşıyıcılığı ile ilişkili faktörleri araştırmışlardır. Çalışmalarında insülin kullanımının 6 yılın üzerinde diyabet hastası olmasının, kan glukoz düzeyinin 111 mg/dl üzerinde olmasının ve son 6 ay içine antibiyotik kullanımının nazal taşıyıcılığı artırdığını bildirilmiştir ve nazal *S.aureus* taşıyıcılığını %17,1 olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda DM lu hastalarda *S.aureus* burun taşıyıcılık oranı %41,6 oranında bulundu. Bunun da %10,4 ü MRSA idi. MRSA taşıyıcılığının cinsiyet ve yaşadığı yer ile ilişkisi tespit edilemez iken son 6 ay içinde hastane yatış öyküsü olanlarda, insülin kullananlarda, 6 yıldan daha uzun süre diyabet hastası olanlarda, daha önce geçirilmiş diyabetik ayak öyküsü olanlarda ve son 6 ayda antibiyotik öyküsü olanlarda taşıyıcılığın anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. Tip1 DM lu hastalarda nazal MRSA taşıyıcılığı (%20, 5) tip2 DM' lulara (%8,8) göre anlamlı bir şekilde yüksek bulundu.

İnsülin kullanan hastalarda cildin enfeksiyonlara karşı doğal koruyuculuk bariyeri bozulduğundan bu hasta grubunda taşıyıcılık genel olarak daha yüksek bulunmuştur yine sistemik antibiyotik kullanımı bağlı diğer vücut bölgelerinde olduğu gibi burun florasında da normal flora bakterilerinin azalıp dirençli bakterilerin artmasına sebep olmaktadır. Diyabetik hastaların hastanede yatmalar dahi kontrol ve komplikasyon takibi için sık sık hastanelere başvuran ve hospitalize edilen hastalardır. Dolayısı ile son 6 ayda hastanede yatanlarda ve 6 yıldan uzun süredir diyabet hastası olanlarda nazal taşıyıcılık riski artmaktadır.⁵ Çalışma verilerimizde bu bilgiyi doğrulamaktadır. Nazal *S. aureus* taşıyıcılığının prevalansı bölgelere ve kişisel risk faktörlerine göre değişmektedir.

Literatürde diyabetik ayak enfeksiyonu olan diyabetik hastalarda nazal *S. aureus* taşıyıcılığı ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Diyabetli hastalar sık

hospitalize edilen hastalar olduğu için diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda nazal MRSA taşıyıcılığı uygun tedavinin yapılması ve gelişebilecek enfeksiyonların önlenmesi açısından önemlidir.

Stanaway ve ark.¹⁰⁷ MRSA izole edilen diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda nazal MRSA taşıyıcılığı arasındaki ilişkiyi irdeledikleri çalışmalarında %19 oranında ayak enfeksiyonunda MRSA izole ederlerken %17 oranında da nazal taşıyıcılık tespit etmişlerdir. Hastaların %58 de hem burnundan hem de ayağından MRSA izole ederlerken ayağına olmayan hastaların %8 nin burnundan MRSA izole etmişlerdir. Hastanın ayağındaki enfeksiyondan MRSA izole edilmesinin yaş, yaranın yeri, diyabetin süresi, diyabetin tipi ve HbA_{1c} düzeyleri arasında bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca MRSA izole ettikleri ayak enfeksiyonlarında nazal MRSA taşıyıcılığının anlamlı bir şekilde arttığını bildirmişlerdir ve ayaktan izole edilen MRSA suşunun burundan kaynaklanabileceği gibi nazal MRSA taşıyıcısı olan diyabetli hastanın buna bağlı ayağına MRSA enfeksiyonu olabileceğini bildirmişlerdir.¹⁰⁷

Hill ve ark.¹⁰⁸ ise diyabetli hastalarda nazal *S.aureus* taşıyıcılığını %38,7 olarak bulmuşlardır. Ayağına enfeksiyonu olan hastaların burnundan ve ayağından izole ettikleri *S. aureus* suşlarının genotipik olarak %92 sinin aynı suş olduğunu ve muhtemelen ayak ve burundan izole edilen MRSA suşlarının aynı olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda nazal MRSA taşıyıcısı olan hastaların 26 (%36,2)' da diyabetik ayak enfeksiyonu mevcuttu. Bunlardan 5 (%.55.5)' inin hem ayağına hem de burnunda MRSA mevcut iken, 4 (%44,5)' nün sadece ayağındaki enfeksiyondan MRSA izole edildi. Ayağından izole edilmeyip sadece burnundan 1 (%5.9)hastanın MRSA izole edildi. Ayağından MRSA izole edilen hastaların nazal MRSA taşıyıcılık oranı daha fazla bulundu.

.Diyabetik ayak enfeksiyonlarında genellikle kültür alındıktan sonra ampirik antimikrobiyal tedavi başlanmaktadır. İlk vankomisine rezistans *S.aureus* suşunun diyabetik ayak enfeksiyonundan izole edildiğini göz önüne alırsak nazal MRSA taşıyıcısı olan ve ayağına MRSA enfeksiyonu olan DM hastaların ayağından ve burnundan izole edilen MRSA suşlarının antimikrobial direnç paterninin bilinmesini gerektirir.⁹⁷

Ravisekhar ve ark.⁹⁴ diyabetik ayak enfeksiyonundan izole ettikleri MRSA suşlarında en yüksek direncin eritromisin (%85.7), tetrasiklin (%64.3) ve siprofloksasine (%64.3) karşı olduğunu bildirirken vankomisin ve linezolidle karşı direnç bildirmemişlerdir.

Ülkemizde ise diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen MRSA suşlarında Örmən ve ark.⁹⁸ izole ettikleri tüm suşların penisiline dirençli olduğunu bildirirken; direnç oranlarını sırasıyla siprofloksasine %25, TMP/SMX e %12.5 olarak bulmuşlardır. Vankomisine, linezolidle ve fusidik asite karşı dirençli suş tespit etmemişlerdir.

