



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ'NDEKİ ÇEŞİTLİ
HAYVANSAL KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN KOAGULAZ
NEGATİF STAFİLOKOKLARIN KARAKTERİZASYONU VE
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HALİT ŞÜKÜR

DOKTORA TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. ÖMER MEMDUH ESENDAL

2020-LEFKOŞA



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ'NDEKİ ÇEŞİTLİ
HAYVANSAL KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN KOAGULAZ
NEGATİF STAFİLOKOKLARIN KARAKTERİZASYONU VE
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HALİT ŞÜKÜR

DOKTORA TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. ÖMER MEMDUH ESENDAL

2020-LEFKOŞA

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesinde aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Halit Şükür

TEŞEKKÜR

Doktora tezim için beni yönlendiren ve yürütülmesinde bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömer Memduh ESENDAL'a,

Doktora öğrenim boyunca ve tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Hüban GÖÇMEN'e,

Çalışmamın analizlerinde destekleri ile yanımda olan bölüm arkadaşım Arş. Gör. Hazel TAMAKAN'a, tezimin konusunu oluşturan numunelerimin toplanmasında her türlü desteği sağlayan ve yardımcı olan Vet. Hek. Erdoğan ÇAPLI, Vet. Hek. Meryem IRİZ, Vet. Hek. Çağan ÇAĞANSOY, Vet. Hek. Kemal KAMKAM ve Tolgay BOYACIOĞLU'na,

Hayatımın her aşamasında emeği geçen ve beni bu günlere kadar sevgi, güven ve anlayışla getirip, sonsuz desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem ve babam'a,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER	vii
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Stafilocok Familyası	6
2.4. Koagulaz Negatif Stafilocoklar	8
2.5. Stafilocok Cinslerinin Tanımlanması	10
2.6. Stafilocok Türlerinin Tanımlanması	11
2.7. Koagulaz Negatif Stafilocokların Virölens Faktörleri	13
2.8. Enzimler	14
2.8.1. Katalaz	15
2.8.2. Koagulaz	15
2.8.3. Lipaz	15
2.8.4. Slime faktör	15
2.8.5. Hiyaluronidaz	16
2.8.6. Deoksiribonükleaz	16
2.8.7. Beta-laktamaz (penisillinaz)	16
2.9. Patogeneze	16
2.10. Koagulaz negatif Stafilocokların neden olduğu infeksiyonlar	18
2.11. Teşhis	21
2.11.1. Klinik teşhis	21
2.11.2. Laboratuvar muayenesi	21
2.11.2.1. Kültür	21
2.11.2.2. Biyokimyasal testler	22
2.11.2.2.1. Katalaz testi	22

2.11.2.2.2. Koagulaz testi	22
2.11.2.2.3. Deoksiribonükleaz test	23
2.11.2.2.4. Slime testi	23
2.11.3. Vitek 2 otomatize sistem	24
2.12. Antibiyotikler	25
2.12.1. Antibiyotikler hakkında bilgi	26
2.12.2. Antibiyotiklerin etki mekanizması	26
2.12.3. Antibiyotiklerde direnç	28
2.12.4. Antibiyotiklerde direnç mekanizması	29
2.12.5. Antibiyotik dirençlilik kontrolü	31
2.12.6. Çoklu ilaca dirençlilik (MDR)	32
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Örneklerin toplanması	33
3.1.2. Besiyerleri ve antibiyotik diskleri	33
3.1.2.1. Besiyerleri	33
3.1.2.1.1. Kanlı agar (Biomérieux 43041)	33
3.1.2.1.2. MacConkey agar (Merck 1.05465)	33
3.1.2.1.3. Eosin methylen blue agar (Merck 1.01347)	34
3.1.2.1.4. Mueller hinton agar (Merck 1.05437)	34
3.1.2.1.5. Nutrient agar (Merck 1.05450)	35
3.1.2.1.6. Tryptic soy broth (Merck 1.05459)	35
3.1.2.1.7. DNase agar (Merck 1.10449)	36
3.1.2.1.8. Congo red agar (Oxoid, UK)	36
3.1.2.2. Antibiyotik diskler (Bioanalyse)	36
3.2. Metot	37
3.2.1. Örneklerin alınması	37
3.2.2. <i>Staphylococcus</i> spp. izolasyonu	37
3.2.2.1. Koagulaz negatif stafilocların değerlendirilmesi	37
3.2.2.1.1. Katalaz testi	38
3.2.2.1.2. Koagulaz testi	38
3.2.2.1.3. Vitek 2 Compact Sistem (BioMérieux, France)	38

3.2.2.1.4. Congo red agar	39
3.2.2.1.5. DNase test	40
3.2.3. Antibiyogram	41
4. BULGULAR	42
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	42
4.2. DNase Testi Sonuçları	48
4.3. Congo Red Agar Sonuçları	49
4.4. Antibiyogram Sonuçları	51
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	56
KAYNAKLAR	62
EKLER	79
ÖZGEÇMİŞ	82

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Gram Pozitif Kokları Ayırt Etme Yöntemi	10
Tablo 2: Koloni Morfolojilerine Göre KNS Türleri	11
Tablo 3: Hayvanlardan İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocoklar	20
Tablo 4: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (İnek)	42
Tablo 5: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (Koyun)	43
Tablo 6: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (Keçi)	43
Tablo 7: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (At)	44
Tablo 8: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (Köpek)	45
Tablo 9: Hayvan Türlerinden İzole Edilen KNS Türlerinin Dağılımı	46
Tablo 10: İzole Edilen KNS'lere Uygulanan DNase Testi Sonuçları	48
Tablo 11: İzole Edilen KNS'lere Uygulanan Slime Testi Sonuçları	50
Tablo 12: İzole Edilen KNS'lerde MRKNS Oranının Saptanması	51
Tablo 13: KNS ve MRKNS İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Slime testinin Congo Red Agar’da Değerlendirilmesi	39
Şekil 2: Dnase testinin Dnase Agar’da Değerlendirilmesi	40
Şekil 3: Antibiyogramın Değerlendirilmesi	41
Şekil 4: İzole Edilen KNS Türlerinin Dağılımı	47
Şekil 5: Hayvan Türlerine Göre İzole Edilen KNS Sayısı	47
Şekil 6: KNS Türlerine Göre DNase Varlığının Dağılımı	49
Şekil 7: KNS Türlerine Göre Slime Varlığının Dağılımı	50
Şekil 8: MRKNS’nin Hayvan Türlerine Göre Dağılımı	52
Şekil 9: KNS’lerin Türler arası Metisiline Olan Dirençlilikleri	52
Şekil 10: Hayvan Türlerine Göre KNS Sayısı ve Metisiline Olan Dirençlilikleri	53
Şekil 11: Türler Arası Çoklu İlaça Dirençlilik (MDR)	54
Şekil 12: İnek Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu	54
Şekil 13: Koyun Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu	54
Şekil 14: Keçi Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu	55
Şekil 15: Atlardan Alınan Svapların Antibiyotik Dirençlilik Durumu	55
Şekil 16: Köpeklerden Alınan Svapların Antibiyotik Dirençlilik Durumu	55

KISALTMALAR VE SİMGELER

CNS	Coagulase Negative Staphylococcus
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokok
KPS	Koagulaz Pozitif Stafilokok
MRKNS	Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok
MRCoNS	Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococcus
MRSA	Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
µm	Mikrometre
cm	Santimetre
DNase	Deoksiribonükleaz
TNase	Termonükleaz
CF	Clumping Factor
CRF	Coagulase Reacting Factor
CFU	Colony Forming Unit
g	Gram
L	Litre
ml	Mililitre
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
atm	Atmosfer
EMB	Eosin Methylene Blue
BHI	Brain Heart Infusion
TSB	Tryptic Soy Broth
rpm	Revolution per Minute
GP	Gram Pozitif
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
PCR	Polimerase Chain Reaction
MDR	Multi Drug Resistance / Çoklu İlaç Dirençlilik

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'ndeki Çeşitli Hayvansal Kaynaklardan İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokokların Karakterizasyonu ve Özelliklerinin Araştırılması

Öğrencinin adı: Halit Şükür

Danışmanı: Prof. Dr. Ömer Memduh Esendal

Anabilim Dalı: Mikrobiyoloji

ÖZET

Amaç: Bu tez projesi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti genelindeki klinik mastitisli inek, koyun ve keçi ile birlikte at ve köpeklerde deri ve burun taşıyıcılığı yönünden Koagulaz Negatif Stafilokok'ların varlığının araştırılması amacıyla planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada klinik mastitisli 50'şer adet inek, koyun ve keçiden süt örnekleri ile 50'şer adet at ve köpekden burun ve deri svabı olmak üzere toplam 350 örnek incelenmiştir. İzolatlar klasik bakteriyolojik yöntemlerle cins, Vitek 2 compact cihazı ile de tür bazında tanımlanmıştır. İzolasyon ve tanımlanmasını gerçekleştiren Koagulaz negatif Stafilokok (KNS) suşlarına virülens faktörlerini belirlemek üzere DNase enziminin varlığı ve slime faktör etkinliği test edilmiş ve Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir.

Bulgular: Tez çalışmasında toplam 350 numuneden 77 adet (%22) KNS izole edilmiştir. Bu suşlardan %34'ü *S. chromogenes*, %14,3'ü *S. xylosus*, %11,7'si *S. sciuri*, %10'u *S. epidermidis*, %9'u *S. capitis*, %8'i *S. arlettae*, %5'i *S. haemolyticus*, %3'ü *S. simulans*, %3'ü *S. caprae*, %1'i *S. lentus* ve %1'i *S. hominis* subsp. *hominis* olarak saptanmıştır. DNase testinde suşların %44,16'sı pozitif, %35,06'sı ise slime faktör pozitif sahip olduğu belirlenmiştir. Antibiyogram sonucunda ise izolatlardan 65 adet (%84,4) metisiline dirençli (MRKNS) olarak saptanmıştır. En yüksek dirençlilik sırası ile %55,4 Amoksisilin / Klavulanik Asit, %46,1 Trimetoprim/Sulfametaksazol, %32,3 Penisilin, %12,3 Eritromisin ve %1,5 Enrofloksasin olarak belirlenmiştir.

Sonuçlar: Bu çalışma ile KKTC'de KNS'lerin varlığı ilk defa tür düzeyinde tespit edilmiş ve antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir. Antibiyotiklere dirençli KNS, özellikle de MRKNS saptanmasının, sağaltım seçeneklerini azaltmasından dolayı hem veteriner hekimlik hem de veteriner halk sağlığı yönünden önemli olduğu ve bu etkenlerin daha dikkatli değerlendirilmeleri gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: KNS; Slime Faktör; Antibiyotik Duyarlılık; DNase; Prevalans

Characterization and Determination of some Properties Coagulase Negative Staphylococci Isolated from Various Animal Sources in the Turkish Republic of Northern Cyprus

Name of the student: Halit Şükür

Mentor: Prof. Dr. Ömer Memduh Esendal

Department: Microbiology

SUMMARY

Aim: This project is planned to investigate the presence of Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS) which plays a role in clinic mastitis in cows, sheep and goats and nasal and skin carriage in horses and dogs throughout the Turkish Republic of Northern Cyprus.

Material and Method: In this study, a total of 350 specimens were examined, including 50 samples of cows, sheep and goats with clinical mastitis, and 50 samples of horses and dogs each with noses and skin swabs. The isolates were identified by conventional bacteriological methods and species were determined by Vitek 2 compact device. The presence of DNase enzyme and slime factor activity were tested to determine virulence factors for CoNS strains isolated and identified and antibiotic resistance profiles were determined by Kirby-Bauer disc diffusion method.

Findings: In this thesis, 77 (22%) CNS were isolated from 350 samples. Of these strains, 33% were identified as *S. chromogenes*, 14,3% as *S. xylosus*, 11,7% as *S. sciuri*, 10% as *S. epidermidis*, 9% as *S. capitis*, 8% as *S. arlettae*, 5% as *S. haemolyticus*, 3% as *S. simulans*, 3% as *S. caprae*, 1% as *S. lentus* and 1% as *S. hominis* subsp. *hominis*. In DNase test, 44,16% of the strains were positive and 35,06% of the strains were positive for slime factor. As a result of antibiogram, 65 (84,4%) of the isolates were found to be methicillin resistant (MRCoNS). The highest resistance rates were found as 55,4% Amoxicillin / Clavulanic Acid, 46,1% Trimethoprim / Sulfamethoxazole, 32,3% Penicillin, 12,3% Erythromycin and 1,5% Enrofloxacin.

Results: In this study, the presence of CNS in TRNC was determined for the first time at species level and antibiotic resistance profiles were determined. It has been concluded that the detection of antibiotic resistant CNS, especially MRCoNS, is important for both veterinary and veterinary public health as it reduces the treatment options and these factors should be evaluated more carefully.

Key words: CoNS; Slime factor; Antibiotic susceptibility; DNase; Prevalance

1. GİRİŞ

Micrococcaceae familyası içerisinde yer alan stafilokoklar, deri ve mukozalara yerleşip, çeşitli türleri ile farklı hastalıklar meydana getirebilen önemli bir bakteri cinsidir. Memeli ve kanatlıların deri, ter bezleri ve müköz membranlarında bulunmaktadır. Vücudun farenks bölgesinden başlayarak burun mukozası, meme dokusuyla birlikte intestinal ve üriner kanallarında da bulunmaktadır.

Koagulaz negatif Stafilokoklar deri florasında ve mukozalarda en sık bulunan etken olması ile birlikte, mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen Stafilokok ailesinin en önemli etkenlerinden biridir.

İnsanlarda immun yetmezlik hastalıklarda ciddi infeksiyonlara neden olurken, hayvanlarda da hem patojenik açıdan hem de ilaca dirençli suşların ortaya çıkmasıyla önem kazanmaktadır. Stafilokokal infeksiyonlar, insan ve hayvanlarda önemli bir infeksiyon etkeni olarak rol oynamakla birlikte, insanlarda Stafilokokal intoksikasyonların oluşumunda önemli yeri bulunmaktadır. Stafilokokal infeksiyonlar ikiye ayrılmaktadır; Koagulaz pozitif Stafilokoklar (KPS) ve Koagulaz negatif Stafilokoklar (KNS) tarafından infeksiyonlar oluşturulabilmektedir.

Koagulaz negatif Stafilokoklar laboratuvar ortamında eskiden apatojen etken olarak değerlendirilirken, artık günümüzde birinci derecede patojen etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte gelişen antibiyotik dirençliliği tedavisi güç hastalıklara sebep olmaktadır. Koagulaz negatif Stafilokoklar genel olarak sütçü inek, koyun ve keçilerde mastitis problemleri olarak karşımıza çıkarken, at ve köpeklerde immun sistem baskılandığı zaman apatojen durumdan patojen hale geçebilmekte, ayrıca yara ve pyoderma vakalarında da rol oynamaktadır.

Son yıllarda KNS'lerin artışı ve buna bağlı olarak antibiyotik direnç gelişimi daha sıklıkla gündeme gelmektedir. Özellikle Beta laktam antibiyotiklere (metisilin direnci) olan dirençlilik artış göstermiştir. Metisiline dirençli KNS suşları (MRKNS) çoğu zaman Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gibi çoklu dirençlilik göstermekte ve buna bağlı olarak terapötik zorluklar ortaya çıkmaktadır.

Antibiyotik direncinin ortaya çıkması insanlarda ve hayvanlarda antibiyotiklerin yanlış kullanımı sonucu gelişebilir. Sonuç olarak hayvanlarda mortalite, morbidite, tedavi maliyetlerinde artışa ve üretim kaybına neden olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Stafilokokların keşfinin erken tarihi, birçok taksonomik yeniden sınıflandırma ve türlerin yeniden adlandırılması ile karakterize edildi. Robert Koch, 1878 yılında stafilokokları tanımlamıştır. Pasteur ise 1880 yılında sıvı besiyerinde üretmiştir. Sir Alexandar Ongston piyozjenik apselerden etkeni izole ederek, mikroskopta koklar halinde görmüş ve üzüm salkımına benzetmesinden yola çıkarak Stafilokok olarak isimlendirmiştir (Archer, 1990).

1881 yılında, etkenin laboratuvar ortamında izole edilmesi Rosenbach tarafından gerçekleştirilmiştir. İzole edilen etkenlerin koloni pigment özelliklerine bakılarak identifiye edilmesine gidilmiştir. Sarı renkli koloni oluşturanlara *Staphylococcus pyogenes aureus*, beyaz koloni oluşturanlara da *Staphylococcus pyogenes albus* ismi verilmiştir (Akan ve ark., 1992; Kloss ve Bennerman, 1995).

Elde edilen kolonilerin pigment özelliklerine bağlı olarak sınıflandırmanın güvenilir olmadığına karar verilmesiyle, 1908 yılında Stafilokoklar *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* olmak üzere 2 türe ayrılmıştır. Winslov ve ark., (1920) yılında *Staphylococcus* cinsini *Micrococcaceae* familyası içerisinde olmasına karar verilmiştir (Schleifer ve ark., 1986).

1925 yılında Stafilokok cinsi içerisinde iki ayrı grup oluşmuştur. Bunlardan biri Koagulaz Pozitif Stafilokoklar / Coagulase Positive Staphylococci (KPS/CoPS) ve diğer bir grup Koagulaz Negatif Stafilokoklar / Coagulase Negative Staphylococci (KNS/CoNS) olmak üzere ikiye ayrıldı (Von Darányi, 1925). Genel olarak, *Staphylococcus* cinsinde şimdiye kadar 45 Stafilokok türü ve 24 alttür tanımlanmıştır (Becker ve von Eiff, 2011; Bond ve Loeffler, 2012; Garrity ve ark., 2004). Bu tanımlama moleküler yöntemlerle belirlenmiştir. Beşeri ve veteriner hekimlikte klinik olarak en önemli tür, temel olarak koloni morfolojisi, koagulaz üretimi, aglütinasyon analizleri ve novobiocin ve polimiksin B duyarlılığı özelliklere bağlı olarak tanımlanabilir. Ayrıca bu özelliklere ilave fermentasyon, oksidasyon ve hidroliz deneyleri gibi birçok biyokimyasal testler de dahil olmuştur (Becker ve Von Eiff, 2011).

Koagulaz negatif Stafilokokların tanımlamaları Baird-Parker tarafından bir tablo ile tanımlanmıştır. 1975 yılında sunulan bu tablo, Schleifer ve Kloos adlı araştırmacılar tarafından geliştirilmiş ve biyokimyasal özellikler de ele alınarak tiplendirmelere gidilmiştir (Patrick, 1990).