Şerefhanoğlu ve ark.⁹⁹ ise kendi çalışmalarında ayaktan izole edilen tüm MRSA suşlarının penisiline dirençli olduğunu bildirirken en yüksek direncin tetrasiklin (%58.8) eritromisin (%41.2) ve klindamisine (%29.5) karşı olduğunu tespit etmişlerdir. Yine vankomisine karşı direnç bildirmemişlerdir.¹⁰⁴

Şahin ve ark.¹⁰⁴ ise DM lu hastaların burnundan izole ettikleri MRSA ların tamamının penisiline karşı dirençli olduğunu bildirirken amikasin (%58), sirofloksasin (%58) ve klindamisin (%33) e karşı yüksek direnç bildirmişlerdir. Vankomisine karşı dirençli suş tespit etmemişlerdir.

Çalışmamızda ayak ve burundan izole edilen MRSA ların tamamında penisilin direnci tespit edilirken, burundan izole edilen suşlarda en yüksek direnç tetrasiklin (%76,9), klindamisin (%69,2) ve gentamisine (%53,8) karşı tespit edildi. Ayak enfeksiyonlarından izole edilen MRSA suşlarından ise yüksek oranda direnç tetrasiklin (%66,6), eritromisin (%55,5) ve klindamisine (%55,5) karşı tespit edildi. Burun ve ayaklardan izole edilen MRSA suşlarının hiçbirinde glikopeptid ve linezolidle karşı direnç tespit edilmedi. Hem ayağından hem de burnundan MRSA izole edilen hastaların %22,2 nin antibiyotik direnç profili aynıydı.

Humphreys¹⁰⁹ 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.

Laboratuvarda konvansiyonel yöntemlerle *S. aureus* olarak izole edilen suşların fenotipik olarak metisilin direncinin belirlenmesinde oksasilin ve sefoksitin diskleri kullanılmaktadır. Fakat direncin heterojen olduğu durumlarda oksasilin ile

dirençli ve duyarlı suşların ayrımı zorlaşmaktadır. Yalancı pozitif sonuç riskine karşı moleküler MRSA testlerine ihtiyaç vardır. Moleküler yöntemlerle mecA geninin saptanması MRSA'nın tespiti için altın standart yöntemdir. Fakat mecA'nın heterojen olarak KNS suşlarında da bulunabilmesi sonucu MRSA demeden önce *S.aureus* a spesifik genlerin gösterimini zorunlu kılmaktadır. *S.aureus* a spesifik termonükleaz olan nuc geninin tespiti *S.aureus* u diğer stafilokoklardan ayırmaktadır.¹¹⁰

Oksasilin disk difüzyon yönteminin birçok heterojen suşta %61- %96,4 arasında duyarlılık gösterdiğini belirten çalışmalar vardır.^{111,112} Felten ve ark.¹¹¹ sefoksitin için özgüllük ve duyarlılığı %100 bildirirken; Cauwelier ve ark.¹¹³ sefoksitin ve oksasilin için duyarlılığı değişik sıcaklıklarda bakmışlar ve mecA geni ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak oksasilin ve sefoksitin için duyarlılık ve özgüllüğünü %100 bulmuşlardır.

Telli ve ark.¹¹⁴ PCR ile mecA tespitini altın standart kabul ettikleri çalışmalarında oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon testlerinin duyarlılıklarını sırası ile %98,8 ve %98,3 bulurken özgüllüklerini ise %99.1 ve %99.1 olarak bildirmişleridir.

Atay ve ark.¹¹⁵ ise yöntemleri karşılaştırdıkları çalışmada yine PCR ile mecA tespitini altın standart olarak kabul ettikleri çalışmalarında oksasilin disk difüzyon yönteminin duyarlılığını %100 özgüllüğünü ise %80 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda burundan izole edilen *S.aureus* ların 26 (%25.0), ayaktan izole edilen *S.aureus* ların ise 9 (%25, 8)' unda mecA pozitif olarak tespit ettik. Fakat oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon yöntemi ile MRSA olarak tespit edilen 38 suşun 3 tanesinin (%7,9) mecA genini negatif bulduk. Bunların nuc geni de pozitif bulunduğundan MSSA olarak kabul ettik. Bu bulunan suşların 3' ü de burundan izole edildi. MecA tespiti altın standart kabul edildiğinde oksasilin ve sefoksitin duyarlılığı (%92,1) ve özgüllüğü (%96,9) aynı oranlarda tespit edildi. Özgüllüğünün duyarlılığından yüksek olması yanlış pozitif oranının yanlış negatif oranından yüksek olduğunu göstermektedir. En kesin yöntem PCR ile mecA tespiti olmasına rağmen maliyeti ve çalışma şartları göz önüne alınacak olursa rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarda uygulanması uygun değildir, daha çok referans laboratuvarlarında tercih edilmelidir.

MecA ve nuc geni araştırarak MSSA ve MRSA olarak tanımladığımız suşların hem burundan hem de ayak enfeksiyonundan izole edilenlerine PVL geni baktık. PVL geni özellikle toplumdan kazanılmış MRSA enfeksiyonlarında ve nadiren de olsa MSSA larda tespit edilebilmektedir. Özellikle çocuklarda nekrotizan pnomoni ve *S.aureus* a bağlı cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. PVL pozitif *S. aureus* lar fronkül, impetigo, sellülit gibi yüzeysel deri enfeksiyonlarına sebep olurken endokardit, artrit, osteomyelit gibi derin doku enfeksiyonlarından izole edilen stafilokoklarda PVL tespit edilememiştir.

Holmes ve ark.¹¹⁶ PVL taşıyan *S.aureus* suşlarının karakteristiğini, sıklığını ve hastalıklarla olan ilişkisini irdelediği çalışmasında PVL oranını %1,6 olarak bulmuşlardır. Ve %47 oranda MRSA olarak tespit etmişlerdir ve mec A genini pozitif (+) olarak bulmuşlardır. PVL taşıyan suşların toplumdan kazanıldığını belirtmişlerdir ve antibiyotik duyarlılık paterni ise en yüksek direnç (%43) kloramfenikol,(%40) tetrasikline karşı olduğunu bildirmişlerdir. Bütün izolatlar glikopeptidlere duyarlı olarak bulmuşlardır.

Ryan ve ark.⁸⁹ daha çok nekrotizan pnemoni ve cilt enfeksiyonlarından izole ettikleri PVL oranını %43, Lina ve ark.⁹⁰ ise %50 - %85 oranında bulurken bunların hepsi *S.aureus* a spesifik enfeksiyonlardan (follikülitis, fronkül...) izole edilmiştir.

İssartel ve ark.¹¹⁷ yapmış olduğu çalışmada cerrahi olarak drene ettikleri *S.aureus* apseleri ile burun taşıyıcılığını karşılaştırmışlardır. Yaralarda izole edilen *S.aureus* suşlarında PVL oranını %89 olarak bildirmişlerdir. Burundan izole edilen suşlardan ise PVL oranını %28,6 olarak bulmuşlardır. Bunların %43 ünde hem burun hem de nasal *S.aureus* suşlarında PVL pozitifken 7 vakada burunda negatif yarada pozitif olarak bulmuşlardır. Bir hastada ise burundan izole edilen suşta MRSA bulunmasına karşı PCR ile yapılan analizde mecA bulunamamıştır. %51 oranında burun ve yaradan izole edilen suşların genotipik yapısı ve antibiyotik duyarlılıkları farklı bile olsa aynı suş oldukları kansına varılmıştır. Diğer bölgelerden ise %1.6-%11 arasında PVL içeren suş bildirilmiştir.¹¹⁸⁻¹¹⁹

Ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarda diyabetik ayak enfeksiyonlarında ve nazal taşıyıcılık durumunu yansıtmaları açısından fenotipik ve genotipik özelliklere göre çok fazla literatüre rastlanmamaktadır. PVL ile ilgili

yapılan çalışmaların çoğu daha çok *S.aureus* a bağlı cilt enfeksiyonları üzerinde yapılmıştır.^{46,116-118}

Bizim çalışmamızda %1.5 oranında PVL tespit edildi.Tespit edilen suşlar diyabetik ayak enfeksiyonundaki MRSA lar dan kaynaklanmaktaydı. Bu suşları taşıyan hastaların burunlarından MRSA izole edildi fakat PVL içermiyorlardı ve antibiyogramları farklıydı. PVL taşıyan MRSA suşlarının bulunduğu diyabetik ayaklı hastalar toplum kökenliydi. Hiç birisinde hastanede yatma ve antibiyotik kullanma öyküsü yoktu ve ilk defa diyabetik ayak enfeksiyonu geçiriyorlardı.

Bu çalışmada DM lu hastaların burun ve ayak enfeksiyonu olanların hem burun hem de ayaklarından izole ettiğimiz MRSA ların fenotipik ve genotipik yapısına baktığımızda fenotipik olarak %22,2 aynı antibiyograma sahiptiler; fakat genotipik olarak baktığımızda ise %1,5 oranında PVL içeren ayak enfeksiyonu etkeni olan MRSA suşları mevcuttu. Bu hastaların burunlarında PVL içeren MRSA suşu bulunmuyordu ve antibiyogramları farklıydı. Bu da fenotipik olarak aynı görünseler dahi etkeninin aynı olmadığını ve toplum kaynaklı suşların diyabetik ayak enfeksiyonlarında daha düşük oranda bulunduğunu diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen MRSA ların antimikrobiklere de daha dirençli olması daha çok hastane kaynaklı olduğunu göstermektedir.

6.SONUÇLAR

Diyabetik ayak enfeksiyonu DM lu hastaların en önemli komplikasyonlarından birisidir. Tedavideki problemler sebebi ile enfekte ülserler hastanede yatış süresini uzatmakta, amputasyon riskini arttırmakta hastaya ve ülkeye ciddi mali yük getirmektedir.

1-Diyabetik yara enfeksiyonlarında yüzeysel sürüntü örnekleri sadece kolonizasyonu yansıtacağından en güvenilir yöntem derin doku kültürü yapılması eğer bu mümkün olmuyorsa ülser tabanının küretaj materyali veya apse ise ponksiyon şeklinde örnek almaktır.

2-Diyabetik ayak enfeksiyonları hakkında ülkemizde çok fazla bakteriyolojik analiz bulunmamasıyla birlikte en sık polimikrobiyal tip enfeksiyonlar görülmekte bunlar da daha çok kronik enfeksiyonlarda meydana gelmektedir. *S.aureus* hem genel olarak tüm bakteriler içinde hem de Gram pozitif aerob bakteriler içinde en sık izole edilen bakteri oldu. Hem bizim çalışmamızda hem de yapılan diğer çalışmalarda Gram negatif bakteriler daha çok kronik ve uzun süreli polimikrobiyal enfeksiyonlarda izole edilmektedir.

3-Diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalardan MRSA izole edilmesinin yaranın boyutu, süresi, yeri, hastanın yaşı ve cinsiyeti ile bir ilişkisi olduğunu saptanmadı fakat kontrolsüz diyabeti gösteren yüksek HbA_{1c} düzeyinin diyabetik ayak enfeksiyonlarında daha yüksek tespit edildi.

4- Yaptığımız çalışmada DM lu hastalarda nazal *S.aureus* taşıyıcılık oranını %41,6 olarak bulurken bunun %10,4 ünü MRSA oluşturuyordu. Nazal *S.aureus* taşıyıcılığı birçok kronik hastalık gibi DM lu hastalarda da enfeksiyonun patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir.

5-Çalışmamızda nazal taşıyıcılık açısından risk faktörlerine baktığımızda tip 1 DM u olması, son 6 ay içinde hastanede yatış öyküsünün olması, son 6 ay içinde antibiyotik kullanım öyküsü olması, 6 yıldan daha uzun süre DM lu olmak, insülin

tedavisi alıyor olmak ve daha önce diyabetik ayak enfeksiyonu geçirmiş olmanın nazal taşıyıcılık oranını arttırdığını tespit edilirken; taşıyıcılığın cinsiyet ve yaşadığı yer ile ilgisi tespit edilemedi.

6- Hastaların %36.2 de hem ayak enfeksiyonunda hem de burnunda MRSA izole edildi. MRSA ların antibiyotik direnç profillerine baktığımızda tamamının penisiline dirençli olduğunu tespit ederken glikopeptid ve linezolidlere karşı direnç tespit edilmedi. En yüksek direnç ise hem ayakta hem de burunda tetrasiklin ve klindamisine karşıydı. Hem ayağında hem de burnunda MRSA izole edilen hastaların %22,2 nin antibiyotik direnç profili aynıydı.

7- Metisilin direncini belirlemede oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon testlerinin her ikisinin de duyarlılığı %92,1 özgülüğü ise her ikisinin de %96,9 olarak bulunması bu iki yöntemin yanlış pozitiflik oranının yanlış negatiflik oranından yüksek olduğunu gösterdi

8-Toplumdan kazanılmış *S.aureus* a bağlı cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olduğu düşünülen PVL toksin geninin izole edildiği hastalar nazal MRSA taşıyıcısı olmalarına rağmen her ikisi de ayaktaki MRSA suşundan izole edilmiştir.