1965’de “Subcommitte on the Taxonomy of *Staphylococci* and *Micrococci*” tarafından *Micrococcus saprophyticus*, ilerleyen zamanda 1971’de aynı komitenin bilgilendirmesiyle bakteri DNA’sı ve hücre duvarı yapısının bileşiğindeki farklılık ve anaerobik ortamda daha yavaş üremesi sebebiyle *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. Üçüncü tür olan *Staphylococcus saprophyticus* 1974 yılında stafilokokların tür listesine eklenmiştir. Aynı yıl içinde Baird ve Parker adlı araştırmacılar Stafilokokları *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* olmak üzere üç türe ayırmıştır. 1980 yılında tür sayısı 13 olurken, 1984 yılında ise tür sayısı 20’ye ulaşmıştır. Ancak bunlardan *Staphylococcus intermedius* ve *Staphylococcus hyicus* türleri hariç geriye kalan türlerin tamamı koagulaz negatiftir. Yapılan biyokimyasal çalışmalar, DNA yapılarının incelenmesi ve immunokimyasal çalışmalarla tür sayısı 25’i bulmuştur (Bergdoll, 1983).

Son yıllara kadar laboratuvar ortamında kültürde üreyen, deri florasında en fazla izole edilen KNS türü olarak *S. epidermidis* rapor edilmekteydi (Akan ve ark., 1992; Bal ve ark., 1983). Günümüzde KNS’lerin patojenite gücünün anlaşılması, yapılan birçok araştırmalarda *S. haemolyticus*, *S. hominis* ve *S. warneri* gibi türlerin infeksiyon ajanları olarak bildirilmesi (Voss ve ark., 1994), türler arasında oluşan farklı antibiyotik grupları ve dirençli suşlarda meydana gelen artışa bağlı olarak KNS’lerin hem epidemiyolojik hem de klinik açıdan önemini ortaya koymaktadır (Auwera ve ark., 1990; Devriese ve ark., 1994; Kurt ve ark., 1992).

2.2. Epidemiyoloji

Stafilokok türleri genellikle çevresel kaynaklarda bulunabilen, ayrıca hayvan ve insanların derisi, mukoza zarları, üst solunum ve alt sindirim yolu ile birlikte ürogenital sistem membranlarıyla ilişkili mikroorganizmalardır. İnsan ve hayvanların derisinde Koagulaz negatif Stafilokokların varlığı mevcuttur. Ayrıca derinin nemli kıvrımlı bölgelerinde *S. aureus* ile geçici olarak kolonizasyon halinde de bulunabilmektedir (Peacock, 2005).

Bu mikroorganizmaların mukozal epiteline yapışması Stafilokok bakterilerinin hücrel adhezyonu ile gerçekleşmektedir. Stafilokokların deri ve nazofarinks içerisindeki varlığından dolayı yayılmaları kolaydır ve infeksiyon meydana getirmelerinden sorumludurlar. Stafilokoklar, insan ve hayvanlarda oportunistik patojen olmaları yanı sıra, hayvanlarda meme yangısına sebep olmaları ile birlikte, kuzularda piyemi ve atlarda ise botriyomikozis gibi lokal ve generalize irinli infeksiyonlara sebep olmaktadır (Peacock, 2005).

Stafilokoklar eksudatlarda etkisini haftalarca sürdürebilir ve kurumaya karşı direnç gösterebilmektedir. Çevresel koşullarda yaşam süreleri 2-3 ay gibi değişkenlik gösterirken, irin ve süt gibi organik materyallerde haftalar boyunca etken varlığını gösterebilmektedir (Waldvogel, 2000; Bilgehan, 2000).

Koagulaz negatif Stafilokoklar nozokomiyal kaynaklı bakteriyemilerin başlıca nedenidir. Güncel araştırmalara bağlı olarak KNS'lerin hastanelerde en sık karşılaşılan beş infeksiyon etkeninden biri olduğu belirlenmiş ve kan kültürleri ile birlikte, *S. aureus*'tan sonra sıklıkla izole edilmeye başlanmıştır (Shittu ve ark., 2006; Minto ve ark., 1999; Pal ve Ayyagari, 1989).

Hastanelerde infeksiyonlara karşı çok sık antibiyotik kullanımına bağlı olarak metisiline direnç gösteren koagulaz negatif Stafilokoklar izole edilmektedir. Koagulaz negatif Stafilokoklara bağlı infeksiyonlarda gözlenen artış, antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç ve tedavilerden cevap alınamaması durumuna bağlı olarak KNS'lerin tiplendirilmesine ve antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi için birçok çalışmaların başlamasına neden olmuştur (Pal ve Ayyagari, 1989; Pyörola ve ark., 1995).

2.3. Stafilokok Familyası

Staphylococcus cinsi bakteriler *Staphylococcaceae* familyası içerisinde bulunmaktadır. Stafilokoklar Gram pozitif koklar olup (0,5-1,5µm), düzensiz, üzüm salkımı şeklinde meydana gelmektedirler. Stafilokoklar büyümesi için gereken ortam aerob ortamlar olup, ayrıca fakültatif anaerobdurlar. Optimum büyüme sıcaklıkları 30-37 °C arasındadır. Hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif bakterilerdir (Beveridge, 2000).

Katalaz reaksiyonu olarak negatif reaksiyon veren sadece 2 tür bulunmaktadır; *S. aureus* subsp. *anaerobius* ve *S. saccharolyticus*. Bu iki tür anaerob bakterilerdir. Yapısal ve kimyasal bileşimleri bakımından hücre duvarı Gram pozitif bakteri gibi tipiktir (Beveridge, 2000).

Hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit ve proteinlerden oluşmaktadır. Peptidoglikan tabakası stafilokokları yüksek iç ozmotik basınca karşı koruyan, çok katmanlı olup hücre duvarının ağırlığını oluşturan bir yapıdır (Wilkinson, 1997). Teikoik asit, hücre duvarı kütlesinin yaklaşık %40'ına katkıda bulunur (Knox and Wicken, 1973).

İki tür teikoik asit vardır; biri hücre duvarında bulunan teikoik asit ve hücre zarı ile bağlantılı bir şekilde bulunan lipoteikoik asit. Bir kısmı kovalent olarak peptidoglikana bağlanırken, bir kısmı da bakterilerin lipid zarına yerleşmektedir. Teikoik asitler, Stafilokok hücre yüzeyine negatif bir yük sağlar ve metal iyonlarının, özellikle katyonların ve otolitik enzimlerin aktivitelerinin kazanılmasında ve lokalizasyonunda rol oynar (Schleifer ve ark., 1976).

Peptidoglikan ve teikoik asit hücre duvarı ağırlığının sadece %90'ını oluştururlar. Geriye kalan %10'luk kısmını yüzey proteinleri, ekzoproteinler ve peptidoglikan hidrolazlardan (otolisinler) oluşturur. Bu komponentler bakterilerin hücre yüzeylerine tutunmalarında ve virülens faktörlerinin belirlenmesinde rol oynar. Hücre duvarı yapısı lizozimlere karşı direnç gösterirken, lizostafine karşı olan duyarlılık ise peptidoglikan tabakası yapısında bulunan penta-glisinaz enzimine affinitesine bağlıdır (Oluola ve ark., 2007).

Stafilokokların DNA yapısı incelendiği zaman yapısında düşük oranda Guanine ve Cytosine (G+C) içermektedir. Guanin ve Cytosine içeriği yüzde 30 ile 40 mol arasında değişmektedir. Mikrokokların soyuna bakıldığında bu oran yüzde 68 ile 74 mol arasında değişmektedir. Stafilokoklar, hücre duvarı yapısındaki bileşenlerden dolayı Gram pozitif mikroorganizmalar olup, hücre duvarı kalın bir yapıya sahiptir. Bu kalınlık 30 ile 60 nanometre arasında değişmektedir. Bu oran *Staphylococcus aureus* bakterisinde kalınlık artarak 120 nanometre üzerine çıkabilmektedir. Hücre duvarı yapısı içeriğindeki bileşenler incelendiği zaman peptidoglikan tabakası, teikoik asit ve proteinlerden oluşmaktadır (Kotilainen ve ark., 1990).

Bu yapısal bileşenlerden proteinlerin en önemli görevi ökaryotik hücrelere bağlanmaktır. Bu bağlanmada adhezyon için gerekli olan kollagen, laminin, fibronektin ve fibrinojen içermektedir. Adhezyonla birlikte etkenin proteinlerin yardımıyla dokulara tutulması gerçekleşmiş olur (Kotilainen ve ark., 1990).

Stafilokoklar, kanı pıhtılaştırıcı faktör olan koagülaz enzimine bağlı olarak 2 gruba ayrılmaktadır. Koagülaz pozitif olan grup *S. aureus* grubunu oluştururken, koagülaz negatif grup ise heterojen bir grup olup, insanlarda, kuşlarda ve diğer hayvanlarda bulunan bir gruptur. Klinik laboratuvarlarda koagülaz testi Stafilokokların kendi grup içinde pozitif ve negatifliği belirlemede kullanılan en önemli kriter testlerden biridir (Otto, 2004).

Stafilokokların tür karakterizasyonu belirleme yöntemi oldukça zor ve zaman almaktadır. Fenotipik yöntemler başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarlarına çeşitli moleküler biyoloji yöntemleri dahil edilmiştir. Bu moleküler teknikler tipik olarak birkaç türe özgü PCR primeri kullanılması veya hibridizasyon probunun kullanılmasını gerektirmekte ve aynı zamanda özel enzimlere ihtiyaç duyulmaktadır (Becker ve ark., 2004).

2.4. Koagülaz Negatif Stafilokoklar

Stafilokok türlerinin çoğunluğunu KNS grubu oluşturmaktadır. Minor patojen olarak kabul edilen KNS'ler genel olarak daha yaygın hale gelmektedir (Huxley ve ark., 2002). Klinik olarak hayvanlardan izole edilen KNS'ler; *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus*, *Staphylococcus capitis* subsp. *capitis* ve *Staphylococcus capitis* subsp. *urealyticus*'dur (Lilenbaum ve ark., 2000; Pereira ve ark., 2009; Pyorala ve Taponen, 2009; Soares ve ark., 2008).

Koagülaz negatif Stafilokoklar doğada yaygın halde bulunabilmektedir. İnsan ve hayvanlarda derinin normal florasında bulunan bakteriler olarak kabul edilmekte ve laboratuvar ortamlarında izole edildikleri zaman kontaminant bakteri olarak kabul edilmekteydi. Koagülaz negatif Stafilokoklar konakçılar ile simbiyoz bir şekilde yaşam sürdürmekte ve derinin normal bariyerini oluşturmaktadır (Otto, 2004).

Fakat travma ve yaralanmalar gibi deri bariyerinin zarar gördüğü durumlarda ve immun sistemin baskılanmış olduğu durumlarda apatojen halde bulunan etken patojen hale gelmekte ve etken hastalığa sebep olabilmektedir (Otto, 2004).

Son yıllarda KNS infeksiyonlarda artış olması ve hastane infeksiyonlarında ilk 5 etken arasına girmesi ile KNS'lerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. İdrar yolu, kan, bağırsak, kulak, kemik, deri infeksiyonlarında ve endokarditis infeksiyonlarında önemli bir klinik infeksiyon olarak rol oynamaktadır. Bu tür KNS infeksiyonlarının oluşumu patojenite faktöründe rol oynayan slime faktör etkinliğinden kaynaklanmaktadır (Otto, 2004).

Biyofilm ile ilişkili infeksiyonların tedavisi zordur. Çünkü biyofilm oluşumu ile hem konakçı immun sistem savunmasına direnç göstermesi hem de antimikrobiyal maddelere direnç gösterdiği için antibiyotik tedavisinde güçlükler meydana getirmektedir. Buna bağlı olarak antibiyotik direncinin artmasıyla gelişen tedavi zorlukları, KNS'lerin yayılmasında başlıca nedenlerden biridir (Otto, 2004).

Koagulaz negatif Stafilokokların hayvan hastalıkları ile ilişkili birçok çalışma bulunmaktadır. Evcil hayvanların bu patojenik KNS'leri insanlara aktarımında önemli bir rolü bulunmakla birlikte, bazı insanlara ait stafilokok türlerinin hayvanlara da geçiş yaptığını bildirilmektedir (Yu ve ark., 2017). Koagulaz negatif Stafilokokların neden olduğu infeksiyonlar, *S. aureus*'un neden olduğu infeksiyonlara kıyasla daha az akut bir şekilde kendisini gösterirken, ancak oluşturduğu infeksiyonlar kronik seyirli ve antibiyotiklere karşı dirençlilik göstermeleri sebebi ile tedavisi güç infeksiyonlara neden olmaktadır (Gentilini ve ark., 2002).

Hem sağlık bakımından hem de dünyada ki patojen bakteriler arasında gün geçtikçe önemi artan önemli mikroorganizma topluluklarıdır. Tedavide antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç nedeniyle antibiyotiklerin kullanımı açısından önemli kısıtlamalara sebep olmakla birlikte tedavi başarısızlıklarında artış göstermektedir. Koagulaz negatif Stafilokoklar arasında çoklu antibiyotik direnci bir veya daha fazla direnç geni içeren plazmidlerin varlığıyla yaygındır. Koagulaz negatif Stafilokoklarda ilaç direncinin ortaya çıkması, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (Kloos ve ark., 1981).

Dış çevreye karşı fiziksel bir bariyer oluşturan deri, çok çeşitli mikroorganizmalar tarafından fizyolojik olarak kolonize olabilirler. Koagulaz negatif Stafilokoklar deri mikrobiyotasının ve insan ve hayvanların mukoza zarlarının düzenli bir parçasını temsil eder (Grice ve Segre, 2011). Patojenite mekanizması iki parametreyle ifade edilir; biri invaziv yeteneğidir. Deri bariyerini aşan mikroorganizmanın hücrelere nüfuz etmesi ve biyofilm oluşturarak infeksiyon oluşturmaktadır. Diğer bir parametre ise toksisite yeteneğidir. Yani hemolizinler ve proteazlar dahil olmak üzere enzim ve toksin üreterek infeksiyon oluşturmaktadırlar (Bartoszewicz ve Przondo, 2002; Bochniarz ve Wawron, 2012).

2.5. Stafilokok Cinslerinin Tanımlanması

Enterokoklar ve Streptokoklar gibi diğer Gram pozitif kokların aksine, tüm Stafilokoklar katalaz pozitifdir. Mikrokoklar da koloni morfolojisi, Gram boyama ve katalaz testinin pozitif olması ile birlikte Stafilokoklara benzerlik gösterir iken, tek ayırt edici özellikleri deoksiribonükleik asidi baz bileşimindeki farklılıktır. Stafilokoklar DNA'larında %30-38 mol G-C (Guanine-Cytosine) bulunurken, Mikrokoklarda ise bu oran %67-73 mol'dür. Bunlar ayrıca hücre duvarının kimyasal bileşiminde de farklılık göstermektedir. Stafilokokların peptidoglikan tabakalarında bulunan interpeptid köprüleri arasında glisin-glisin bağlantısı bulunurken, Mikrokoklarda bu durum yoktur. Gram pozitif kokları ayırt etmek için kullanılan en yaygın yöntem Tablo 1'de gösterilmiştir (Bannerman, 2003; Peacock, 2005).

Tablo 1: Gram pozitif kokları ayırt etme yöntemi

Bakteri	Katalaz testi	Oksidaz testi	Oksijen ihtiyacı durumu	Direçlilik		
				Furazolidone	Bacitracin	Lysothaphin
<i>Staphylococcus</i>	+	-	FA	S	R	S
<i>Micrococcus</i>	+	+	A	R	S	R
<i>Stomatococcus</i>	+/_	-	FA	R/S	R/S	R
<i>Aerococcus</i>	-	-	FA	S	S	R
<i>Enterococcus</i>	-	-	FA	S	R	R

**FA-facultative anaerobes, A- aerobes, S-sensitive, R- resistant

2.6. Stafilokok Türlerinin Tanımlanması

Stafilokoklar agar plaklarında kültür sonrası oluşan kolonilerin morfolojisine bakılarak tanımlama yapılabilmektedir. Koloni morfolojisi türlerin tanımlanmasında yararlı bir tanımlayıcı özellik olabilir. Tipik olarak 24–48 saatlik bir inkubasyon sonucunda KNS kolonileri hafif konveks, kabarık, S tipi, parlak ve genellikle pigmentsizdir. Çeşitli KNS türlerinin koloni görünümüleri Tablo 2’de verilmiştir (Proctor ve Peters, 1998).

Tablo 2: Koloni Morfolojilerine Göre KNS Türleri

KNS Türleri	Koloni Görünümleri
<i>S. epidermidis</i>	Orta büyüklükte, yarı saydam, gri-beyaz renkte hemoliz oluşturmeyan kolonilerdir. Slime üreten suşlar agar yüzeyine yapışiktır.
<i>S. haemolyticus</i>	Orta büyüklükte, smooth, opak ve beta hemolitik koloni oluştururlar.
<i>S. hominis</i>	Orta büyüklükte, smooth, opak, pigmentsiz yada krem-sarı renkli koloniler oluşturmaktadır.
<i>S. lugdunensis</i>	Orta büyüklükte, hafif kabarık, smooth, parlak, pigmentsiz veya sarı-turunucu renkte koloniler oluşturmaktadırlar.
<i>S. warneri</i>	<i>S. lugdunensis</i> ’e benzer koloniler oluşturmaktadır.
<i>S. saprophyticus</i>	Büyük, parlak, smooth, opak, hafif kabarık, genellikle beyaz renkte koloniler oluştururken bazı suşları sarı veya turuncu olabilir.
<i>S. schleiferi</i>	Orta büyüklükte, smooth, parlak, hafif konveks, pigmentsiz kolonilerdir.
<i>S. hyicus</i>	Büyük, hafif konveks, smooth, parlak, opak ve genellikle pigmentiz kolonilerdir.
<i>S. capitis</i>	Küçük, smooth, hafif konveks, opak, parlak ve bazı suşları pigmentli kolonilerdir.
<i>S. cohnii</i>	Orta büyüklükte, konveks, smooth, parlak, opak ve bazı suşları pigmentli olabilmektedir.

<i>S. simulans</i>	Büyük, yuvarlak, pigmentsiz, smooth ve hafif parlaklı koloniler oluşturmaktadır.
<i>S. auricularis</i>	Küçük, smooth, konveks, opak, hafif parlak ve pigmentsiz koloniler oluşturabilmektedir.
<i>S. xylosus</i>	Büyük, hafif konveks, yuvarlak, smooth ile rough tipinde değişen sarı veya turuncu renkte pigment oluşturan kolonilerdir.
<i>S. sciuri</i>	Orta büyüklükte, smooth, parlak, opak ve kolonilerinde merkezinde sarı renkte pigment oluşturabilmektedirler.
<i>S. caprae</i>	Küçük, yuvarlak, konveks, opak, parlak ve pigmentsiz koloniler oluşturabilmektedir.

Stafilokok cinsi içinde kültür sonrası türlerin tanımlanması için *S. aureus*'u KNS'lerden ayırmak için en yaygın kullanılan yöntemler koagulaz, fosfataz, ksiloz, sukroz, trehaloz, maltoz, fruktoz, laktoz, sukroz, mannitol kullanımı, hemoliz, nitrat indirgeme, üreaz, ornitin dekarboksilaz kullanımı ile yapılan birçok biyokimyasal testlerle tür bazında ayırım yapılabilir (Aydın ve ark., 2006).