9-PVL geni içeren MRSA suşlarının diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda düşük oranda tespit edilmesi ve tespit edilen suşların genelde daha dirençli olmaları diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen MRSA ların daha çok hastane kökenli olduğunu göstermektedir.

10- MRSA burun taşıyıcısı ve ayak enfeksiyonu olan diyabetli hastaların hem burun hem de ayaklarından izole ettiğimiz MRSA ların fenotipik ve genotipik yapısına baktığımızda fenotipik olarak aynı antibiyograma sahip olsalar dahi genotipik olarak aynı olamayabileceğini PVL toksin geni içeren suşların burunda yer almayıp ayaktaki suşlardan izole edilmesiyle de görülmektedir.

11-Diyabetik ayak enfeksiyonundan izole edilen MRSA nın kaynağının nazal MRSA taşıyıcılığı olduğunu ispat etmek için daha ileri filogenetik analize ihtiyaç duyulmaktadır .

12-Sonuç olarak çalışmamızda nazal MRSA taşıyıcılığı ile ayak enfeksiyonlarındaki MRSA arasındaki ilgi açıkça görünmektedir. Burada sorun acaba burun MRSA taşıyıcılığına bağlı gelişen bir diyabetik ayak MRSA

enfeksiyonu mu, yoksa MRSA a bağlı gelişen bir sekonder nazal MRSA taşıyıcılığıdır? Bunun detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

7. ÖZET

Giriş-Amaç: Ayak enfeksiyonları diyabetli hastaların hastanede yatış süresini uzatan, amputasyon riskini artıran en önemli medikal, sosyal ve ekonomik komplikasyondur. Bu çalışmada DM lu hastaların nazal MRSA taşıyıcılık oranını, ayak enfeksiyonların etkenlerini, risk faktörlerini ve nazal taşıyıcılık ile ayak arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntemler: Bu çalışmaya Mart 2007 - Temmuz 2007 arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Bolu İzzet Baysal Devlet Hastanesinde diyabet tanısı ile takip edilen tip 1 ve tip 2 DM lu 250 hasta alındı. Hastaların 47 sinde ayak ülseri vardı. Ayak ve burundan alınan örnekler standart mikrobiyolojik tekniklerle değerlendirildi ve MRSA kabul edilen suşlar PCR ve jel elektroforez yöntemi ile nuc, mecA ve PVL genleri yönünden araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan 250 hastanın %10,4 ünde nazal MRSA taşıyıcılığı tespit edildi. Ayak enfeksiyonlarında en sık *S.aureus* (%25,6) izole edildi. Ayaktan izole edilen *S.aureus*'ların %8,8' i MRSA, %16,8' i metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) du. Ayağından MRSA izole edilenlerin %55,5 i de nazal MRSA taşıyıcısı idi. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre bu suşların %22,2'si aynı bulundu. Burun ve ayaktan izole edilen MRSA 'ların yapılan PCR ve jel elektroforezi sonucunda nuc ve mecA genleri pozitif tespit edilirken %1,5 da PVL geni tespit edildi.

Sonuçlar: Çalışmamızda DM lu hastalarda nazal MRSA taşıyıcılığının yüksek olduğu ve bunun ayak enfeksiyonu için risk faktörü oluşturduğu tespit edilmiştir. PVL geninin ayaktaki örneklerde çok düşük oranlarda (%1,5) tespit edilmesi ve aynı hastaların burnunda tespit edilmemesi fenotipik olarak aynı görünseler de etkenin aynı olmadığını ve toplum kaynaklı suşların düşük oranda bulunduğunu göstermektedir.

Diyabetik ayak enfeksiyondan izole edilen MRSA nın kaynağının nazal taşıyıcılık olduğunu ispat etmek için filogenetik analize ihtiyaç olmakla beraber DM lu hastalarda nazal taşıyıcılık her zaman enfeksiyon için risk faktörü oluşturduğu için gerekli önlemler alınması yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik ayak, MRSA, nazal taşıyıcılık, mecA, PVL

7-SUMMARY

Investigation of Methicillin Resistant *S.aureus* carriage among the patients with Diabetic foot infection by using molecular diagnostic methods

Background-Objective:Foot infections lengthen the duration of hospitalization stay and increase the risk of amputation and major medical, social and economic complication for patients with diabetes. In this study, we have investigated the prevalence of MRSA carriage in diabetic patients, risk factors, agents for diabetic foot infections and we have explored the relationship between nasal carriage and foot infection.

Material-Method: The present study was conducted at Düzce School of Medicine and Izzet Baysal Hospital in Bolu between March 2007 and July 2007 on 250 patients who were diagnosed with type1 and type 2 diabetes. Forty-seven patients with diabetic foot ulcers were included in this study. The ulcer and nasal samples were evaluated by using standard microbiological techniques. The samples of patients whose were positive for MRSA tested for the presence of nuc, mecA and PVL genes by PCR and gel electrophoresis.

Results: Nasal MRSA carriage was obtained from %10.4 of the 250 patients. The most common isolate from foot infections was *S.aureus* (%25.6) as 8.9% MRSA and 16.8% MSSA. 55.5%of the patients who had MRSA isolation from their diabetic foot ulcer were nasal MRSA carrier.The antimicrobial resistance patterns were similar 22.2% of these samples. Nuc and mecA genes were found positive for all MRSA isolates obtained from foot and nasal samples; while PVL genes were positive is 1.5% associated with foot infections.

Conclusion: This study showed that, the increase in the nasal MRSA carriage in diabetic patients and the risk factor for foot ulcer infections. The nasal and foot ulcer isolates showed that fenotyping demonstrated but found positive PVL genes in the foot ulcer isolates different from those of the nasal isolates of samples even if there is a need of an filogenetic analysis in order to prove that the source of MRSA isolated from diabetic foot infections in nasal carriage. Nasal carriage is always a risk factor for infections in diabetic patients and necessary precautions

Key Words: Diabetic foot, MRSA, nasal carriage, mecA, PVL

9.KAYNAKLAR

- 1- Levin ME, Foot lesions in patients with diabetes mellitus. End Metab Clin North Am.1996; 5(2): 448–54.
- 2- Ertuğrul MB, Bakıroğlu S, Aksoy M, Çalangu S. Diyabetik ayak ve infeksiyonu. Klimik Derg. 2004;17(1):3-12
- 3- Apelqvist J, Larsson J, What is the most effective way to reduce incidence of amputation in the diyabetic foot? Diyabetes Metab Res Rev. 2000;16;75–83.
- 4- Lee CR, Nicholas JB, David GA. MRSA in the diabetic foot . In : Weigelt J.A eds. MRSA 1st. ed. New York Informe Healthcare USA.2007.(71–88)
- 5- Wertheim HFL, Vos, A. Ott A, Belkum V, Voss A, Kluytmans JV, et. al. Risk and outcome of nosocomial Staphylococcus aureus bacteraemia in nasal carriers versus noncarriers, Lancet 364 (2004) 703–705.
- 6- Foster W. Diabetes Mellitus. In: Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine 12'th ed. Hamburg: McGraw-Hill Book Company. 2001:p.1995–96
- 7- Yenigün M, Altuntaş Y, Her yönüyle Diabetes Mellitus.2. Baskı. 2001 İstanbul.
- 8- Zimmet P. Challenges in diabetes epidemiology –from west to the Rest. Diabetes Care 1992;15:232–52.
- 9- WHO (1998) The World Health Report 1998. Life in the 21st. Century-a Vision for All. Geneva, Switzerland: WHO
- 10- Satman İ, Sengül AM, Uygur S, Salman S, Bastar İ, et. al. The TURDEP group. Diabetologia 2000; supp11–1.

- 11- Satman İ, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, et al. Population-based study diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemology Study (TURDEP). *Diabetes Care* Sep 2002; 25:1551–1556.
- 12- Zimmet P, Dowse G, Finch C, King H, The epidemiology and natural history of NIDDM –lessons from South Pasific. *Diabetes Metabo Rev* 1990;6:91–124
- 13-The Expert Committee On the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee On the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20:1183–1197.
- 14-The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26: 5–20.
- 15-American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2005;28:37–42.
- 16- Wood FC Jr. Disorders of Carbohydrate Metabolism. In: Berkow R, Fletcher J, Bondy PK, Faling LJ, Feinstejn AR, et. al, editors. *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*. 16th ed. Rahway, N.J.U.S.A. Merck & Co.,Inc. 1995.:p1069-1088.
- 17-Adlin EV. Endocrine and Metabolic Diseases. In: Myers AR, editor. *The National Medical Series for Independent Study, Medicine*. Middle East 2nd ed. Giza, Egypt: Mass Publishing Co.; 1994: p. 401-463
- 18-Ozcan S, Bozdemir N, Akpınar E, Ergun UG. Egzersiz, Sağlık, Hastalık, Toplum ve Hekim. *Arşiv* 2002;11:388–402.
- 19- İlicin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. Temel İç Hastalıkları. Günes Kitabevi Ankara 2003;Cilt 2:2279-2330
- 20-Centers for Disease Control and Prevention: National Diabetes Fact Sheet United States, 2003; www.cdc.gov
- 21-Mayfield JA, Reiber GE, Sanders LJ, et al. Preventive foot care in people with diabetes. *Diabetes Care*. 1998;21: 2161–2177.
- 22-Satman İ, Sengul AM, Uygur S, et. al. The TURDEP Group. Diabetes Div. Istanbul Univ. State Inst. Statistics and Min. Health-Turkey. 36th. EASD Jaruselem,

17th–21th September 2000. Provisional Programme p.49. Diabetologiae 2000; Suppl.1

23- Jeffcoate W, Jarding K G. Diabetic Foot Ulcers. Lancet. 2003;361:1545–1551.

24-Frykberg RG, Armstrong DG, Giurini J, et al. Diabetic Foot Disorders: A Clinical Practice Guideline. J. Foot Ankle Surg. 2000; 39: 2–60.

25- Levin ME. Management of Diabetic Foot: Preventing Amputation. South Med J. 2002;95:10–20.

26-Sapico FL, Bessman AN. Foot infections in the diabetic patient. In:Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. Infectious Diseases. Second ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998:1270–2

27-Wagner WF. The Dysvascular Foot: A System for Diagnosis and Treatment. Foot Ankle.1981;2:62–122.

28- Aytıntug S, Koçak S, Diyabetik Ayak Enfeksiyonları.Enfeksiyon Bülteni 1996;2: 65-69

29-Ulusoy S, Ozinel MA, Diyabetik ayak enfeksiyonları tedavisi. İlaç Tedavisi Dergisi.1994;3:149–152

30-Sapico FL, Witte JL. Canawati HN et. al. The infected foot of the diabetic patient: Quantitative microbiology and analysis of clinical features. Rev Infect Dis 1984;6 (suppl 1):171–176

31-International Working Group on the Diabetic Foot. International consensus on the diabetic foot [CD-ROM]. Brussels: International Diabetes Foundation, May 2003.

32-Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG et. al. IDSA guidelines. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections, Clin Infect Dis 2004;39(7):885–910.

33-Ge Y, MacDonald D, Hait H, Lipsky B, Zasloff M, Holroyd K. Microbiological profile of infected diabetic foot ulcers. Diabet Med 2002;19,1032–4.

34-Hartemann-H. A, Robert J, Jacqueminet S, et. al. Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: risk factors and impact. Diabet Med 2004;21:710–5.

- 35-Lipsky BA: A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot, *Diabet Metab Res Rev* 2004;20(Suppl1):68-77S.
- 36-Lipsky BA, Stoutenburgh U: Daptomycin for treating infected diabetic foot ulcers: Evidence from a randomized, controlled trial comparing daptomycin with vancomycin or semi-synthetic penicillins for complicated skin and skin-structure infections, *J. Antimicrob Chemother* 2005;55(2):240–5.
- 37- Akıncı E. Diyabetik Ayak İnfeksiyonu, *Klimik Dergisi* 2005;18:6-7
- 38- Reiber G, Lipsky B, Gibbons G. The burden of diabetic foot ulcers. *Am J Surg* 1998;176 (suppl 2A): 5–10.
- 39- Game F, Jeffcoate W. MRSA and osteomyelitis of the foot in diabetes. *Diabet Med* 2004; 21(suppl 4): 16–19.
- 40-Tentolouris N, Petrikos G, Vallianou N, Zachos C, Daikos GL, et. al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in infected and uninfected diabetic foot ulcers *European Society of Cl. Microbiol.and Infec. Diseases. CMI*, 2006;12:178–196
- 41-Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* 11th edition 2002 by Mosby, Inc.
- 42-Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara; 2004:9- 68.
- 43- Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustacelebi S(editor).*Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara Gunes Kitabevi Ltd Sti, 1999;339-348
- 44-Dundar V, Dundar OD. Stafilokok infeksiyonları Willke Topcu A(editor) *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2 Etkenlere göre infeksiyonlar*. 2002 Nobel Tıp Kitapevleri ;p1507-1516
- 45- Denis O, Nonhoff C, Byl B, Knoop C, Bobin-Dubreux S, et. al. Emergence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a Belgian hospital: microbiological and clinical features, *J Antimicrob Chemother* 2002;50(3):383-9