Koagulaz, normal serumun bakterisidal aktivitesini inhibe ederek ve bakteriyel hücre duvarlarında fibrin birikimi yoluyla fagositozu inhibe ederek patojeniteye katkıda bulunabilir. Laboratuvarında 2 tip koagulaz testi uygulanmaktadır; lamda ve tüpde koagulaz testi. Lamda uygulanan testde bağlı koagulaz tespit edilir. Bağlı koagulaz, fibrinojenin alfa ve beta zincirlerinin çapraz bağlanmasına neden olarak pıhtılaşmayı etkilediğine inanılan organizmanın yüzey bileşenidir. Bağlı koagulazda 'Clumping factor' belirlenmektedir (Bilgehan, 2002). Tüpde uygulanan koagulaz testinde serbest koagulaz tespit edilmektedir. Serbest koagulaz protein yapısıdır ve proteolitik enzimlerle kolaylıkla inaktive edilir. Bu enzim, fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile plazmanın pıhtılaşmasına neden olan ve normal olarak plazmada var olan koagulazı etkileyen faktörü, "Coagulase Reacting Factor (CRF)"ü aktive ederek iş görür (Akan, 1993).

2.7. Koagulaz Negatif Stafilocokların Virölens Faktörleri

Koagulaz negatif Stafilocokların virölens faktörleri arasında dokularda kolonizasyonu sağlayan yüzey proteinleri, dokularda invaziv yeteneği kazandıran enzimler (lökosidin, hiyalüronidaz), fagositoza karşı direnç göstermeleri (kapsül) ve hücreleri lize eden toksinler (hemolizin, lökotoksin) bulundurmaktadır. Ayrıca lipase, esteraze, DNase ve TNase gibi enzimler de virölens faktörleri arasında bulunabilmektedirler (Otto, 2004).

Koagulaz negatif Stafilocokların yapısında ekstraselüler polisakkarit yapıda slime maddesi bulunmaktadır. Bu slime maddesi dokulara kolonizasyonu kolaylaştırmakla beraber kalıcı infeksiyonlara da sebep olabilmektedir (Costerton ve ark., 1999). Yapısında bulunana kapsül antifagositik özellik göstermektedir (Yamada ve ark., 1988). Ayrıca hemolisin, lökosidin, lipaz, lesitinaz, DNase ve TNase gibi birkaç toksin ve enzim üretir (Dornbusch ve ark., 1976). Virölens faktörlerinden sorumlu genlerin çoğu, plazmidler, transpozonlar ve bakteriyofajlar gibi suşa özgü genetik elemanlar da bulunur (Vandenesch ve ark., 1993).

Bakterilerin dış yapısında glikokaliks tabakası bulunmaktadır. Bu tabaka hücre duvarına yapışık bir haldedir. Eğer glikokaliks tabası kalın ve de hücre duvarına sıkıca yapışmış bir durumda ise kapsül adı verilir. Glikokaliks tabakası, hücre duvarına sıkıca bağlanmamış durumda ve kolay bir şekilde ayrılabilen bir tabakası varsa buna slime tabakası adı verilmektedir (Cengiz ve ark., 2006; Tünger ve ark., 2004).

Kapsül oluşumu KNS'ler arasında sık görülmekte ve kapsülsüz olan suşlara oranla daha fazla virölense sahiptirler. Kapsül oluşumunun, KNS'lerin en önemli özelliği olan ekstraselüler yapıda olan slime maddesi ile ilişkisi yoktur. Slime faktörü kapsüller polisakkaritler ve protein gibi birçok maddenin oluşturduğu kompleks bir yapıdır. Bu faktör, %40 karbonhidrat ve %27 protein içeren glikokaliks yapısında hücre dışı bir maddedir. Koagulaz negatif Stafilocoklarda kapsül oluşumu fagositoza direnç gösterir ve önemli virölens faktörleri olarak kabul edilmektedir (Hancock, 1989).

Stafilokoklar, adhezyon yaptığı yüzeylerde slime tabakası oluşturmalarıyla bakterilerin hızlıca kolonize olabilmelerine ve konakçının savunma sistemine karşı korunmalarını sağlar (Cengiz ve ark., 2006; Tünger, 2004). Slime tabakası oluşumu, Stafilokoklar için önemli bir virulens faktörüdür. Bu sayede mikroorganizma konak hücrede veya bulundukları yüzeyle adhezyonun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Christensen ve ark., 1994; Keskin ve ark., 2003; Cengiz, 2004).

Keskin ve ark., (2003) mastitisli sığırlardan topladıkları sütlerden ve tavuklarda oluşan lezyonlardan izole etmiş oldukları patojen KNS izolatlarının, kontrol amaçlı sağlıklı hayvanlardan daha önce izole etmiş oldukları suşlara kıyasla daha fazla slime meydana getirdiklerini ve adhezyon özelliklerinin gelişmiş olduklarını bildirmişlerdir.

Yüzeylerde meydana gelen slime tabakası ile birlikte fibrin ve fibronektinin etkisi ile biyofilm tabakası oluşmakta, mikroorganizmaların kolonize olabilmelerine, ve oluşan biyofilmden uzaklaşan mikroorganizmalar sepsise neden olabilmektedir (Karaca ve ark., 2001).

Bakteriler tarafından salgılanan slime maddesi, mikroorganizmanın çevresini sararak vücut tarafından gerçekleşen savunma mekanizmalarına karşı kendini korur. Bu glikokaliks yapısında bulunan slime tabakasının da ayrıca kemotaktik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu etkiyle mikroorganizmanın hücre içi yaşam süresinin uzamasına ve konakçı tarafında gerçekleşen fagositoza karşı kendini koruyabilmesine olanak sağlamaktadır (Aybay ve ark., 1997). Slime maddesi üretimi anti-biyotiklere karşı direnç oluşturmakla beraber tedavi başarısızlıklarına sebep olmakta ve enfeksiyonun ilerleyip kronik bir hal alması en çok karşılaşılan durumlardan birisidir (Christensen ve ark., 1994).

2.8. Enzimler

Stafilokoklar birçok ekstraselüler substansların üretimi vasıtasıyla hastalık oluşturabilir. Toksinlerin birçoğu plazmidlerin genetik kontrolü altındadır. Stafilokok türleri ekzoprotein üretimi bakımından oldukça aktiftirler (Brook ve ark., 1991).

Stafilokoklar, konak hücre morfolojisini ve/veya fonksiyonunu etkileyen çok sayıda ekstraselüler toksin üretebilir. Bu toksinler sayesinde Stafilokoklar yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde üremelerini sürdürebilirler. Bunlardan en iyi tanımlananları, hemolizin ve lökositinlerdir (Cengiz, 1999).

2.8.1. Katalaz

Bazı bakteriler, hücresel detoksifikasyonu kolaylaştıran katalaz enzimini üretir. Katalaz hidrojen peroksitin bakterisidal etkilerini nötralize eder (Wheelis, 2008) ve bakterilerdeki konsantrasyonu patojenite ile ilişkilendirilmiştir (Mahon ve ark., 2011). Katalaz enzimi, hidrojen peroksitin bakterisidal etkilerini nötralize etmeye yarar (Wheelis, 2008). Katalaz, hidrojen peroksitin (H_2O_2) su ve oksijene ($2H_2O_2 + Katalaz \rightarrow 2H_2O + O_2$) parçalanmasını hızlandırır. Bu reaksiyon, kabarcıkların hızlı oluşumu ile belirgindir (Clarke ve Cowan, 1952; MacFaddin, 2000).

2.8.2. Koagulaz

Koagulaz enzimi, Stafilokoklar tarafından üretilen, bir çeşit pıhtılaşma proteinidir. Koagulaz tipleri bağlı koagulaz ve serbest koagulaz olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bağlı koagulaz, Stafilokokların hücre duvarından salgılanmaktadır ve fibrinojeni fibrine dönüştürebilmektedir. Serbest koagulaz, trombin benzeri faktör olan bir plazma globulin faktörü ile reaksiyona girerek Staphylothrombin oluşturmaktadır. Reaksiyon sonucunda fibrinojen fibrine dönüşür. Sonuç olarak bağlı koagulazda gerçekleşen reaksiyon sonucuna varılmaktadır (Zscheck ve Murray, 1993).

2.8.3. Lipaz

Diğer mikrobiyal lipazlar gibi Stafilokok lipazlarının da önemi bakteriyel lipid metabolizmasına katılmalarıdır ve virulens faktörde önemli rolleri vardır (Jaeger ve ark., 1999). Bilinen Stafilokok lipazların çoğu *S. epidermidis* gibi KNS tarafından üretilir. Lipaz enzimi doku içerisine invaze olmalarıyla yağı hidrolize edip dokularda karbonkül ve de frunkül gibi dermatit infeksiyonlarına neden olmaktadır (Cauwelier ve ark., 2004; Winn ve ark., 2006).

2.8.4. Slime faktör

Slime maddesi amorf yapıda glikokaliks materyalleri olup %40 karbonhidrat, %27 protein içermektedir. Kuvvetli antijenik yapıda olduğundan, tavşanlara enjekte edildiğinde çok yüksek titrede antikor cevabı elde edilir. Slime pozitif Stafilokok suşlarının daha virülens ve antibiyotiklere daha dirençli oldukları bildirilmektedir. Slime faktör hücresel immun yanıtı baskılar, opsonizasyonu, nötrofil kemotaksisini ve nötrofil fagositozunu inhibe eder (Cengiz, 1999; Winn ve ark., 2006).

2.8.5. Hiyaluronidaz

Hiyaluronidaz; yayılma faktörü olarak bilinir ve bakterilerin dokulara yerleşmesinde önemli bir faktördür. Bağ dokusunun aselüler matriksindeki asit mukopolisakkaridler olan hiyaluronik asidi hidrolize eden enzimlerdir (Tünger, 2005).

2.8.6. Deoksiribonükleaz

DNase enzimleri endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. Isıya dirençli bir enzimdir (Winn ve ark., 2006). Koagulaz negatif suşların %20'sinin de bu enzimi ürettiği bilinmektedir (Mackie ve Mccartney, 1989).

2.8.7. Beta-laktamaz (penisillinaz)

Stafilokoklar salgıladıkları beta-laktamaz enzimi ile penisilin grubu antibiyotikleri; beta-laktam halkasının hidroksil grubunu parçalayarak etkisizleştirir. Genetik taşıma plazmid ve transpozonlarla sağlanır (Bannerman, 2003; Peacock, 2005; Winn ve ark., 2006). Stafilokokal beta-laktamazlar tercihen penisilinleri hidrolize ederler. Çoğu indüklenebilir ve ekstraselüler olarak salınabilen enzimlerdir. Stafilokokal beta-laktamazlar genellikle küçük plazmidlerle veya transpozonlarla taşınmakla beraber, büyük plazmidlerin kodladığı beta-laktamazlar ve diğer direnç mekanizmaları da bulunmaktadır (Kuyucu, 2007).

2.9. Patogenez

Stafilokok infeksiyonlarının patogenezinde birçok ekstraselüler enzim ve toksinin rol oynadığı bilinmektedir (Novick, 2000). Besin zehirlenmelerine neden olan *S. aureus* enterotoksinlerinin yanı sıra çiğ sütlerden izole edilen KNS'lerin de enterotoksin oluşturdıkları gösterilmiştir (Bautista ve ark., 1988; Miedzobrodzki ve ark., 1989; Ordan ve ark., 1992; Valle ve ark., 1994; Vernozy ve ark., 1931). Koagulaz negatif Stafilokokların patojenite faktörleri arasında fibronektin, laminin, ve kollajene bağlanma özellikleri ile lipaz, esteraz, proteaz, üreaz, lizostafin, ve hemolizinler gibi birçok ekstraselüler enzim oluşturmaları sayılabilir (Lina ve ark., 2000).

Bu faktörler arasında glikokaliks yapısındaki slime üretimi de önemli yer tutmaktadır. Özellikle protez, şant ve katater gibi yabancı cisim kullanan hastalarda kolonizasyonun ilk adımı olan adheransı sağlayan slime maddesi, KNS'lerin ciddi infeksiyonlara yol açmasından sorumludur (Ishak, 1995). İlk kez Christensen ve ark., (1982) tarafından gösterilen slime faktör, çok kuvvetli antijenik özellik taşımakta, fagositozu inhibe etmekte ve ayrıca bakterinin antibiyotik direncinin artmasına neden olmaktadır (Anonim 1, 2009; Winn ve ark., 2006; RSHM, 2009; Zscheck ve Murray, 1993). Koagulaz negatif Stafilokoklarda slime pozitiflik oranlarının %18-83 arasında değiştiği ve en fazla slime oluşturan türlerin *S. saprophyticus*, *S. saccharolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans* ve *S. cohnii* olduğu bildirilmektedir (Aydınlı ve ark., 1997; Günadın ve ark., 1995; Christensen ve ark., 1982; Christensen ve ark., 1985;).

Stafilokokların patojenite ve virulensleri, ürettikleri çok sayıda ekstraselüler enzim ve toksine bağlıdır (Novick, 2000). Bugün için bir virülens faktörü olarak kabul edilen slime maddesi de, bakterinin yabancı cisim yüzeyine adheransını sağlamakla kalmayıp, bakteriyi çevreleyerek konağın immun mekanizmalarından ve antibiyotiklerin etkisinden korunmakta ve immun sistem üzerinde birçok etki oluşturmaktadır (Christensen ve ark., 1982; Hamilton-Miller, 1985). Yapılan çalışmalar daha ziyade, klinik örneklerden izole edilen KNS'ler ve bunların slime üretimi üzerine yoğunlaşmıştır (Akova ve ark., 1989; Christensen ve ark., 1983).

Deride oluşan herhangi travma ya da yaralanmaya bağlı olarak şekillenen infeksiyonda yangı reaksiyonu olarak ilk önce bölgeye nötrofiller gelmektedir. Bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan peptidoglikan tabakası, yangı reaksiyonuna karşı cevap oluşmasında önemli bir görevi üstlenmektedir. Bölgede oluşan infeksiyonda ilk olarak bakteri tarafında enzimler (DNase, lipase, koagulase ve urease) ve toksin (hyaluronidase ve hemolizin) salgılanır. Buna bağlı olarak doku ve kan hücrelerinde bir takım hasarlar meydana gelmektedir. Oluşan lezyonlara bağlı olarak infeksiyonun daha da şiddetlenmesine sebep olmaktadır (Aydın ve ark., 2006).

Koagulaz negatif Stafilokok olup non-patojenik ve non-invaziv *Staphylococcus epidermidis* gibi etkenler hemoliz oluşturmeyen türlerdir. Bu tür mikroorganizmalar iltihaplanmaya sebep olmakta ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde hastalık oluşturmaya sebep olmaktadır (Aydın ve ark., 2006).

Koagulaz negatif Stafilokoklara bağlı infeksiyon riski en çok olan hastalar, sıklıkla ameliyat, yabancı cisim yerleştirme veya immünosüpresyon nedeniyle konakçı savunma mekanizmalarında bozucu etkilere sahiptir. Genel olarak kolonizasyon ve adheransın koagulaz negatif Stafilokok infeksiyonu için bir ön şart olduğu düşünölmektedir (Ziebuhr ve ark., 2006).

Koagulaz negatif Stafilokoklara bağlı gelişen infeksiyonların seyri çoğu zaman *S. aureus*'tan farklıdır. Genel klinik tablo özgül değildir ve sinsi gelişir. İnfeksiyonun fulminan belirtileri pek gözlenmez ve durum subakut hatta kronik bir şekilde ilerler. Koagulaz negatif Stafilokoklara bağlı gelişen bakteriyemi eğer zamanında ve yeterli tedavi edilirse nadiren hayatı tehdit eder. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış ve nötropenik hastalarda daha ciddi klinik durumlara neden olabilirler (Kennedy ve ark., 2000).

Bunun dışında patojenik potansiyeli *S. aureus*'a benzeyen ve diğer KNS'lere oranla daha virulent olan *S. lugdunensis*'in etken olduğu klinik durumlarında da tedavi güçlükleri gözlenebilir (Greig, 2003).

2.10. Koagulaz negatif Stafilokokların neden olduğu infeksiyonlar

Enterik bakterilerin aksine *S. saprophyticus* ile oluşmuş idrar yolu infeksiyonları ilginç olarak mevsimsel özellik gösterir. Yaz sonu ve sonbahar başı gibi sıklığı artar. Bunun dışında diğer enterik bakterilere göre kültür ortamlarında koloni sayısı az olduğundan (<10⁵ CFU/ml) ya da üretilemediğinden akut üretral sendromun (disüri-piyuri sendromu, abakterik pyüri) bir etkeni olarak gösterilmektedir. *Staphylococcus saprophyticus*'un etken olduğu idrar yolu infeksiyonlarında relaps, hastaların %10'unda görölebilir (Archer, 2000).

Mastitis, sağmal hayvanlarda süt miktarının azalması ve bileşiminin değişmesi ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Gerek ölkemizde gerekse diğer ölkelerde süt sığırı yetiştiriciliğinde yol açtığı ekonomik kayıplarla önemli bir sorun olan mastitisler, polimikrobiyel etiyolojisi, lokal etki derecesi ile sağaltımı ve eradikasyonu güç, kompleks bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Arda ve ark., 1992).

Koagulaz negatif Stafilokoklar insan ve hayvanların normal florasında ve doğada kommensal olarak bulunabilen ve aynı zamanda hafif dereceli fırsatçı infeksiyonlar yapabilen bakteri türleridir. Bunların mastitis vakalarından izole edilmeleri her zaman mümkün olabilmektedir (Jonsson ve Wandstrom, 1993; Koneman ve ark., 1997).

Stafilokok türleri, toplumdan kazanılmış infeksiyonlarda da büyük öneme sahiptirler (Tenover ve Gaynes, 2000). Bunlar arasında ise besin zehirlenmeleri önemli bir yer tutmaktadır (Jablonski ve Bohach, 1997). Özellikle süt veren hayvanlarda mastitislerden sorumlu olan koagulaz pozitif ve koagulaz negatif Stafilokoklar, gerek bu hayvanların süt ve süt ürünlerinden gerekse bunları işleyen kişilerin florasından kaynaklanan kontaminasyonlar nedeniyle gastroenterit, endokardit, deri, cerrahi, yara, kemik ve eklem infeksiyonlarına neden olabilmektedirler (Jablonski ve Bohach, 1997; Shuttleworth ve ark., 1997).

Koagulaz negatif Stafilokoklarla kontamine besinlerin tüketilmesi, özellikle küçük çocuklarda, altta yatan hastalığı olanlarda ve immun sistem bozukluğu olan kişilerde fırsatçı infeksiyonlar için kaynak oluşturabilmektedir (Jay, 1986; Lina G ve ark., 2000).

Endojen ya da ekzojen kaynaklı, nozokomiyal ya da toplumdan kazanılmış infeksiyonlara yol açan patojen *S. aureus*'un yanısıra, diğer Stafilokok türleri de gittikçe artan sıklıkta infeksiyon nedeni olabilmektedirler (Tenover ve Gaynes, 2000).

Bunlar arasında insan derisi, saçlı deri, dış kulak ve üretra üyelerinden olan *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. auricularis* ve *S. ludunensis* ile toprak ve çevrede bulunan *S. caprae*, *S. intermedius* ve *S. kloosii* gibi türler yer almaktadır (Lina ve ark., 2000).

Staphylococcus epidermidis'in oluşturduğu fırsatçı ve hastane infeksiyonlarına daha sık rastlanmakla birlikte, son yıllarda adı daha az anılan türler de infeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Örneğin; Shuttleworth ve ark., (1997) ile Vandeneshe ve ark., (1995) *S. caprae*'nin neden olduğu kemik ve eklem infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonu, endokardit ve bakteriyemi vakaları bildirmektedirler.

Aynı şekilde *S. lugdunensis*'in predispozan faktör olsun ya da olmasın endokardit, deri ve cerrahi yara infeksiyonlarına yol açtığı ve *S. capitis* ile *S. simulans*'ın da endokardit oluşturduğu rapor edilmektedir (De Hondt ve ark., 1987; Jansen ve ark., 1992; Latorre ve ark., 1993; Vandenesch ve ark., 1995).

Genel olarak hayvanlardan izole edilen KNS türleri Tablo 3'de verilmiştir (Koneman ve ark., 1997).

Tablo 3: Hayvanlardan İzole Edilen Koagülaz Negatif Stafilokoklar

Türler	Konak / Kaynak
<i>S. arlettae</i>	Keçi / Nasal mukoza Kanatlı / Deri
<i>S. capitis</i>	İnek / Süt
<i>S. caprae</i>	Keçi / Deri
<i>S. caseolyticus</i>	Keçi / Süt, süt ürünleri
<i>S. chromogenes</i>	İnek / Süt ^a Domuz, Kanatlı / Deri
<i>S. cohnii</i>	İnek / Süt ^a
<i>S. epidermidis</i>	İnek / Süt ^a Köpek, At / Yara infeksiyonları
<i>S. equorum</i>	At / Deri
<i>S. felis</i>	Kedi / Dış kulak yolu iltihabı, deri infeksiyonları
<i>S. gallinarum</i>	Kanatlı / Deri infeksiyonları
<i>S. haemolyticus</i>	İnek / Süt ^a
<i>S. hominis</i>	İnek / Süt
<i>S. lentus</i>	Domuz, Koyun, Keçi / Deri infeksiyonları
<i>S. saprophyticus</i>	Kedi / Deri
<i>S. sciuri</i>	Kedi ve diğer hayvanlar / Deri infeksiyonları
<i>S. simulans</i>	İnek / Süt ^a Köpek, Kedi, Domuz / Deri infeksiyonları
<i>S. vitulinus</i>	Keçi, Koyun, Domuz / Deri
<i>S. warneri</i>	İnek / Süt ^a
<i>S. xylosus</i>	Keçi, Koyun / Süt ^a Kedi, Kanatlı, Domuz, At / Deri

a: subklinik ve klinik mastitis vakalarından izole edilmiş

2.11. Teşhis

2.11.1. Klinik teşhis

Stafilokokal infeksiyonlarda meydana gelen klinik tablo, diğer bakteriler tarafından oluşturulan klinik bulgularla benzerlik gösterebilmektedir. Bu nedenden dolayı kesin tanıya varmak ancak laboratuvar uygulamaları ile gerçekleştirilir (Aydın ve ark., 2006).

2.11.2. Laboratuvar muayenesi

Teşhis amacıyla numune olarak; dermatit vakalarında, özellikle etkilenen irinli bölgeden ve aynı şekilde şekillenmiş yara infeksiyonlarında svablar ve mastitis vakalarında süt örnekleri alınmalıdır. Numune alınırken numune alma kurallarına dikkat edilmelidir. Çevresel kaynaklı bulaşmalar engellenmeli ve alınan numuneler özel soğuk buz kaplarıyla birlikte +4 °C soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara gönderilmelidir (Brook ve ark., 1991).

2.11.2.1. Kültür

Laboratuvara ulaşan materyallerin, türe bakılmaksızın genel amaçlı besiyeri olarak %5 Koyun kanlı agara, McConkey agara ve Eosin Methylene Blue (EMB) agara ekimler yapılır (Brook ve ark., 1991). Stafilokokların laboratuvar tanısında koloni morfolojisi, Gram boyama, pigment üretimi, hemoliz, mannitol fermantasyonu, yüksek tuz konsantrasyonlu ortamda üreme gibi özellikler araştırılmalıdır (Bannerman, 2003; Peacock, 2005; Winn ve ark., 2006).

Tipik olarak KNS türleri pigmentsiz, pürüzsüz, parlak ve opak koloniler meydana getirirler. Slime faktörü yönünden güçlü olanlar mukoid tarzı koloniler meydana getirmektedir. Mikrobiyolojik ekim gerçekleştikten sonra etüvde 37 °C’de 24-48 saat boyunca aerobik olarak inkubasyona bırakılır. İnkube edildikten sonra KNS’ler kanlı agarda çapları 3-6 mm’ye varan koloni oluştururlar. Bazı suşları sarı-turuncu renkte pigmentli koloniler meydana getirebilmektedir. Bunlardan bazıları; *S. chromogenes*, *S. devriese*, *S. lugdunensis*, *S. sciuri*, *S. vitulinus*, *S. warneri* ve *S. xylosus* örnek verilebilir. Diğer KNS türleri de sarımsı renkte koloniler de meydana getirebilmektedir. Koloni etrafında hemoliz alanları gözlenebilir. Hemoliz açısından değerlendirilecek olunursa *S. haemolyticus* ve *S. lugdunensis* beta-hemoliz meydana getirebilmektedirler (Bannerman, 2003).

Besiyerinde ekim gerçekleştikten sonra oluşan koloniler makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilir. Ayrıca besiyerinde meydana getirdikleri hemoliz tipleri, MacConkey ve Eosin Methylen Blue agarda üreme özelliklerine bakılır. Biyokimyasal teslerden katalaz ve koagulaz testleri de yapılarak bakterileri cins ve tür düzeyinde tanımlanmaya çalışılmaktadır (Aydın ve ark., 2006; Brook ve ark., 1991).

Stafilokoklar, Streptokok türlerinden kolay ayrılabilir. Bu ayırmada katalaz testi belirleyicidir. Stafilokoklar katalaz reaksiyonu pozitif olan testlerdir. Streptokoklar ise katalaz negatif oldukları için en ayırt edici özelliklerden biridir. Ayrıca sadece katalaz testi değil, mikroskobik görünümeleri de farklıdır. Stafilokoklar daha çok düzensiz küme benzeri yada üzüm salkımı şeklinde görünümü varken, Streptokoklar zincir tarzında bir görünüme sahiptirler (Anonim 1, 2009; Bilgehan, 2000).

2.11.2.2. Biyokimyasal testler

2.11.2.2.1. Katalaz testi

Tüm *Micrococcaceae* ailesi üyelerinde sitokrom oksidaz enzimi bulunur. Bu enzimi üreten bakteriler hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijene ayırır. Bu test için içerisinde kan bulunmayan bir besiyerinde üretilmiş Stafilokok kolonileri kullanılmalıdır. Aksi taktirde kırmızı kan hücrelerinin içinde bulunan enzimler zayıf pozitif katalaz reaksiyonuna neden olabilir. Saf olan koloniden lama öze yardımı ile alınır. Üzerine hidrojen peroksit enziminden damlatılır. Öze ile karıştırılır. Lam üzerinde gaz kabarcıklarının oluşumu ise hidrojen peroksitin su ve oksijene ayrıldığını, testin pozitif olduğunu gösterir. Bu test *Micrococcaceae* ailesinin; katalaz testi negatif olan diğer Gram pozitif koklardan, özellikle Streptokok ve Enterokoklardan ayrılmasını sağlar (Bannerman, 2003; Winn ve ark., 2006).

2.11.2.2.2. Koagulaz testi

Koagulaz testi 2 şekilde yapılmaktadır. Bunlar; lamda koagulaz ve tüpde koagulaz olmak üzere ikiye ayrılır. Koagulaz testinde enzim olarak tavşan plazması kullanılmaktadır. Oluşan reaksiyon ise, ortamda koagulaz enzimi bulunuyor ise fibrinojen fibrine çevrilir (Brown, 2005; Winn ve ark., 2006).

Lam koagulaz testi; bağı koagulaz veya Clumping faktörün (CF) varlığı belirlenir. Bağı koagulaz hücreye bağı olup, kültür filtratlarına geçmez. Etkinliğinin ortaya çıkması için “coagulase reacting factor” (CRF)’a gereksinim yoktur.

Besiyerinden öze ile alınan Stafilokok kolonisi lam üzerinde bir damla distile su ile homojenize edilir ve üzerine bir damla plazma damlatılıp elde çevrilerek karıştırılır. Olumlu sonuçlarda gözle görülen kümeleşmeler oluşur. Eğer lam koagulaz testi negatif ise tüp koagulaz testi yapılmalıdır. Çünkü bağı koagulaza sahip olmayan suşlar genellikle serbest koagulaz üretirler (Bilgehan, 2002; Winn ve ark., 2006).

Tüp koagulaz testi; ise serbest koagulaz veya plazmaya bakteri tarafından salınan koagulazı saptar. Serum fizyolojik ile 1/5 oranında sulandırılmış tavşan plazması içinde Stafilokok kolonisi ezilip karıştırılır. Saat başı kontrol edilerek 35 °C’de dört saat pıhtının oluşması için bekletilir. Pıhtının oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilir (Bannerman, 2003; Winn ve ark., 2006).

Negatif olan testler oda sıcaklığında 18–24 saat bekletilmelidir. Çünkü bazı suşlar uzun inkübasyonlarda fibrinolizin üretebilirler. Bu da çözülmeye neden olur. Tüplerin oda sıcaklığında bekletilmesi bu etkinin ortadan kalkmasını sağlar (Bannerman, 2003; Winn ve ark., 2006).

2.11.2.2.3. Deoksiribonükleaz testi

Test öncelikle büyük miktarlarda hücre dışı DNase üreten patojenik Stafilokokları ayırt etmek için ek bir varsayım testi olarak kullanılır. DNase enzimi, DNA içeren ortamla reaksiyona girerek DNA’nın hidrolizi meydana gelir. Hidroliz ile serbest kalan oligonükleotidler asit içinde çözünür ve pozitif bir reaksiyonda, hidroklorik asit ilavesi eklendiğinde çevresinde berrak bir bölge ile sonuçlanır. DNA’nın hidroklorik asit tarafından çökeltilmesi nedeniyle, negatif bir reaksiyonda çözelti bulanıklaşır (Waller ve ark., 1985).

2.11.2.2.4. Slime testi

Bakteriler, ekzopolisakkarit yapıda bir bir tabaka oluşturarak bir biyofilm tabakası meydana getirmektedir. Ekzopolisakkaritler matriks yapıda olup, biyofilm oluşturarak, mikroorganizmaların koloni oluşturmalarına ve hücrelerde adhezyon oluşturmalarına olanak sağlar. Ayrıca konakçı tarafından gerçekleşen fagositozlara ve antibiyotiklere karşı da koyabilmektedir (Mıdık ve ark., 2011).

Christensen yöntemi (Kalitatif tüp testi); Stafilokoklar tarafında üretilen biyoölmi tespit etmek amacıyla, Christensen ve arkadaşları tüp adhezyon testini araştırmıştır. Tüp içinde bulunan 5ml’lik buyyon içerisine incelenek olan bakteri költüründen buyyon içine inokule edilir. Ardından 37 °C’de 48 saat etüvde inkübasyona bırakılır. Bakteri üremesi gerçekleştikten sonra tüpler boşaltılır. Boşaltılan tüplere 0,4’lük trypan blue ilave edilir, karıştırılır ve boya dökölür. Ardından tüpler ters çevrilerek kurutma kağıtları üzerine bekletilerek kurumaları sağlanır. Tüplerin etrafında oluşankövi rengin koyuluk ve kalınlaşmasına göre slime üretimi değerkendirilir. Değerkendirme +, ++ ve +++ olmak üzere 3 farklı şekilde yorumlanır. Renk oluşmaması ise negatif olarak değerkendirilmektedir (Christensen ve ark., 1982; Christensen ve ark., 1985).

Kongo kırmızılı agar yöntemi; KNS’lerin kongo kırmızılı agara tek koloni ekimleri yapılır. 35 °C’de 24 saat inkübasyonun sonunda siyah koloni oluşturan suşlar slime faktör pozitif, pembe koloni oluşturanlar ise slime faktör negatif olarak değerkendirilir (Aydınlı, 1997; Freeman ve ark., 1989; Kaleli ve Demir, 1999).

2.11.3. Vitek 2 otomatize sistem

Gram pozitif ve negatif bir çok bakterinin identifikasyon / antibiyotik duyarlılık sonuçlarının belirlenmesinde kullanılan otomatize bir sistemdir. Sistemde Gram pozitif ve negatif mikroorganizmaların identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık kartları farklıdır. Vitek 2 Gram pozitif identifikasyon kartı (GP) (BioMerieux) ile çoğu önemli Gram pozitif bakterinin otomatize identifikasyonu amaçlanmıştır. Gram pozitif kartı ile identifikasyon, biyokimyasal metotlara ve yeni geliştirilmiş substratlara dayanmaktadır. Sistemde karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktivite ve direnci ölçen 43 biyokimyasal test mevcuttur. İdentifikasyon sonuçları yaklaşık olarak 48 saat içinde verilmektedir (Vitek 2 Compact; Winn ve ark., 2006).

2.12. Antibiyotikler

Antibiyotikler, beşeri ve veteriner hekimlikte hem insan hem hayvan sağlığını güvence altına almak için kullanılmaktadır. Tıbbi tedavinin yanı sıra tarımsal üretimi geliştirmek için de kullanılmıştır. Bununla birlikte, antibiyotik kullanımının yaygınlaşmasıyla beraber, antibiyotiklere dirençli bakterilerin ortaya çıkması, daha güçlü ilaçlara ve daha pahalı tedaviye ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur. Dünya sağlık örgütünün yaptığı en son açıklamalarında, bakterilerin antibiyotiklere olan direncin gün geçtikçe artmasına bağlı olarak en büyük sorun haline geldiğini duyurmaktadır (Wang ve ark., 2012).

Bakteriyel direnç üzerine yapılan bazı çalışmalar, dağılımın ve etkileşimin çoğunlukla karmaşık ve çözilemeyen direnç mekanizmalarının olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, antibiyotik direncinin geliştirilmesinden sorumlu olan çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalar vardır. Direnç mekanizması genetik olarak doğal olanın evrimi veya mikroorganizmanın antibiyotiklere maruz kalmasının sonucu olabilir. Antibiyotik direncinin çoğu, mutasyon sonucu veya genetik materyalin mikroorganizmalar arasında transferiyle ortaya çıkmıştır (Davies, 2010).

Hayvanlarda meydana gelen dirençli bakteriler, insanları da etkileme potansiyeline sahiptir. Dirençli suşlar insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Çiftliklerde veya gıda hayvanı üretim tesislerinde çalışan kişilerin, dirençli bir bakteri suşu ile enfeksiyon riski daha da yüksektir (Sarmah ve ark., 2006).

Antibiyotiklere dirençli enfeksiyonlarda artış meydana gelmesiyle, insan ve hayvan sağlığını tehdit eden enfeksiyonlara karşı mücadeleyi zorlaştırmaktadır (Butler ve ark., 2006). Antibiyotiklerin etkinliğini korumak için, bu ilaçların hem insanlarda hem de hayvanlarda kullanımlarının incelenmesi kritik öneme sahiptir. Antibiyotiklere karşı artan direnç gelişimini durdurmak ve enfeksiyonlara karşı başa çıkmak için birçok yeni girişimler başlatılmıştır (Center for Disease Control, 2008).

2.12.1. Antibiyotikler hakkında bilgi

Antibiyotikler, bakteriyel hücrenin bölünmesini durdurarak (bakteriyostatik) veya öldürerek (bakterisidal) bakteriyel büyümeyi önleyen kimyasal ajanlardır. Antibiyotik ve antimikrobiyal terimleri sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılır ancak eş anlamlı değildir. Antibiyotikler mikrobik kökenli maddelerdir (penisilin gibi); antimikrobiyal ise mikropları yok eden sentetik bileşikler içeren herhangi bir maddeyi ifade eder (Guardabasse ve Courvalin, 2006).

Antibiyotikler insanlarda ve hayvanlarda hastalıkları tedavi etmek ve önlemek için kullanılır. Deri infeksiyonları ile birlikte akciğer, karın ve beyindeki ciddi infeksiyonlara kadar her türlü bakteriyel infeksiyonlarda antibiyotiklerin rolü büyük bir önem kazanmaktadır. Hem insan hem de hayvanların yaşamsal fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rolleri bulunmaktadır (Spellberg, 2011).

2.12.2. Antibiyotiklerin etki mekanizması

Direnç mekanizmalarını anlamak için, antimikrobiyal ajanların nasıl etki ettiğini anlamak önemlidir. En yaygın etki mekanizmalarından biri hücreyi hedeflemektir. Bu nedenle; antimikrobiyal ajanlar, seçici olarak konakçı fonksiyonları etkilemeyen mikrobiyal fonksiyonlar üzerinde etki eder. Bazı antibiyotik grupları bakterilerde gelişimi inhibe ederken, bazı gruplar ise bakterileri öldürerek etki ederler (Young, 2011).

İnfeksiyonların antibiyotiklerle tedavisi, yapılan antibiyograma uygun olarak seçilen antibiyotiklere ve kullanımına bağlı olarak gerçekleşir. Tedavi belirlenirken hastalığa neden olan etken ve onun antibiyogram sonucunda ortaya çıkan veriler de önem taşımaktadır. İlacın farmakolojik etkileri ve etki mekanizması ile ilgili bilgi olmaksızın sadece elde edilen in vitro verilere dayanılarak tedavi yapılırsa başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle antibiyotik seçiminde dikkat edilmesi gereken en önemli hususlardan olan ilacın etki mekanizması yani farmakodinamik etki ile ilacın vücuttaki hareketini yani farmakokinetik etkinin iyi bilinmesi gereklidir (Abdel ve Kearns, 2004).