- 46- Boubaker, K, P. Diebold, D. S. Blanc, F. Vandenesch, G. Praz, G. Dupuis, and N. Troillet. 2004. Panton-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in school children. *Emerg. Infect. Dis.* 10:121–124.
- 47- Strausbaugh LJ. Toxic shock syndrome. *Post Grad Med.* 1993;94(6):107.
- 48-Kluytmans J, van Belkum A, Verburgh H: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:505-520
- 49-Kluytmans, J.A.J.W, Wertheim H.F.L. Nasal carriage of *S. aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection* 2005; 33 ;(1): 3-8
- 50- Cetinkaya Y, Unal S. Stafilokok nazal taşıyıcılık: Önemi ve Tedavisi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1999; 3:22 -32
- 51-Arch G. Mainous III, William Ph. D, Hueston J, Charles MD et. al. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002 *Ann Fam Med* 2006;4:132-137.
- 52- Styers D, Sheehan DJ, Hogan P, Sahm DF: Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States, *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006;5:2.;134-142
- 53- Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Çolakoglu S, Hascelik G: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):519 -23.
- 54-Dizbay M, Sipahi A.B, Günal Ö ve ark. Metisiline dirençli *S.aureus* izolatlarında glikopeptid ve linezolid direncinin araştırılması
- 55- Yavuz MT, Behcet M, Ozturk C.E, Ozaydin C, Kaya D: *Staphylococcus aureus* izolatlarının quinupristin/dalfopristin duyarlılıkları, *Türk Mik. Cem. Derg* 2006;36(4):190-194
- 56- Dundar V. Metisiline Dirençli Stafilokok İnfeksiyonları. *Klimik Dergisi Cilt 13, özel Sayı* 2000;26 -27
- 57- Cetinkaya Y. Metisilin Dirençli *S. aureus* infeksiyonlarının Epidemiyolojisi ve Kontrolü. *Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları* 2002; 317 -334

- 58- Miller NC, Rudoy RC, Vancomycin Intermediate-resistant *Staphylococcus aureus*, *Orthop. Nurs.* 2000;19(6): 45-48
- 59- Cetin ET, Ang O. *Staphylococci resistant to meticillin.* *Br Med J* 1962;2: 51
- 60- Katayama Y, Ashley Robinson D, Mark C.E. Genetic Background Affects Stability of *mecA* in *S. aureus* *J.Clin.Microbiol.* 2005;43:2380-2383
- 61- Prère MF, Baron O, Cohen Bacrie S, Fayet O, Genotype MRSA, a new genetic test for the rapid identification of staphylococci and detection of *mecA* gene *Pathologie Biologie* 2006;54: 502–505
- 62- Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes *meticillin* resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1549 -1555
- 63- Moroney S.M, Heller L.C, et. al . *Staphylococcal cassette chromosome mec and panton-valentine leukocidin characterization of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clones* *J.Clin.Microbiol.* 2007;45:1019-1021
- 64- Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired *meticillin*-resistant *S. aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46 :1147– 1152
- 65- Yamamoto T, Dohmae S, Saito K, et. al, Molecular Characteristics and In Vitro Susceptibility to Antimicrobial Agents, Including the Des-Fluoro(6) Quinolone DX-619, of Panton-Valentine Leucocidin-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the Community and Hospitals *J.Clin.Microbiol* 2005;50:4077-4086
- 66- Hackbarth CJ, Kocagoz T, Kocagoz S, Chambers HF (1995) Point mutations in *Staphylococcus aureus* PBP 2 gene affect penicilin binding kinetics and are associated with resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 39: 103– 106.
- 67- Brakstad O.G, Aasbaak K, Maeland J. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the *nuc* gene *J.Clin.Microbiol* 1992;30:1654-1660
- 68- Unal S. Stafilokoklarda metisilin ve enterokoklarda vankomisin direncinin belirlenmesi. *ANKEM Derg* 2007;21(Ek 2):166 -170

- 69- Derebentli S. Stafilokoklarda Antibiyotik Direnci: 2003–2004 Türkiye Haritası ANKEM Derg. 2005;19(Ek 2):54–60.
- 70- Ozkutuk A, Ozdemir S, Ergon C, Yulug N Askeri personelde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığı prevalansı, Enfeksiyon Derg. 2003;17(3):285 -7
- 71-Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E:Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *S.aureus* suşlarında antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2003; 17(1):56 -59
- 72- Öksüz Ş, Yavuz T, Öztürk E ve ark. Yara örneklerinden izole edilen *S.aureus* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, XXXI.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı s.273, Kuşadası (2004)
- 73- Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis. 2003; 36:131- 139
- 74- Ozçelik B, Kaynak F, Cesur S, Abbasoglu U: ilkokul çocuklarında boğazda *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı, XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı İstanbul 2003: s.279
- 75- Guntekin G: Hastane infeksiyonu etkeni olan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının AP-PCR yöntemiyle epidemiyolojik yönden incelenmesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (2005).
- 76- Jernigan JA, Pullen AL, Partin C, Jarvis WR. Prevalence of and risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outpatient clinic population Infect Control Hosp Epidemiol. 2003;24:445–450
- 77- Pitter D, Hugonnet S, Harbarth S. Effectiveness of hospital wide programme to improve compliance with hand hygiene. Lancet. 2000;356:1307
- 78- Karabay, O, Oktun MT, Yavuz MT Nasal carriage of methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* in nursing homes residents in Bolu, Turkey, *West Indian Med J*, 2006 ;55:183-187

- 79-Doganay M, Unal S.(editorler). Hastane infeksiyonları. Bilimsel Tıp, Ankara,2003
- 80-Bilgehan H. Gram Olumlu Koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Fakülteler Kitabevi, İzmir;2000: 239–268.
- 81- Sonnen with AC, Jaret L, Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis St Luis; The CV Mosby, 1980:1937
- 82- Baron E.J, Peterson LR, Finegold SM, Diagnostic Microbiology .St Luis:CV Mosby 1994;321-332
- 83-Bilgehan H, Klinik Mikrobiyolojik Tanı: Bornova: Barış Yayınları 2002,495-504
- 84-Baird D, Staphylococcus: Cluster- forming Gram- positive cocci .In collee JG, Marmion BP, Simmons A.ed. Practical Medical Microbiology 1996: 245-262
- 85-Aydın M. Candida cinsi mantarlar (C. albicans), Ed. Aydın M. Tıp ve Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji. P: 1109, Güneş Yayınevi. 2004 Ankara
- 86- Koneman EW, Allen SD, William MJ, Schreckenberger PC, Winn WC(EDS): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philedelphia: Lipincott-Raven Publishers, 1997.
- 87-CLSI: Clinical and Laboratory Standarts İnstitue: Sixteenth Informational Supplement M100-S16, CLSI, Wayne, Pa (2006).
- 88- Blood and bady fluid SPİN protocol QIAGEN Gembh, Hilden,GERMANY. 2003
- 89- Ryan R, Nick A, Devolopment of a Triplex Real-Time PCR Assay for detection of PVL genes in clinical isolates of MRS. J.Clin.Microbiol. 2005:43:6147 6149
- 90- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamat F, Bes M, Peter O, Involvement of PVL producing *S. aureus* in primary skin infection and pneumoniae Clin. Infect. Dis. 1999: 29: 11228–1132
- 91- Costa A. M, Palladino S: 2005 Rapid detection of *mecA* and *nuc* genes in staphylococci by real-time multiplex polymerase chain reaction Diagn. Microbiol. Infect. Dis.51:13- 17

- 92- Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, et.al, Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect Immun* 2002; 70:631– 641.
- 93- Lipsky, B.A, Armstrong D.G, Citron A, Tice D, Morgenstern E. et. al. Ertapenem Versus Piperacillin/Tazobactam For Diabetic Foot Infections (SIDESTEP): Prospective, Randomised, Controlled, Double-Blinded, Multicentre Trial. *Lancet* 2005; 366:1695–1703.
- 94- Ravisekhar G, Benu D, Artı K, et. al, A Clinico-Microbiological Study Of Diabetic Foot Ulcers In An Indian Tertiary Care Hospital, *Diabetes Care*, 2006;29; 1727-1732
- 95- Lipsky B.A, Pecoraro R.F, Larson S.A, Outpatient Management Of Uncomplicated Lower-Extremity Infections In Diabetic Patients *Arch.Intern.Med.* 1990;150:790-797
- 96- Citron M.D, Goldstein E.J, Merriam C.V , Lipsky B, Abramson A.M Bacteriology Of Moderate-To-Severe Diabetic Foot Infections And In Vitro Activity Of Antimicrobial Agents , *J.Clin.Microbiol*, 2007;45 (9) 2819-2828
- 97- Tanyel E, Ertem Tuncer G, Tülek N, Diyabetik Ayak Enfeksiyonlarının İrdelenmesi, *Klinik 2003 XI. TÜRK Klinik Mikrobiyoloji Ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, P12/09
- 98- Örmən B, Türker N, Vardar İ. ve ark. Diyabetik Ayak İnfeksiyonlarının Klinik Ve Bakteriyolojik Değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 2007;21(2) 65- 69
- 99- Serefhanoglu K, Turan H, Timurkaynak F.E, Arslan H, Diyabetik Ayak İnfeksiyonlarının Aerobik Bakteriyolojik Analizi. *ANKEM Derg.* 2006;20(2)85- 88
- 100- Grayson M.L. Diabetic Foot infections –antimicrobial therapy. *Infec.Dis.Clin. North. Am.* 1995 ; 9; 143-161
- 101- Bamberg D.M, Daus G.P, Gerding D.N, Osteomyelitis in the feet of diabetic patients. *Am.J.Med.* 1987; 83:p. 653–656
- 102- Lipsky BA, Pecoraro RE, Chen MS, Koepsell TD: Factors affecting staphylococcal colonization among NIDD Outpatients, *Diabet Care* 1987; 10: 483.

- 103- Hidron AL, Kourbatova EV, Halvosa J.S, Terrel BJ. Risk factors for colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients admitted to an urban hospital: Emergence of community-associated MRSA nasal carriage. Clin Infect Dis 2005;41:159–66
- 104- Sahin İ, Sencan İ, Kaya D, Gulcan A, Gulcan E, Diabetes Mellituslu hastalarda burunda Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığını etkileyen faktörler, ANKEM Derg. 2004;18(1):19–23.
- 105- Gül M, Büyükbese M.A, Cıragil P, Diabetes Mellituslu hastalarda nasal *Staphylococcus* taşıyıcılığı. Türk Mik. Cem. Derg.2004;34: 147–150
- 106- Tamer A, Karabay O, Ekerbiçer H, *Staphylococcus aureus* nasal carriage and associated factors in typ2 Diabetic patients J.Infect.Dis. 2006;59:10–14
- 107- Stanaway S, Jhanson D, Moilik P, Gill G. MRSA isolation from diabetic foot ulcers correlates with nasal MRSA carriage Diab.Res and Clin.Prac.2007;75:47–50
- 108- Hill R.L.R, Bates M, Foster A.V.M and Edmonds M.E. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in diabetic foot ulcer patients and its relationship to ulcer infection Diab.Med.2003;20(suppl 2) 9
- 109- Humphreys H: Control of meticilin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals. An impossible dream. J.Med.Microbiol. 2002;51:283–5.
- 110- Becker K, Pagnier I, Schuhen B et. al. Does Nasal Cocolonization by Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains Occur Frequently Enough To Represent a Risk of False-Positive Methicillin-Resistant *S. aureus* Determinations by Molecular Methods? J.Clin.Microbiol,2006;44:229-231
- 111- Felten A, Grandy B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low level methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol 2002; 40: 2766–71.