Çoğu antibiyotik sınıfının antimikrobiyal potansiyeli, bakterilerin yapısına ya da metabolik işlemlerine yöneliktir. Antibiyotiklerin etki mekanizması aşağıdaki şekildedir:

- *Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu
- * Hücre zarı yapısının veya fonksiyonunun parçalanması
- * Nükleik asitlerin yapısının ve fonksiyonunun inhibisyonu
- * Protein sentezinin inhibisyonu
- * Metabolik işlemlerin bozulması

(Madigan ve Martinko, 2006; Talaro ve Chess, 2008; Wright, 2010)

Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu

Bakteri hücrelerinin çoğu murein olarak adlandırılan sert bir tabaka olan peptidoglikan tabakası ile kaplıdır. Bu yapı bakteriyi hem zorlu çevresel etkenlere karşı korur ayrıca hücre içi ozmotik basıncın dengesini sağlar (Josephine ve ark., 2004). Glikopeptit antibiyotik sınıfına (ör; vankomisin) ait çoğu antibiyotik, peptidoglikan tabakasının sentezini inhibe ederek bakteri üremesini engelleyebilir (Kahne ve ark., 2005).

Hücre zarı yapısının veya fonksiyonunun parçalanması

Bakterilerin hücre zarlarına zarar veren antibiyotikler, her bir mikrobiyal grupta hücre zarlarındaki lipit türlerine göre farklılık göstermektedir. Örneğin; Daptomisin kalsiyum bağımlı zarı depolarize eder ve bu makromoleküler sentezin durmasına ve bakteri hücresel zarın bozulmasına yol açar (Alborn ve ark., 1991). Polimiksinler, bakteri hücreesindeki lipopolisakkaritin lipit kısmına etkili bir şekilde bağlanarak bakteri hücre zarının parçalanmasına neden olur (Falagas ve ark., 2010).

Nükleik asitlerin yapısının ve fonksiyonunun inhibisyonu

Nükleik asitlerin sentezi ile sonuçlanan metabolik yollar çok önemlidir; nükleik asit sentezinin bozulması, hem de bakteriyel hücrelerin hayatta kalması için önemlidir. Antibiyotikler, replikasyonu bloke ederek veya transkripsiyonu durdurarak, çekirdek asit sentezine müdahale eder (Gale ve ark., 1981). Örneğin kinolon grubu antibiyotikler, helikaz enziminin işlevselliğini bozarak enzimin DNA'yı çözme işlevini yerine getirmesini engeller. Kinolonların bu antibiyotik etkisi nihayetinde duyarlı bakteriler arasında DNA replikasyon ve onarım işlemini keser (Chen ve ark., 1996).

Bakteriyel nükleik asit sentezini bu şekilde inhibe eden kinolonlar, memeli RNA polimerazı ile etkileşime girmez, bu onları Gram pozitif bakterilere ve bazı Gram negatif bakterilere spesifik olarak karşıt yapar (Chen ve ark., 1996).

Protein sentezinin inhibisyonu

Bakterileri de içeren canlılar, oluşturdukları ve sürekli olarak ürettikleri proteinlerin miktarı ve türü ile tanımlanır. Proteinler; yapısal rol, metabolik ve fizyolojik süreçlerden ve diğer rollerin yanı sıra olumsuz koşullara tepki vermekten sorumludur. Bununla birlikte; herhangi bir zamanda bir bakteri tarafından üretilen proteinlerin tipi ve miktarı, başka bir çok önemli biyomolekül - Deoksiribonükleik asit (DNA)'da bulunan bilgiye bağlıdır. DNA, bakteriyel bir hücrenin kendi içinde barındırdığı belirli bilgiler yoluyla ürettiği protein türünü belirler. Bu bilgiler ise genetik kodların oluşturduğu bir genetik havuzu olan RNA (Ribonükleik asit)'da bulunmaktadır. Bilgiler mesajcı mRNA vasıtasıyla iletilmektedir. Proteinlerin tüm canlı organizmaların metabolik ve yaşam süreçlerindeki önemi göz önüne alındığında, bir bakteri hücresindeki sentez sürecini bozan her ne olursa olsun, sonuçta hücreyi kapatamaz; büyümesini engeller hatta tamamen öldürür (Etebu, 2013).

Metabolik işlemlerin bozulması

Sülfonamidler ve trimetoprim gibi bazı antibiyotiklerin, bakterilerin hücresel metabolizması için gerekli olan bir substratı taklit ettiği gösterilmiştir. Bu aldatma, bakteriyel enzimlerin kendilerini normal substrattan ziyade antibiyotiğe tuttunmalarına neden olur. Özellikle sülfonamidler, bakteri hücrelerinde folik asidin sentezi için gerekli olan tetrahidrofolat gibi davranır (Talaro ve Chess, 2008).

2.12.3. Antibiyotiklerde direnç

Antibiyotik direnci; bir bakteri veya diğer mikroorganizmaların, daha önce kendilerine karşı etkili olduğu düşünülen antibiyotik dozları varlığında hayatta kalma ve çoğalma yetenekleridir (World Health Organization, 2011). Antibiyotiklere karşı direnç gösteren bakterilerin genetik kökenleri farklılık göstermektedir (Denyer ve ark., 2011).

Bazı bakteriler, antibiyotiklerin en düşük dozunda kullanımında bile çok hassas oldukları için antibiyotik kullanımı cevap verebilmektedir. Fakat bazı mikro-organizma grupları ise yüksek dozda antibiyotik kullanıldığı zaman kanda pik seviyeye ulaştıkları zaman etkilenmektedirler. Antibiyotik dozu yeterli pik seviyeye ulaşmaz ise bakterileri öldürecek bir konsantrasyon oluşmaz (Smith, 2005).

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal ajanın etkisi ile öldürücü ve üremeyi durdurucu etkisine karşı koyma yeteneğidir (Kayser, 1995). Stafilokoklar genelde antibiyotiklere duyarlı oldukları halde, çeşitli antibiyotiklere karşı zamanla direnç kazandıkları bildirilmektedir. Bu direnç çeşitli şekillerde görülür ve bu karakterini ekstrasözomal elementlerle diğerlerine aktarırlar (Basetti, 2000).

Bir antibiyotiğe direnç, infekte olan organizmanın doğal bir özelliği olabilir veya edinilebilir. Kazanılmış direnç, mutasyondan veya ekstra kromozomal genetik materyalin transferinden ve ardından tedavi sırasında dirençli organizmaların seçilmesinden kaynaklanabilmektedir (Courvalin, 2005). Genetik mutasyon sonucu organizmalar direnç kazanabilmektedir. Dirençli mutantlar, bir popülasyonda toplam antibakteriyel maddelerin kullanımına ve bu maddelere direnç sergileyen izolatların oranının artmasına neden olarak, antibiyotik etkisine karşısında güçlü bir hayatta kalma avantajına sahip olacaktır (Hegstad ve ark., 2010).

Bakteriyel infeksiyonlarda tek doz kullanıldığında bakteri duyarlı ise hemen yanıt alınabilmektedir. Ancak dirençlilik söz konusu ise yüksek doz kullanılsa bile yanıt alınamamaktadır (Rafaillidis ve ark., 2009). Antibiyotik kullanımı ampirik bir şekilde olup, laboratuvar testi yapılmadan antibiyotik kullanılmakta ve tedavi başarımlıklarına sebep olabilmektedir (Iwe, 2006).

2.12.4. Antibiyotiklerde direnç mekanizması

Antibiyotiklerin, mikroorganizmaların büyümesini ve çoğalmasını önleyebilmesini veya öldürebilmesini sağlayan birçok farklı yol bulunabilmektedir. Mikroorganizmaların zaman içinde antibiyotiklere maruz kalması sırasında sahip olduğu veya geliştirdiği birçok direnç mekanizması da vardır. Mikroorganizmalar, tek bir mekanizma ile birçok antibiyotik sınıfa dirençli olabilmektedir. Direnç bir bakteriden diğer bir bakteriye DNA parçaları olan ‘‘direnç plazmitleri’’ üreterek tek tek bakteriler arasında aktarım söz konusudur (Clewell, 2014).

Antibiyotik direnci iki tipte sınıflandırılabilir. Biri ‘‘Doğal Direnç’’ ve diğeri ise ‘‘Kazanılmış Direnç’’ olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal direnç de mikro-organizmalar doğal olarak ilaçlar için hedef bölgelere sahip değildir ve bu nedenle ilaç bunları etkilemez. Örnek olarak *Mycoplasma* spp. cinslerinin penisilinlere olan dirençliliği verilebilmektedir. Hücre duvarına etki eden penisilinin, hücre duvarı olmayan bakterilere etki edememesi sonucunda doğal direnç oluşmaktadır. Ayrıca, antibiyotiklerin etki edeceği bakteriyel hücreye girememesi sonucu da direnç oluşmakta ve böylece etkisi de sınırlı olmaktadır. Kazanılmış direnç de ise bakteriler daha önce duyarlı oldukları antibiyotiklere direnç kazanabilirler. Bu tip direnç bakteriyel genomdaki değişikliklerin sonucu oluşmaktadır (Sageman, 2015).

Antibiyotik inaktivasyonu: Bazı durumlarda bakteriler; antibiyotiklere direnç kazanabilir, ilacı etkin olmayan hale getiren veya antibiyotiklerin işlevselliğini azaltan bir enzim sentezlemektedir. En iyi örnek, penisilin gibi beta laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkalarını kırabilen beta laktamazlardır. Bu şekilde, beta-laktam halkasının kırılması antibiyotiğin peptidoglikan öncülerine bağlanmasını önler. Ancak; penisilin veya diğer benzer ilaçların, mikroorganizma beta laktamaz ürettiği sürece, hücre duvarının bütünlüğünü bozma olasılığı daha düşük olacaktır (Sageman, 2015).

Azaltılmış membran geçirgenliği: Antibiyotiklere müdahale etmenin başka bir yaygın yolu, ilacın hücreye girişinin önlenmesidir. Gram negatif bakteri bir dış hücre zarına sahiptir ve ilaçların, dış zarı kaplayan ve hücre içine veya dışına girip çıkmasına izin veren kanallar olan hücre gözeneklerinden geçmesi gerekir. Hücreye girmek veya hücre duvarı ile etkileşime geçmek için, ilaçların gözeneklerden geçebilmesi gerekir (Willey ve ark., 2013).

Bir gen mutasyonu, genellikle elektrik yükünü veya antibiyotiklerin hücreye girmesini zorlaştıracak fiziksel yapıyı değiştirerek gözeneklerin değişmesine neden olabilmektedir. Antibiyotik hala işlevsel olarak aktiftir, ancak hedef bölgesine ulaşamayacaktır. Bir mikroorganizma, bu şekilde bir kerede birden fazla ilaç sınıfına direnç geliştirebilir. Ancak bazı Gram negatif bakteriler, mutasyon meydana gelmeden önce bile gözeneklerden geçemeyecek kadar büyük olan vankomisin gibi büyük ilaçlara karşı dirençlidir (Galdiero ve ark., 2012).

Hedef Bölgenin Değiştirilmesi: Birçok antibiyotik, mikroorganizmanın bir hedef moleküler bileşenine bağlanarak etki eder. Bir mikroorganizmanın molekül yapısında meydana gelen değişiklik, antibiyotiğin hedefinde olan moleküle bağlanamayacağı için etkinliğini azalabilir. Örneğin tetrasiklinler, DNA'ya bağlanarak transfer RNA erişim bölgesini bloke eder. Buna karşılık erişim bölgesindeki ufak değişiklikler tetrasiklinlere karşı mikrobik dirençle sonuçlanabilmektedir (Denyer ve ark., 2011).

Antibiyotiklerin Taşınımı: Mikroorganizmaların antibiyotiklere dirençli hale gelebileceği bir başka mekanizma, bir akış pompası kullanmaktır. Bir akış pompası, antibiyotiği hücre dışına zorlayabilen, hedefine ulaşamayacağı veya temasta kalamayacağı biyolojik bir pompadır. Antimikrobiyal direncin bu yöntemi genellikle birden fazla antibiyotik sınıfına; özellikle makrolidlere, tetrasiklinlere ve florokinolonlara direnç oluşturabilir. Çünkü bu antibiyotikler, protein ve DNA biyosentezinin farklı yönlerini inhibe eder ve bu nedenle etkilerini sergilemek için hücre içi olması gerekmektedir (Willey ve ark., 2013).

2.12.5. Antibiyotik dirençlilik kontrolü

Sorumlu kullanım: Veteriner ve beşeri hekimlikte antibiyotiklerin nasıl kullanılacağı ile ilgili birçok prosedür bulunmaktadır (Phillips ve ark., 2004). Birçok ülkede veteriner hekimler ve hayvancılıkla uğraşanlar antibiyotik kullanımını geliştirdi. Kümes hayvanları, domuz, sığır ve koyunlar dahil olmak üzere çeşitli türlerde antibiyotikler kullanılmaktadır. Uluslararası OIE ve WHO gibi kuruluşlar da antibiyotik direnci içeren ilkeler veya uygulama kodları geliştirmişlerdir. Dünya Sağlık Örgütü, gıdaya yönelik hayvanlarda antimikrobiyal direncin korunmasına yönelik küresel ilkeler yayınlamıştır (World Health Organization, 2000).

Veteriner Hekimliğinde OIE antimikrobiyal ajanların sorumlu antibiyotik direnci ile ilgili beş belge yayınlamıştır. Diğer dört belge risk analizi metodolojisi, kullanım miktarlarının izlenmesi, sürveyans programları ve laboratuvar metodolojileri ile ilgilidir (Acar ve Rostel, 2001).

Antibiyotik kullanımı 3 şekilde önerilmektedir; birincisi hastalıkların oluşmasını önleyerek antibiyotiklerin terapötik kullanımına ihtiyaç duyulmaz. İkincisi, hayvanlarda bir hastalık meydana gelirse antibiyotik kullanımı dışında hastalığı hafifletmek veya önlemek amaçlı yöntemler düşünülmelidir. Son olarak ise bir hastalığı önlemek, kontrol altına almak ve tedavi etmek için antibiyotik gerekliyse önce insan ve veteriner hekimlik için daha az önemi olan antibiyotiklerin kullanımı göz önünde bulundurulmalıdır (World Health Organization, 2009).

Alternatif Uygulama: Veteriner veya diğer profesyoneller tarafından denetlenen sürü ve diğer sağlık yönetimi programları, hayvanların erken yaşlarında antibiyotik kullanımına ihtiyaç kalmadan bulaşıcı hastalık salgınlarını en aza indirmeye çalışır. Bunun nedeni daha sağlıklı hayvanlar yetiştirmek ve antibiyotik kullanmadan daha sağlıklı hayvanlar elde etmektir (Rosen, 2003).

Hayvanlarda Bulaşıcı Hastalıkların Önlenmesi: Antibiyotik ihtiyacını azaltmak için hastalık oluşumunun önüne geçilmesi gerekir. Hayvansal gıda üretiminde infeksiyonları en aza indirmek ve antibiyotik kullanım miktarlarını azaltmak için öncelik olarak hayvan sağlığı iyileştirilmelidir. Böylece antibiyotik kullanımı azaltılmış olur. Diğer bir yöntem ise çiftliklerdeki hijyen, biyogüvenlik ve sağlık yönetiminin iyileştirilmesi ve aşılardan yararlanılmasıyla hastalığın önlenmesidir. Ayrıca probiyotik ve prebiyotiklerde kullanılarak hastalıklar önenebilir (Anonymous, 2006).

2.12.6. Çoklu ilaca dirençlilik (MDR)

Multi Drug Resistance (MDR) ‘‘birden fazla antimikrobiyal ajana dirençli’’ anlamına gelir, ancak MDR için henüz standart bir tanım tanımlanmamıştır. Gram pozitif ve Gram negatif organizmalarda çoklu ilaç direnci modellerini karakterize etmek için birçok tanım kullanılmaktadır. Çeşitli yazarlar organizmaları MDR olarak karakterize etmek maksatıyla in vitro antibiyotik duyarlılık sonuçlarına dayanarak yorumlamaktadır (Cohen ve ark., 2008; Falagas ve ark., 2006; Kallen ve ark., 2010). Gram pozitif (Cohen ve ark., 2008, Pillar ve ark., 2008; Seas ve ark., 2006) ve Gram negatif (Falagas ve ark., 2006; Gould, 2008; Kallen ve ark., 2010) bakteriler için en sık kullanılan tanım ‘üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfa karşı dirençlidir’.

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Örneklerin toplanması

Yapılan bu tez çalışmasında, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde koagülaz negatif Stafilokokların tespiti amacı ile inek, koyun ve keçilerden klinik mastitis şikayeti olan hayvanlardan süt örneği toplandı. Hayvan sahiplerinden hayvanların geçmişe yönelik anemnez bilgileri alındı ve antibiyotik kullanılmamış hayvanlardan sütler toplandı. At ve köpeklerden ise hayvan sahiplerinden sağlıklı olduğuna dair gerekli anemnez bilgiler alındıktan sonra deri ve burun swabları alınmıştır.

Steril şartlarda alınan tüm örnekler soğuk zincir altında Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji teşhis laboratuvarına getirilmesi sağlanmıştır.

3.1.2. Besiyerleri ve antibiyotik diskleri

3.1.2.1. Besiyerleri

3.1.2.1.1. Kanlı agar (Biomerux 43041)

Bileşim;

%5 koyun kanı içeren agarlar ticari olarak Biomerieux firmasından hazır olarak kullanıldı.

3.1.2.1.2. MacConkey agar (Merck 1.05465)

Bileşim;

Peptone from casein.....	17,0g/l
Peptone from meat.....	3,0g/l
NaCl.....	5,0g/l
Lactose.....	10,0g/l
Bile salt mixture.....	1,5g/l
Neutral red.....	0,03g/l
Crystal violet.....	0,001g/l
Agar-agar.....	13,5g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 50,0g/l olacak şekilde steril su içerisinde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C'de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.3. Eosin methylen blue (EMB) agar (Merck 1.01347)

Bileşim;

Peptone.....	10,0g/l
K ₂ HPO.....	42,0g/l
Lactose.....	5,0g/l
Sucrose.....	5,0g/l
Eosin Y yellowish.....	0,4g/l
Methylene Blue.....	0,07g/l
Agar agar.....	13,5g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 36,0g/l konsantrasyonda olacak şekilde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.4. Mueller hinton agar (Merck 1.05437)

Bileşim;

Meat infusion.....	2,0g/l
Casein hydrolysate.....	17,5g/l
Starch.....	1,5g/l
Agar-agar.....	13,0g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 34,0g/l konsantrasyonda olacak şekilde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.5. Nutrient agar (Merck 1.05450)

Bileşim;

Peptone from meat.....	5,0g/l
Meat extract.....	3,0g/l
Agar-agar.....	12,0g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 20,0g/l konsantrasyonda olacak şekilde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.6. Tryptic soy broth (Merck 1.05459)

Bileşim;

Peptone from casein.....	17,0g/l
Peptone from soymeal.....	3,0g/l
D(+) Glucose.....	2,5g/l
NaCl.....	5,0g/l
K ₂ HPO ₄	2,5g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 30,0g/l konsantrasyonda olacak şekilde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.7. DNase test agar (Merck 1.10449)

Bileşim;

Tryptose.....	20,0g/l
NaCl.....	5,0g/l
Deoxyribonucleic acid.....	2,0g/l
Agar agar.....	15,0g/l
Distile su.....	1000ml

Toz halinde olan besiyeri 42,0g/l konsantrasyonda olacak şekilde Benmari kazanı içerisinde eritildi ve otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra steril petri kaplarına, steril bir ortamda dökümleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.8. Congo red agar (Oxoid, UK)

Congo red agar hazırlanması Freeman ve ark., (1989) tarafından kullanılan metod üzerine hazırlanmıştır. Congo Red boyası (Oxoid UK) 0.8g/800ml olacak şekilde Benmari banyosunda çözelti çözdürüldü. Ardından otoklavda 121 °C’de 1,1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Aynı bir çözelti olarak Brain Heart Infüzyon agar (LAB048-206057) 37g/800ml ve sucrose (Liofilchem-611801) 50g/800ml olacak şekilde çözeltiler hazırlanıp, aynı bir şekilde otoklavlandı. Aynı olarak hazırlanan Congo Red çözeltisi, 55 °C’ye ulaşan BHI (Brain Heart Infusion) agar ve sucrose süspansiyonu içerisine karıştırıldı. Steril bir ortamda petri kaplarına dökümleri gerçekleştirildi.