- 112- Swenson J.A, Spargon J, Tenover F.C, Ferraro M.J. Optimal inoculation methods and quality control for the NCCLS oxacillin agar screen test for detection of oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2001;39: 3781–4.
- 113- Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 867–8.
- 114- Telli M, Sümerkan B, Esel D, *Staphylococcus aureus*'ta Metisilin Direncinin Belirlenmesinde Sefoksitin Disk, Oksasilin Disk, Oksasilin Agar Tarama Ve Pbp2a Lateks Testlerinin Karşılaştırılması. İnfek. Derg.2006; 20 (2): 93–96
- 115- Atay T, Gülay Z, Comparison Of Pbp2a Latex Agglutination Test With Disk Diffusion, Meca Pcr And Vitek For The Detection Of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates ANKEM Derg 2004;18(4):205–208.
- 116-Holmes A Ganner M McGuane S Pitt T.L. Cookson B.D et. al. *Staphylococcus aureus* Isolates Carrying Panton-Valentine Leucocidin Genes in England and Wales: Frequency, Characterization, and Association with Clinical Disease J.Clin.Microbiol 2005;43:2384-2
- 117- Issartel B, Tristan A, Lechevallier S, Bruye`re F et. al Frequent carriage of panton-valentine leucocidin genes by *Staphylococcus aureus* Isolates from Surgically Drained Abscesses J.Clin.Microbiol 2005;43:3203-3207
- 118-.Dufour PY, Gillet M, Bes G, Lina F, Vandenesch D. et. al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin. Infect. Dis.2002: 35:819–824.

10. RESİMLEMELER LİSTESİ

Tablo - 1. Amerikan Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) ve WHO tarafından tanımlanmış olan tanı kriterleri

Tablo- 2. Wagner sınıflaması

Tablo- 3. Diyabetik ayak enfeksiyonları ve izole edilen muhtemel patojenler

Resim -1. Enfekte bir diyabetik ayak ülseri

Tablo- 4. Kullanılan antibiyotik diskleri, miktarları, *S.aureus* için zon çapları

Tablo- 5. Çalışmada kullanılan DNA oligonükleotidleri

Tablo- 6. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Tablo-7. Diyabetik ayak enfeksiyonu saptanan olguların ülser özellikleri

Tablo-8 Alt ekstremitte enfeksiyonu olgularında saptanan mikroorganizma ve enfeksiyon tipleri

Tablo - 9. Yara yerinden izole edilen mikroorganizmalar

Tablo–10. Alt ekstremitte enfeksiyonundan MRSA ve MSSA izole edilen hastaların ülser özelliklerinin karşılaştırılması.

Tablo -11. Nazal *S.aureus* taşıyıcısı olan ve olmayan hastaların risk faktörleri açısından değerlendirilmesi

Tablo -12. Burundan ve ayaktan izole edilen MRSA suşlarının bazı antibiyotiklere direnç oranları

Tablo–13. *S.aureus* suşlarının mecA geni varlığına göre dağılımı ve kullanılan yöntemlerin MRSA ve MSSA olarak belirlediği suş oranları

Tablo-14. MecA geni varlığı altın standart alındığında yöntemlerin duyarlılık, özgüllük ve yorumlama güçleri(%)

Şekil - 1. PCR ile analiz edilip, %2 lik agaroz jel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen mec geni. ilk bant düşük ağırlıklı DNA molekülü (moleküler ruler).1-9 arası bantlar ise mecA pozitif MRSA

Şekil- 2. PCR ile analiz edilip % 2 lik agaroz jel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen nuc geni. İlk bant düşük moleküler ağırlıklı marker (moleküler ruler)1.2.4 ve 6. bantlar nuc pozitif Stafilokok (S.aureus).3. ve 5. bantlar nuc negatif stafilokok (KNS)

Şekil - 3. PCR ile analiz edilip %2 lik agaroz gel elektroforez bant görüntüleri tespit edilen PVL geni. İlk bant düşük moleküler ağırlıklı marker(moleküler ruler) 2. bant PVL pozitif MRSA, 1,3, 4. ve 5. bantlar PVL negatif MRSA

Tablo -15. Ayağından MRSA ve MSSA izole edilen hastalarda burun taşıyıcılığı oranı

Tablo -16. . Diyabetik ayak enfeksiyonundan MRSA izole edilen hastaların nazal taşıyıcılık durumu, suşun moleküler özellikleri ve antibiyotik direnç durumu

Şekil - 4. PCR ile analiz edilip %2 lik agaroz gel elektroforez ile bant görüntüleri tespit edilen PVL pozitif MRSA(1.bant nuc pozitif, 2.bant mecA pozitif, 3. bant PVL pozitif) ve PVL negatif MRSA(4.bant nuc pozitif,5.bant mecA pozitif ve 6.bant PVL negatif)

11. ÖZGEÇMİŞ

11.01.1973 yılında Manisa da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Manisa, Diyarbakır ve Nevşehir de tamamladıktan sonra 1997 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Bolu Yeniçağ M.S. O. ve İstanbul İl Sağlık Müdürlüğünde Kurum Tabibi olarak görev yaptım. 2002 yılında girdiğim TUS sınavında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Bölümüne ve 2003 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümüne girdim halen bu bölümde çalışmaktayım. İngilizce bilmekteyim. Evli ve bir kız çocuk annesiyim.

12.EKLER

Ek.1.Diyabetik hasta takip formu

No:	
Hastanın Adı, Soyadı:	
Yaşı:	
Cinsiyeti:	<input type="checkbox"/> Erkek <input type="checkbox"/> Kadın
Yaşadığı Yer:	<input type="checkbox"/> Kent <input type="checkbox"/> Kırsal
Öz Geçmişi (diyabetin süresi):	
Diyabetinin tipi:	<input type="checkbox"/> Tip 1 <input type="checkbox"/> Tip 2
Kullandığı ilaçlar:	<input type="checkbox"/> Diyet <input type="checkbox"/> Antidiyabetik <input type="checkbox"/> İnsülin
Ülserin yeri:	
Ülserin süresi (hafta)	
Ülserin boyutu (cm ²)	
Geçirilmiş ülser öyküsü varmı	
Ülserin tipi:	<input type="checkbox"/> Nöropatik <input type="checkbox"/> İskemik <input type="checkbox"/> Nonöropatik
Hb A ₁ C düzeyi:	
Antibiyotik tedavisi ve süresi	
Hastanede yatış süresi	
Burun taşıyıcılığı	
Bakteri kültürü	
Gram boyama	
Duyarlılık testleri	