3.1.2.2. Antibiyotik Diskler

“Bioanalyse” adlı ticari marka antibiyotik diskler kullanıldı. Disk içerikleri aşağıda liste halinde verilmiştir;

Penicilin (P-10) Lot no: 150102C – 10 unit

Oxacilin (OX-1) Lot no: 150715F – 1µg

Sefoksitin (FOX -30) Lot no: 151127D – 30µg

Gentamisin (CN-30) Lot no: 151209I – 30µg

Enrofloksasin (ENR-5) Lot no: 160429L – 5µg

Trimetoprim/Sulfametaksazol (SXT-25) Lot no: 151028B – 25µg

Eritromisin (E-15) Lot no: 141128B – 15µg

Amoksisilin/Klavulanik asit (AMC-30) Lot no: 151207B – 30µg

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerin toplanması

İnek, koyun ve keçiden meme de kızarıklık, şişlik, ağrı ve süt yapısında meydana gelen bozukluk gibi şikayet gösteren hayvanlardan örnekler alındı. Herhangi bir antibiyotik kullanılmamış olan hayvanlardan numuneler toplandı. Her bir süt örneği aseptik koşullarda alınırken, meme başındaki saprofit bakterileri uzaklaştırmak amacı ile ilk birkaç ml süt ön sağım yapılarak ayrı bir kap içine alındı. Ardından sütler steril süt numune kaplarına uygun bir şekilde sağım yapıldı. Alınan sütler soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırıldıktan sonra -20 °C’de sütler donduruldu.

At ve köpeklerden ise hayvan sahiplerinden infeksiyon geçirmemiş, sağlıklı olduğuna dair anemnez bilgileri alınarak numuneler toplandı. Örnekler numune alma kurallarına uygun bir şekilde burun içi ve kasık bölgesinden alınan svaplar, soğuk zincir altında laboratuvara ulaştıktan sonra aynı gün mikrobiyolojik ekimleri gerçekleştirildi.

3.2.2. Staphylococcus spp. izolasyonu

Laboratuvara getirilen sütler -20 °C’den çıkarılarak çözdürülmek üzere dışarıya alındı. Ardından 4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra kanlı agar, MacConkey ve EMB agara ekimleri gerçekleştirildi.

Aynı şekilde at ve köpekten alınan svap numuneleri aynı gün laboratuvara ulaştırıldıktan sonra kanlı agar, MacConkey ve EMB agara ekimleri gerçekleştirildi.

Tüm numunelerin ekim işlemi gerçekleştirildikten sonra 37 °C’de 48 saat aerobik ortamda etüve inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında şekillenen koloniler ilk önce makroskobik olarak saf olup olmadığı incelendi. Saf olmayan kolonilere separe ekimleri gerçekleştirildi. Daha sonrasında ise kolonilere Gram boyama uygulandı. Gram pozitif kok olan suşlar biyokimyasal testler uygulanmak üzere değerlendirilmeye alındı.

3.2.2.1. Koagulaz negatif Stafilocların değerlendirilmesi

Elde edilen isolatlara biyokimyasal testlerden katalaz ve koagulaz testleri uygulandı. Koagulaz negatif Stafilocok olan suşlar cins ve tür bazında değerlendirilmek üzere Vitek 2 Compact cihazına prosedürlere uygun bir şekilde sisteme yüklendi.

Elde edilen sonuçlara bakılarak identifiye edilen KNS suşlarına virulens faktörlerinin varlığını tespit etmek üzere bazı testler uygulandı. Slime faktörün varlığını belirlemek amacıyla Freeman ve ark., (1989) tarafından geliştirilen Congo Red agar da slime testi uygulandı. Diğer bir patojenite faktörü olan DNase'ın varlığını ortaya koymak amacıyla Dnase agar da test edildi.

3.2.2.1.1. Katalaz testi (Biomerieux)

Stafilokok türlerini, Streptokoklardan ayırmak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit kullanıldı. Kanlı agardan alınan bir öze dolusu saf koloniden lam üzerine konuldu. Ardından %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak reaksiyon incelendi. Hava kabarcıklarının oluşumunda test pozitif olarak değerlendirilirken, kabarcıkların oluşmaması negatif olarak değerlendirildi. Test sonucunda katalaz pozitif olan Stafilokok şüpheli izolatlar değerlendirilmeye alındı.

3.2.2.1.2. Koagulaz testi (Bactident coagulase-Merck)

Koagulaz enzimini tespit etmek amacıyla yapılan bir testtir. Lamda ve tüpde koagulaz olmak üzere 2 şekilde değerlendirilmeye alınmıştır.

Lamda yapılan testte lam üzerine alınan bir öze dolusu koloni ile birlikte sulandırılmış tavşan plazmasından eklenerek iyice karıştırıldı. Üç ile dört dakika bekleme sonucunda kümeleşme meydana geliyorsa pozitif, eğer hiçbir reaksiyon vermiyorsa negatif olarak değerlendirildi. Çalışmada koagulaz negatif olan suşlar değerlendirilmeye alındı.

Tüpde yapılan testlerde tavşan plazması serum fizyolojik ile sulandırıldıktan sonra tüpler içerisine bir miktar öze alınarak homojenize edildi. Ardından etüvde inkubasyona bırakıldı. Yirmi dört saatlik inkubasyon sonucunda tüplerin dibinde pıhtı oluşturanlar pozitif, oluşturmayanlar ise negatif olarak değerlendirildi. Çalışmada negatif olan suşlar değerlendirilmeye alındı.

3.2.2.1.3. Vitek 2 Compact Sistem (BioMerieux, France)

İşlemler cihazın prosedür ilkelerine dayanarak uygulamalar yapıldı. Cihaza yüklenecek olan suşlar saf ve 24 saatlik taze kültürler kullanılmıştır. Mikrobiyolojik ekimler %5 koyun kanlı agara yapıldıktan sonra 24-48 saat 37 °C'de etüvde bekletildi. Oluşan koloniler makroskopik olarak incelendikten sonra Gram boyamaları gerçekleştirildi. Gram boyama sonucunda Gram pozitif kok bakteriler değerlendirilmeye alındı.

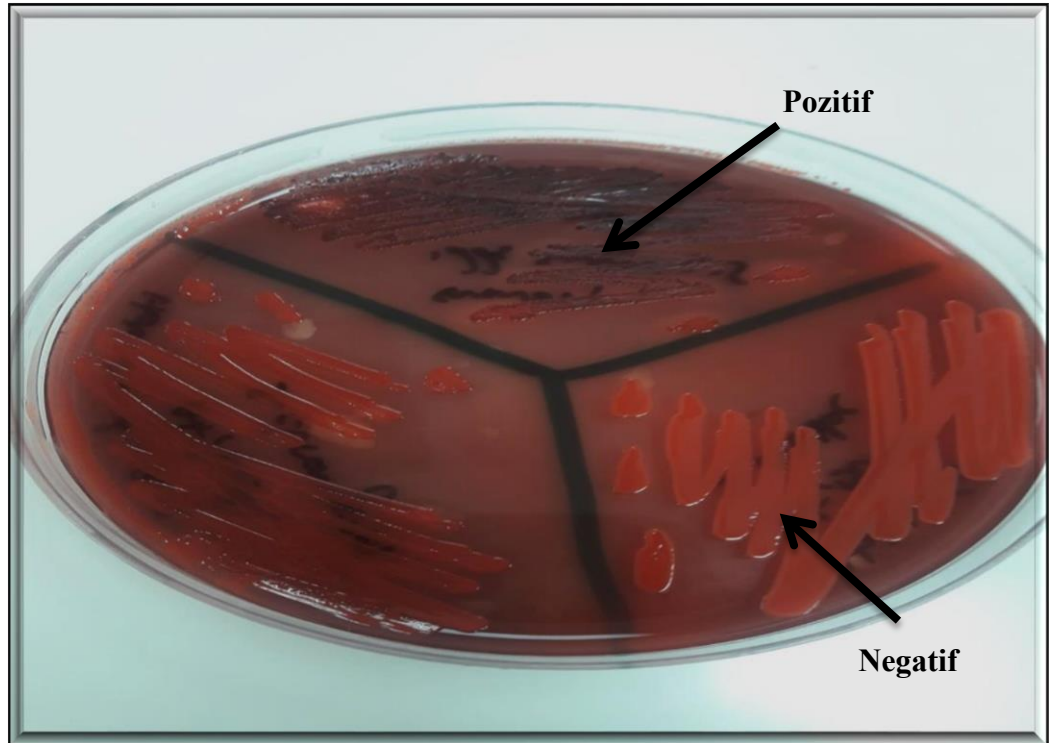
Değerlendirilmeye alınan bakterilere katalaz ve koagulaz gibi biyokimyasal testler uygulandı. Test sonucunda katalaz pozitif ve koagulaz negatif olan bakteriler cihaza yüklenmek üzere ayrıldı.

Bakteriyel süspansiyonlar, cihazın kendisine özel solusyonu olan %0,45 tuzlu su içinde homojenize edilerek 0,5 McFarland standart değerine getirildi. Ardından GP kartlar cihazın kasetlerine yerleştirilerek sisteme yüklendi.

3.2.2.1.4. Congo red agar

Freeman ve ark., (1989) tarafından geliştirilen sisteme bağlı kalarak Congo red agarlar hazırlandı. Vitek 2 compact cihazından elde ettiğimiz verilere bağlı kalarak cins ve tür bazında identifikasyonu gerçekleştirilen KNS türlerine, virulens faktör olan slime maddesinin varlığı araştırılmak üzere besiyerlerine ekimleri gerçekleştirildi. İnkubasyondan sonra koloniler değerlendirilmeye alındı. Merkezi siyah renkli olan koloniler slime pozitif olarak değerlendirilirken, pembe renkli koloniler negatif olarak değerlendirildi. Şekil 1’de slime testinin Congo Red agarda değerlendirilmesi gösterilmiştir.

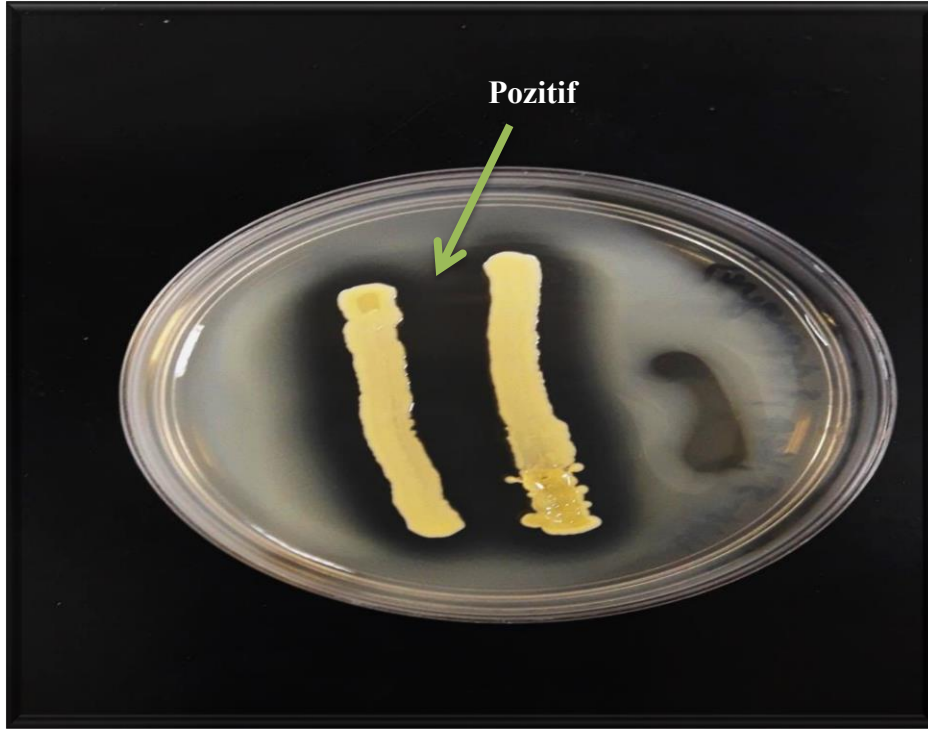
Şekil 1: Slime testinin Congo Red Agar’da Değerlendirilmesi



3.2.2.1.5. DNase test

Elde edilen KNS izolatlarına DNase enziminin varlığını ortaya koymak için koloniler hazırlanmış olan DNase agarlara çizgi şeklinde ekimleri gerçekleştirildi. İnkubasyon periyodu sonunda besiyerleri etüvden dışarıya çıkarıldı. Ardından kolonilerin üstünü kaplayacak şekilde üzerlerine 1 mol hidroklorik asit ilave edildi. Ekim hattı etrafında oluşan zon bölgeleri değerlendirilmeye alındı. Gözle görülen hemolizli zon alanlar DNase enziminin var olduğunu gösterirken, hiçbir şekilde zon oluşmamış olanlar negatif olarak değerlendirildi. Şekil 2’de Dnase testinin değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Şekil 2: Dnase testinin Dnase Agar’da Değerlendirilmesi



3.2.3. Antibiyogram

Elde edilen KNS suşları ilk önce Nutrient agara pasajları yapılarak koloniler canlandırıldı. Ardından Tryptic Soy broth'a koloniler süspanse edilerek 24 saatlik inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucunda sıvı besiyerinde üreyen bakteriler belirli bir yoğunluğa ulaşmaktadır. Bu yoğunluk 0,5 MacFarland değerine gelecek şekilde süspansiyonlar hazırlandı. Hazırlanan süspansiyonlar Müeller-Hinton agar içerisine 0,2 ml olacak şekilde süspanse edildi ve Drigalski spatülü ile besiyerinin etrafına yayıldı. Antibiyotik emdirilmiş diskler 2 cm aralıklı olacak şekilde yerleştirildi. Etüvde 24 saatlik inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucunda diskler etrafında oluşan zon alanları ölçülerek, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına göre duyarlılık bakımından değerlendirildi. Şekil 3'de antibiyogramın değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Şekil 3: Antibiyogramın Değerlendirilmesi



4. BULGULAR

Bu çalışmada Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde koagülaz negatif Stafilokokların varlığının araştırılması amacıyla klinik mastitis şüpheli 50'şer adet inek, koyun ve keçi'den toplamda 150 süt örneği toplanmıştır. Ayrıca 50'şer adet at ve köpekten KNS'lerin deri taşıyıcılığını belirlemek amacı ile burun ve kasık bölgesinden swablar alınmıştır. Toplam 350 örnekleme yapılarak Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Koagülaz negatif Stafilokok yönünden incelenmiştir. İzolatlar klasik bakteriyolojik yöntemlerle cins, Vitek 2 compact cihazı (Biomerieux) ile de tür bazında identifiye edilmiştir. Virülens faktörlerinin varlığı Congo Red Agar ve Dnase Agarda, ve Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir.

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

İncelenmek üzere 50 hayvandan alınan inek sütü örneğinden 12 adet (%24) KNS olarak izole edilmiştir. Bu 12 adet KNS'den 2 adet (%16,6) *S. simulans*, 2 adet (%16,6) *S. capitis*, 4 adet (%33,3) *S. chromogenes* ve 4 adet (%33,3) *S. epidermidis* olarak izole edilmiştir. İzole edilen KNS türleri ve oranları ayrıca Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4: İzole Edilen Koagülaz Negatif Stafilokok Türleri ve Oranları (İnek)

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole edilen Koagülaz Negatif Stafilokok türleri	İzolasyon Sayısı (Adet)	Yüzde Oranı (%)
İnek (50)	Süt	<i>S. chromogenes</i>	4	%33,3
		<i>S. epidermidis</i>	4	%33,3
		<i>S. simulans</i>	2	%16,6
		<i>S. capitis</i>	2	%16,6
Toplam	50		12	%24

İncelenmek üzere 50 hayvandan alınan koyun sütü örneğinden 6 adet (%12) KNS olarak izole edilmiştir. Bu 6 adet KNS'den 6'sıda (%100) *S. chromogenes* olarak izole edilmiştir. İzole edilen KNS türleri ve oranları ayrıca Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokok Türleri ve Oranları (Koyun)

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole edilen Koagulaz Negatif Stafilokok türleri	İzolasyon Sayısı (Adet)	Yüzde Oranı (%)
Koyun (50)	Süt	<i>S. chromogenes</i>	6	%100
Toplam	50		6	%12

İncelenmek üzere 50 hayvandan alınan keçi sütü örneğinden 8 adet (%16) KNS olarak izole edilmiştir. İzole edilen 8 suştan 2 adet (%25) *S. caprae*, 2 adet (%25) *S. epidermidis* ve 4 adet (%50) *S. chromogenes* olarak belirlenmiştir. İzole edilen KNS türleri ve oranları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokok Türleri ve Oranları (Keçi)

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole edilen Koagulaz Negatif Stafilokok türleri	İzolasyon Sayısı (Adet)	Yüzde Oranı (%)
Keçi (50)	Süt	<i>S. chromogenes</i>	4	%50
		<i>S. epidermidis</i>	2	%25
		<i>S. caprae</i>	2	%25
Toplam	50		8	%16

İncelenmek üzere 50 adet atdan burun ve kasık bölgesinden svap örnekleri alındı. Burundan alınan svap örneklerinden toplamda 10 adet (%20), kasık bölgesinden alınan svap örneklerinden ise 18 adet (%36) KNS izole edildi. Toplamda 100 adet olan svap örneklerinden 28 adet (%28) KNS olarak izole edilmiştir.

Burundan izole edilen 10 suştan 3 adet (%30) *S. sciuri*, 3 adet (%30) *S. xylosus* ve 4 adet (%40) *S. arlettae* olarak belirlenirken, kasık bölgesinden izole edilen 18 suştan 2 adet (%11,11) *S. arlettae*, 2 adet *S. xylosus* (%11,11), 3 adet (%16,66) *S. capitis*, 4 adet (%22,2) *S. haemolyticus* ve 7 adet (%38,8) *S. chromogenes* olarak belirlenmiştir. İzole edilen KNS türleri ve oranları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokok Türleri ve Oranları (At)

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole edilen Koagulaz Negatif Stafilokok Türleri	İzolasyon Sayısı (Adet)	Yüzde Oranı (%)
At (50)	Burun svabı	<i>S. arlettae</i>	4	(%40)
		<i>S. xylosus</i>	3	(%30)
		<i>S. sciuri</i>	3	(%30)
Toplam	50		10	(%20)
	Kasık svabı	<i>S. chromogenes</i>	7	(%38,8)
		<i>S. haemolyticus</i>	4	(%22,2)
		<i>S. capitis</i>	3	(%16,6)
		<i>S. arlettae</i>	2	(%11,1)
		<i>S. xylosus</i>	2	(%11,1)
Toplam	50		18	(%36)
Genel Toplam	100		28	%28

İncelenmek üzere 50 adet köpekten burun ve kasık bölgesinden svap örnekleri alındı. Burundan alınan svap örneklerinden toplamda 8 adet (%16), kasık bölgesinden alınan svap örneklerinden ise 15 adet (%30) KNS izole edildi. Toplamda 100 adet olan svap örneklerinden 23 adet (%23) KNS izole edilmiştir.

Burundan izole edilen 8 adet suştan 6 adet (%75) *S. sciuri*, 2 adet (%25) *S. xylosus* olarak belirlenirken, kasık bölgesinden izole edilen 15 suştan 1 adet (%6,66) *S. hominis* subsp. *hominis*, 1 adet (%6,66) *S. lentus*, 2 adet (%13,33) *S. epidermidis*, 2 adet (%13,33) *S. capitis*, 4 adet (%26,66) *S. xylosus* ve 5 adet (%33,33) *S. chromogenes* olarak belirlenmiştir. İzole edilen KNS türleri ve oranları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri ve Oranları (Köpek)

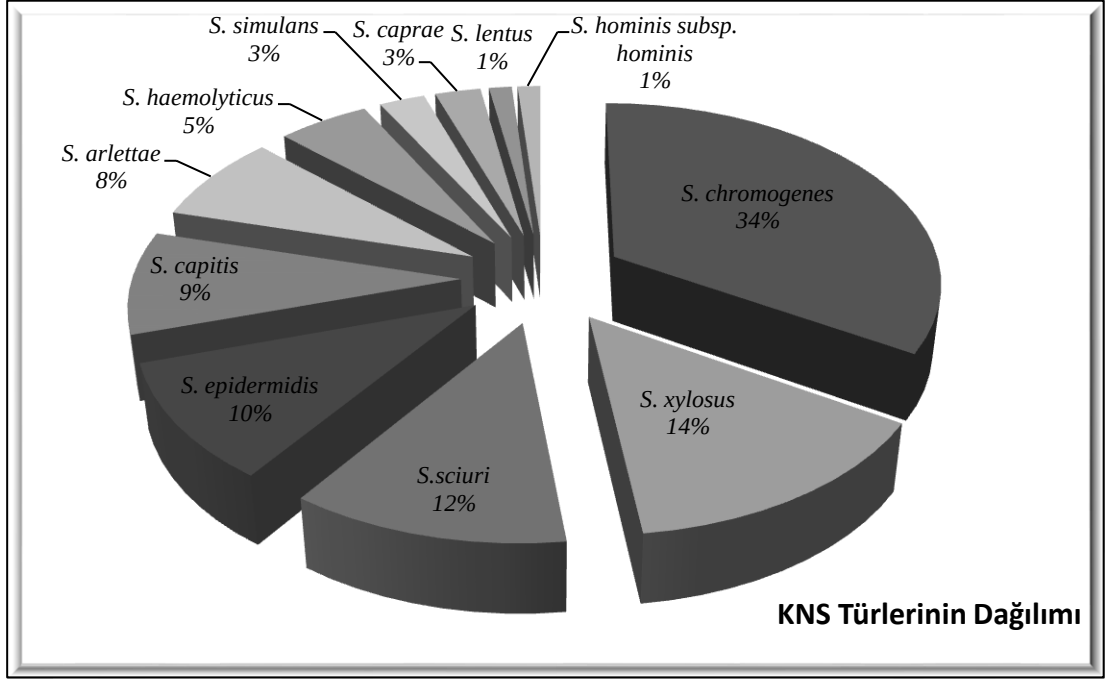
Hayvan Türü	Numune Türü	İzole edilen Koagulaz Negatif Stafilocok Türleri	İzolasyon Sayısı (Adet)	Yüzde Oranı (%)
Köpek (50)	Burun svabı	<i>S. sciuri</i>	6	%75
		<i>S. xylosus</i>	2	%25
		Toplam	8	%16
	Kasık svabı	<i>S. chromogenes</i>	5	%33,33
		<i>S. xylosus</i>	4	%26,66
		<i>S. epidermidis</i>	2	%13,33
		<i>S. capitis</i>	2	%13,33
		<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	1	%6,66
		<i>S. lentus</i>	1	%6,66
		Toplam	15	%30
Genel Toplam	100		23	%23

Tez çalışması sonunda 250 hayvandan numune toplandı. 250 hayvandan alınan toplam 350 numuneden 77 adet (%22) koagulaz negatif Stafilokok olarak izole edilmiştir. Bu 77 adet KNS izolatlarından tür dağılımına çokdan aza doğru sıralama yapılırsa 26 adet (%33,76) *S. chromogenes*, 11 adet (%14,28) *S. xylosus*, 9 adet (%11,68) *S. sciuri*, 8 adet (%10,39) *S. epidermidis*, 7 adet (%9,09) *S. capitis*, 6 adet (%7,79) *S. arlettae*, 4 adet (%5,19) *S. haemolyticus*, 2 adet (%2,59) *S. simulans*, 2 adet (%2,59) *S. caprae*, 1 adet (%1,29) *S. lentus* ve 1 adet (%1,29) *S. hominis* subsp. *hominis* olarak izole edilmiştir. Genel olarak bakteri türlerine göre dağılımları Tablo 9’da, Şekil 1 ve 2’de ise detaylı bir şekilde veri dağılımları gösterilmiştir.

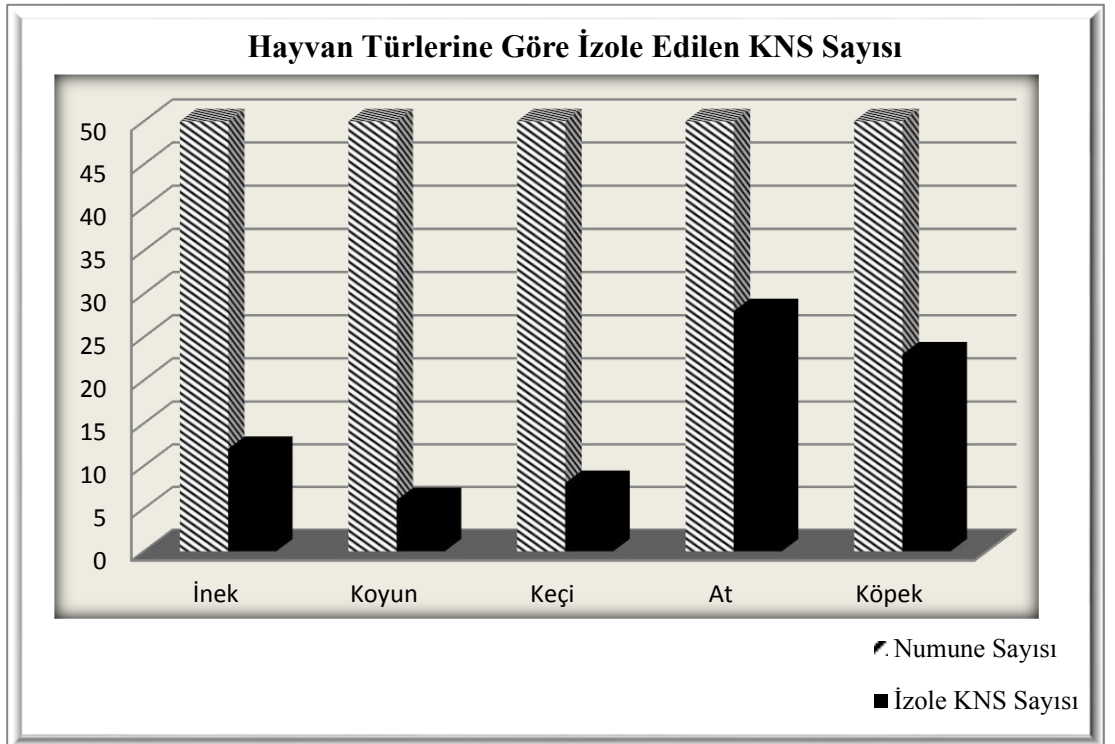
Tablo 9: Hayvan Türlerinden İzole Edilen KNS Türlerinin Dağılımı

Hayvan Türü		İnek (Süt) N=50		Koyun (Süt) N=50		Keçi (Süt) N=50		At (Svap) N=100		Köpek (Svap) N=100		Toplam N=350	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
İzole Edilen KNS Türleri	<i>S. chromogenes</i>	4	5,2	6	7,8	4	5,2	7	9,1	5	5,2	26	33,7
	<i>S. xylosus</i>	-	-	-	-	-	-	5	6,5	6	7,8	11	14,3
	<i>S. sciuri</i>	-	-	-	-	-	-	3	3,9	6	7,8	9	11,7
	<i>S. epidermidis</i>	4	5,2	-	-	2	2,6	-	-	2	2,6	8	10,4
	<i>S. capitis</i>	2	2,6	-	-	-	-	3	3,9	2	2,6	7	9,1
	<i>S. arlettae</i>	-	-	-	-	-	-	6	7,8	-	-	6	7,8
	<i>S. haemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	4	5,2	-	-	4	5,2
	<i>S. simulans</i>	2	2,6	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2,6
	<i>S. caprae</i>	-	-	-	-	2	2,6	-	-	-	-	2	2,6
	<i>S. lentus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3	1	1,3
	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3	1	1,3
Toplam KNS Sayısı		12	15,6	6	7,8	8	10,4	28	36,4	23	28,6	77	

Şekil 4: İzole Edilen KNS Türlerinin Dağılımı



Şekil 5: Hayvan Türlerine Göre İzole Edilen KNS Sayısı



4.2. DNase Testi Sonuçları

Saptanan KNS izolatlarına uygulanan DNase testi sonuçları genel olarak Tablo 10'da ve KNS türlerine göre dağılımı Şekil 3'de sunulmuştur.

İnek sütlerinden izole edilen 12 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 5 adet (%41,66) DNase pozitif bulunmuştur.

Koyun sütlerinden izole edilen 6 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 2 adet (%33,33) DNase pozitif bulunmuştur.

Keçi sütlerinden izole edilen 8 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 7 adet (%87,5) DNase pozitif bulunmuştur.

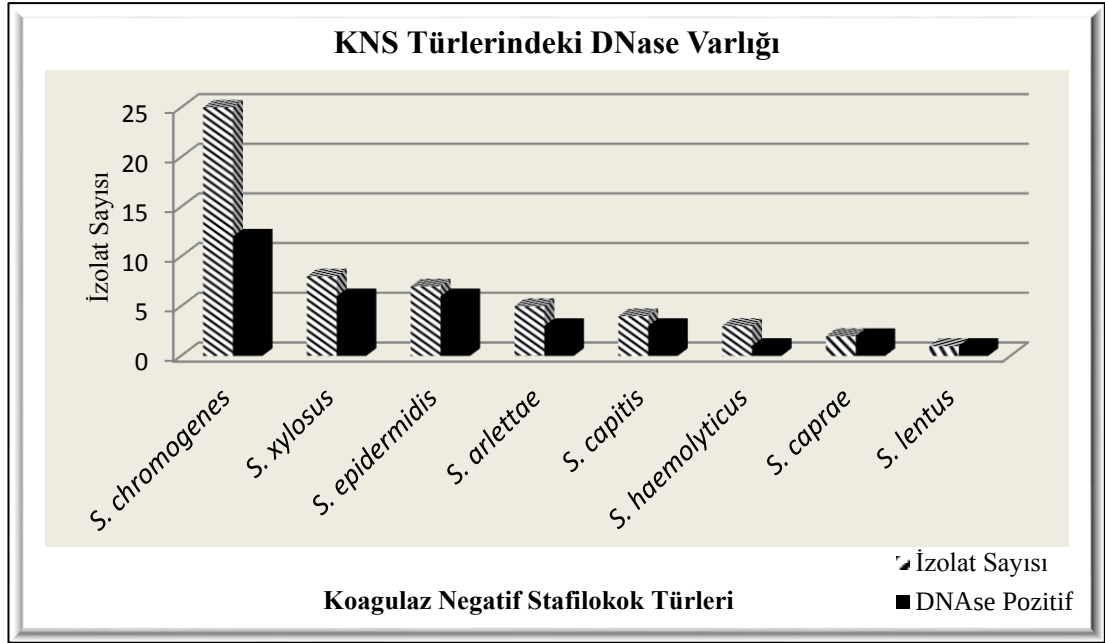
Atlardan toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar sonucunda elde edilen 28 adet KNS suşunda 6 adet (%21,43) DNase pozitif bulunmuştur.

Köpeklerden toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar sonucunda elde edilen 23 adet KNS suşunda 14 adet (%60,86) DNase pozitif bulunmuştur.

Tablo 10: İzole Edilen KNS'lere Uygulanan DNase Testi Sonuçları

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole Edilen KNS sayısı	DNase Pozitif Suş (Adet)	DNase Yüzde Oranı (%)
İnek	Süt	12	5	%41,66
Koyun	Süt	6	2	%33,33
Keçi	Süt	8	7	%87,5
At	Burun -Kasık bölgesi svap	28	6	%21,43
Köpek	Burun -Kasık bölgesi svap	23	14	%60,86
Toplam: 250 hayvan	350	77	34	%44,16

Şekil 6: KNS Türlerine Göre DNase Varlığının Dağılımı



4.3. Slime Test (Congo Red Agar) Sonuçları

Saptanan KNS izolatlarına uygulanan Slime testi sonuçları genel olarak Tablo 11’de ve grafikteki dağılımı Şekil 4’de sunulmuştur.

İnek sütlerinden izole edilen 12 adet KNS suşuna uygulanan test sonucunda 5 adedi (%41,66) pozitif bulunmuştur.

Koyun sütlerinden izole edilen 6 adet KNS suşuna uygulanan test sonucunda 2 adedi (%33,33) pozitif bulunmuştur.

Keçi sütlerinden izole edilen 8 adet KNS suşuna uygulanan test sonucunda 3 adedi (%37,5) pozitif bulunmuştur.

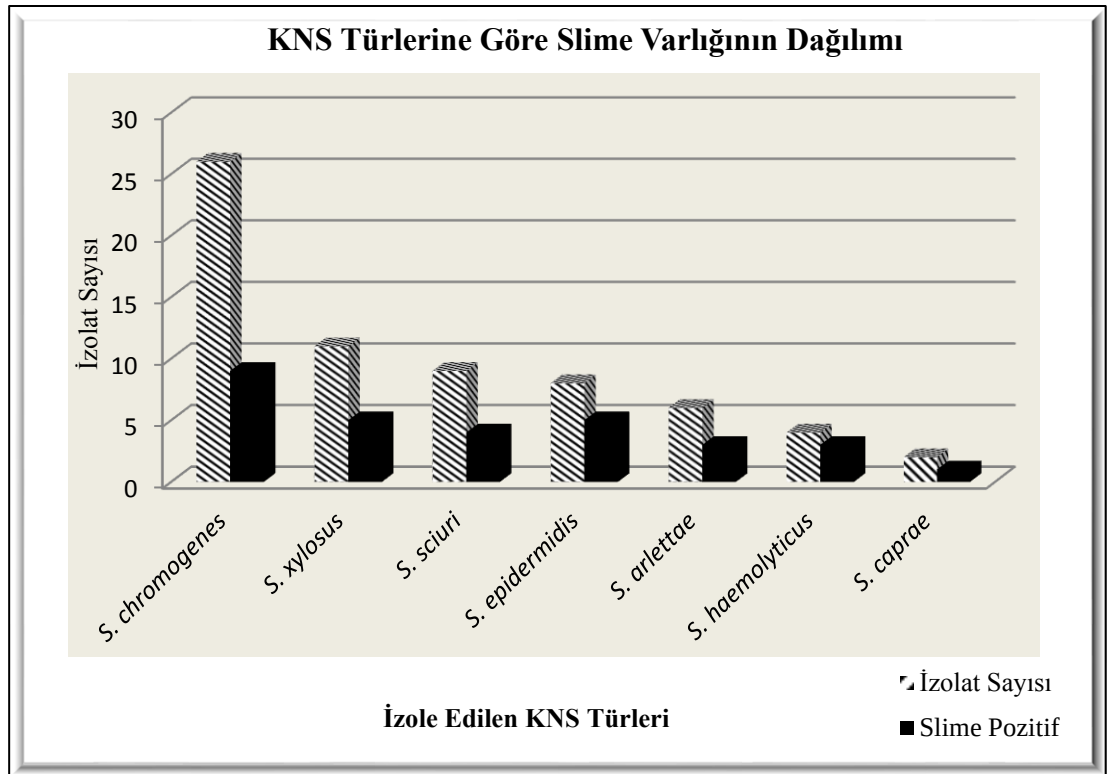
Atlardan toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar ile elde edilen 28 adet KNS suşuna uygulanan test sonucunda 8 adedi (%28,57) pozitif bulunmuştur.

Köpeklerden toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar ile elde edilen 23 adet KNS suşunda slime test sonucunda 9 adedi (%39,13) pozitif bulunmuştur.

Tablo 11: İzole Edilen KNS'lere Uygulanan Slime Testi Sonuçları

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole Edilen KNS sayısı	Slime Pozitif Suş (Adet)	Slime Yüzde Oranı (%)
İnek	Süt	12	5	%41,66
Koyun	Süt	6	2	%33,33
Keçi	Süt	8	3	%37,5
At	Burun -Kasık bölgesi svap	28	8	%28,57
Köpek	Burun -Kasık bölgesi svap	23	9	%39,13
Toplam: 250 hayvan	350	77	27	%35,06

Şekil 7: KNS Türlerine Göre Slime Varlığının Dağılımı



4.4. Antibiyogram Sonuçları

İzolasyon ve identifikasyonu gerçekleşen tüm KNS suşlarına Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle antibiyogram yapılmıştır. İzole edilen KNS'lerde MRKNS oranının saptanması Tablo 12'de verilmiştir. İzolatların genel olarak antibiyotiklere olan dirençliliklerin dağılımları Şekil 5, 6 ve 7'de veriler detaylı bir şekilde verilmeye çalışılmıştır

İnek sütlerinden izole edilen 12 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 7 adet (%58,33) metisiline dirençli KNS suşu olarak saptanmıştır.

Koyun sütlerinden izole edilen 6 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 4 adet (%66,66) metisiline dirençli KNS suşu olarak saptanmıştır.

Keçi sütlerinden izole edilen 8 adet KNS suşunda uygulanan test sonucunda 8'ide (%100) metisiline dirençli KNS suşu olarak saptanmıştır.

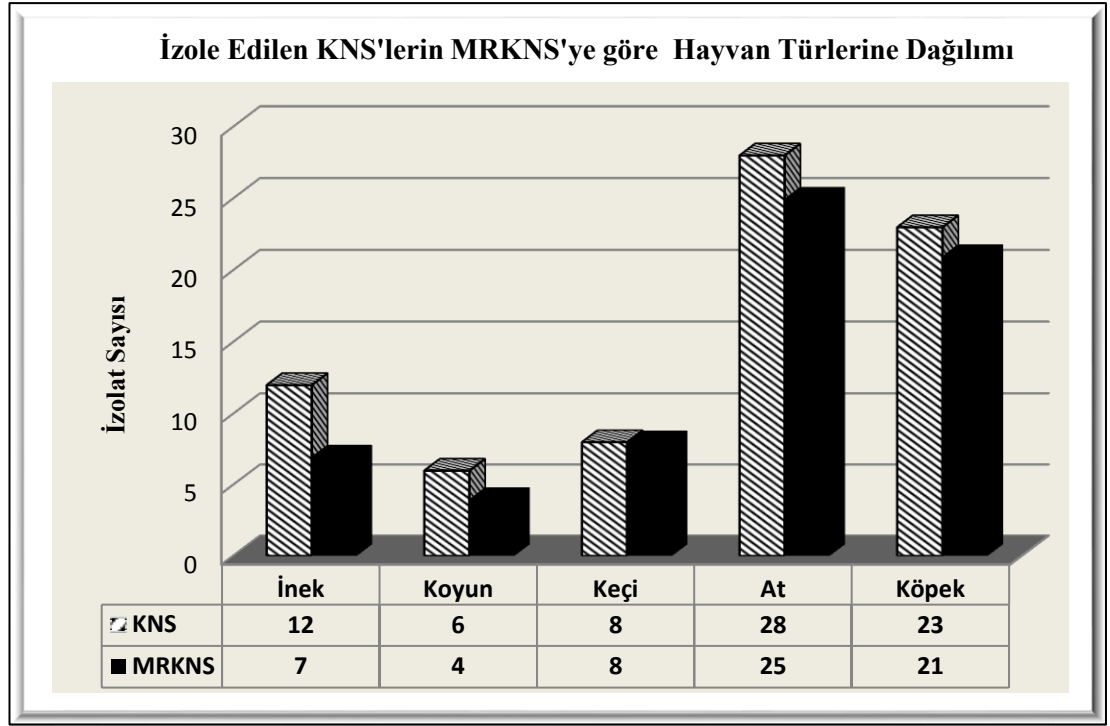
Atlardan toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar sonucunda elde edilen 28 adet KNS suşunda 25 adet (%89,28) metisiline dirençli KNS suşu olarak saptanmıştır.

Köpeklerden toplanan burun ve kasık bölgesinden alınan svaplar sonucunda elde edilen 23 adet KNS suşunda 21 adet (%91,30) metisiline dirençli KNS suşu olarak saptanmıştır.

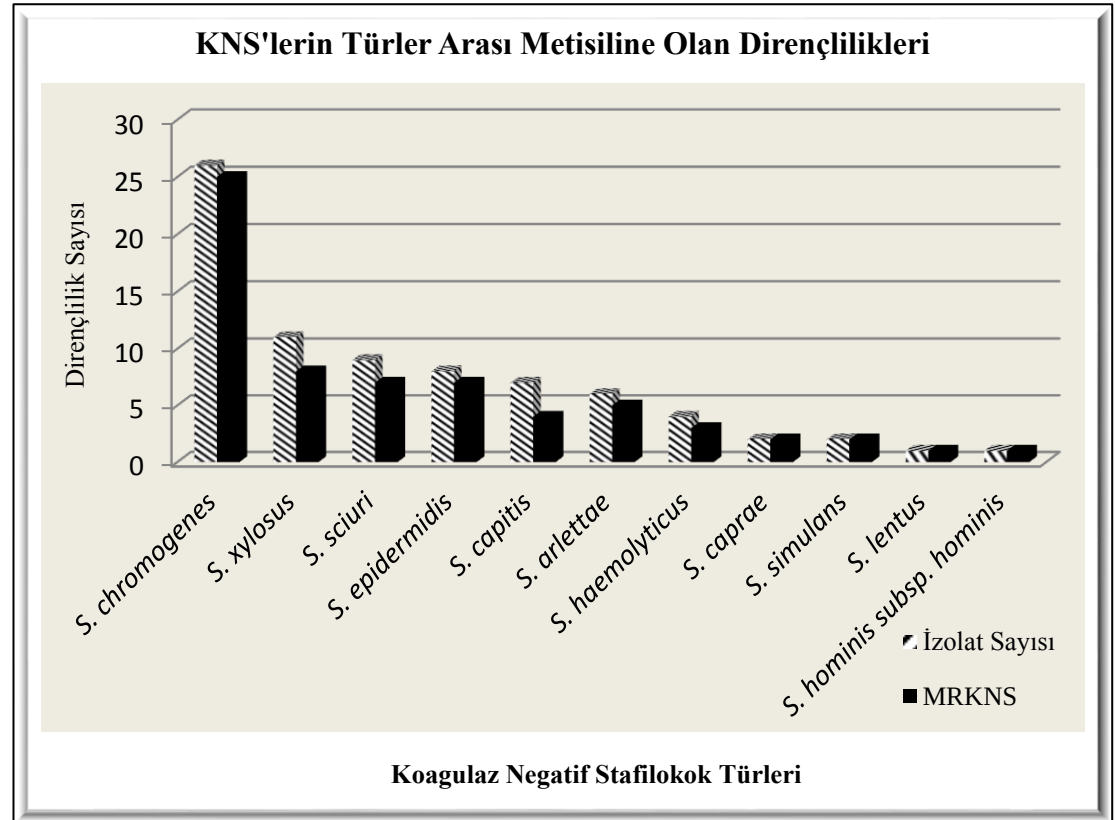
Tablo 12: İzole Edilen KNS'lerde MRKNS Oranının Saptanması

Hayvan Türü	Numune Türü	İzole Edilen KNS sayısı	Metisiline Dirençli KNS (MRKNS)	MRKNS Yüzde Oranı (%)
İnek	Süt	12	7	%58,33
Koyun	Süt	6	4	%66,66
Keçi	Süt	8	8	%100
At	Burun -Kasık bölgesi svap	28	25	%89,28
Köpek	Burun -Kasık bölgesi svap	23	21	%91,30
Toplam: 250 hayvan	350	77	65	%84,41

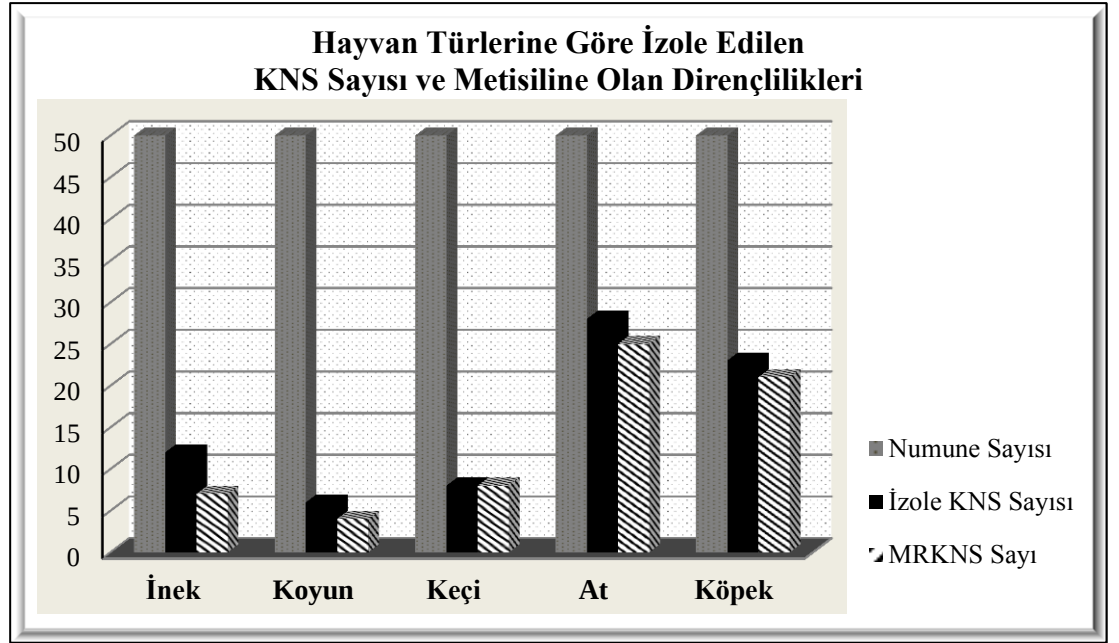
Şekil 8: MRKNS'nin Hayvan Türlerine Göre Dağılımı



Şekil 9: KNS'lerin Türler arası Metisiline Olan Dirençlilikleri



Şekil 10: Hayvan Türlerine Göre KNS Sayısı ve Metisiline Olan Dirençlilikleri



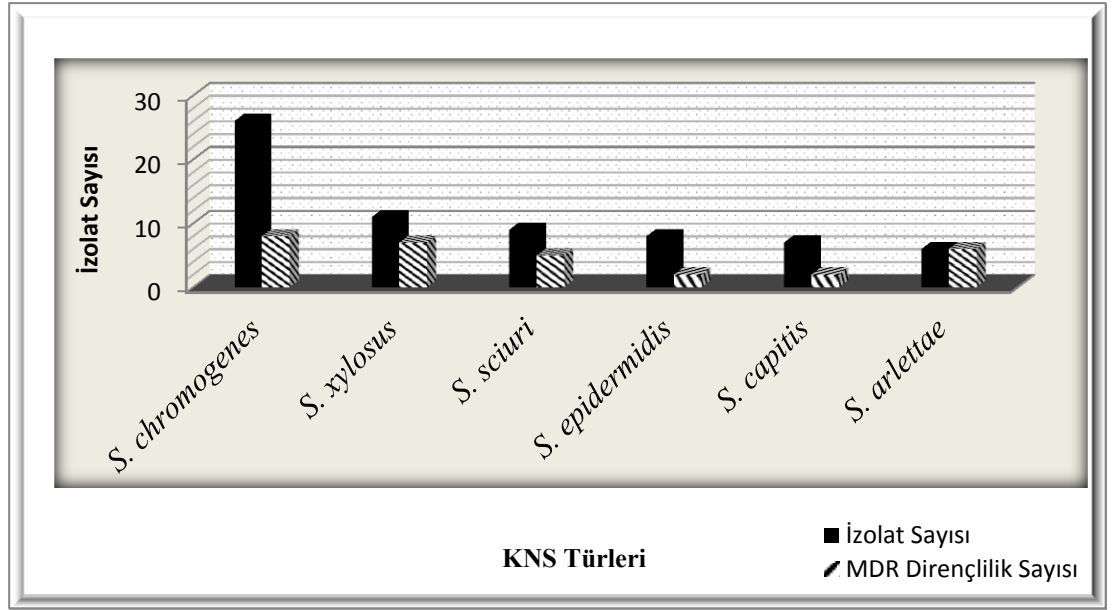
Tablo 13: KNS ve MRKNS İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antibiyotikler*	KNS		MRKNS	
	İzolat	Yüzde** (n/N)	İzolat	Yüzde** (n/N)
Amoksisilin/Klavulanik Asit	36	46,7 (36/77)	36	55,4 (36/65)
Trimetoprim/Sulfametaksazol	31	40,2 (31/77)	30	46,1 (30/65)
Penisilin	23	29,8 (23/77)	21	32,3 (21/65)
Eritromisin	10	12,9 (10/77)	8	12,3 (8/65)
Enrofloksasin	2	2,6 (2/77)	1	1,5 (1/65)
Gentamisin	-	-	-	-

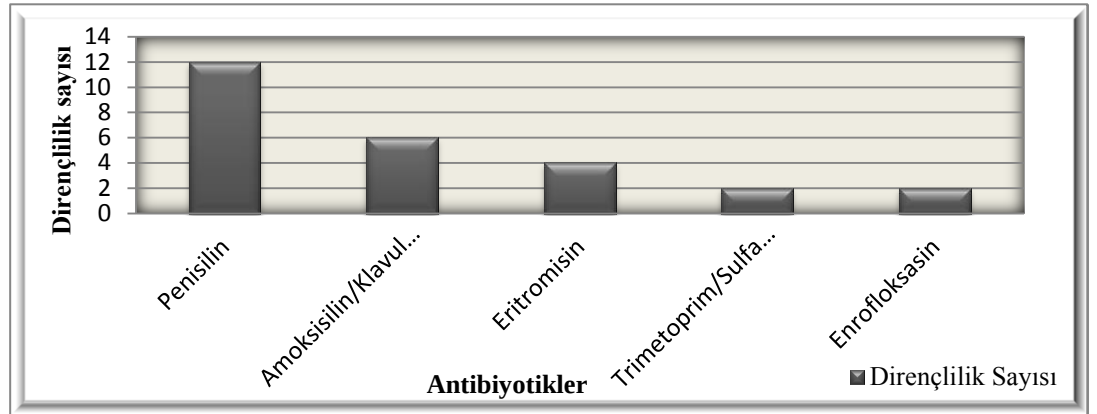
* Oksasilin ve Sefoksitin haricinde

** n: dirençli izolat sayısı, N: test edilen izolat sayısı

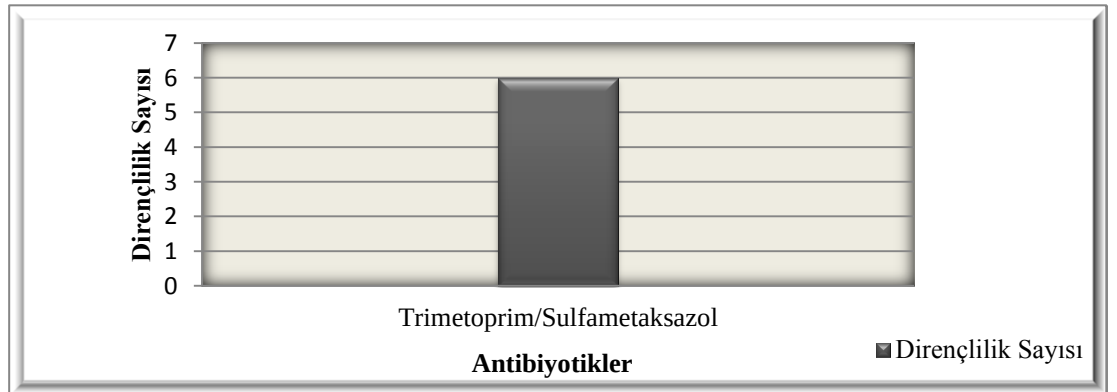
Şekil 11: Türler Arası Çoklu İlaça Dirençlilik (MDR)



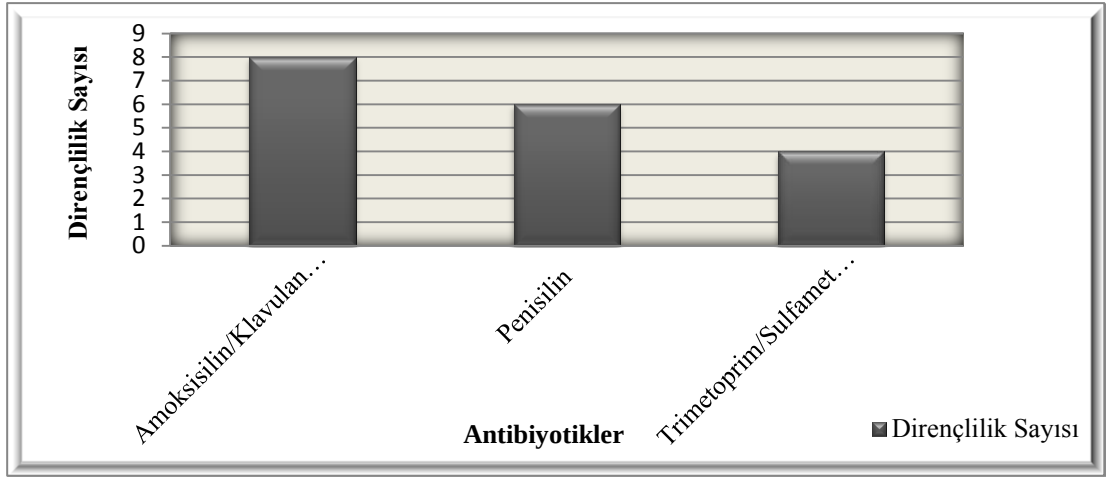
Şekil 12: İnek Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu



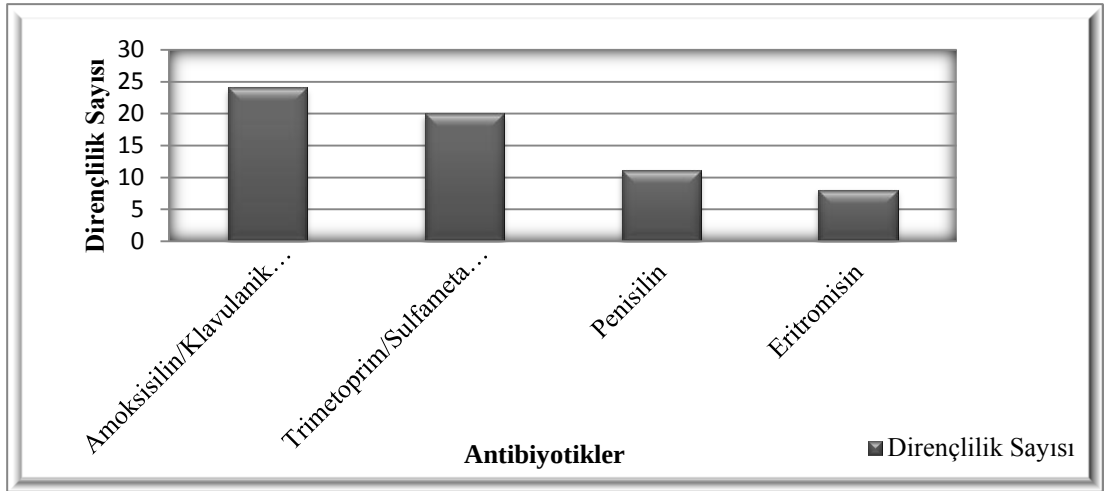
Şekil 13: Koyun Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu



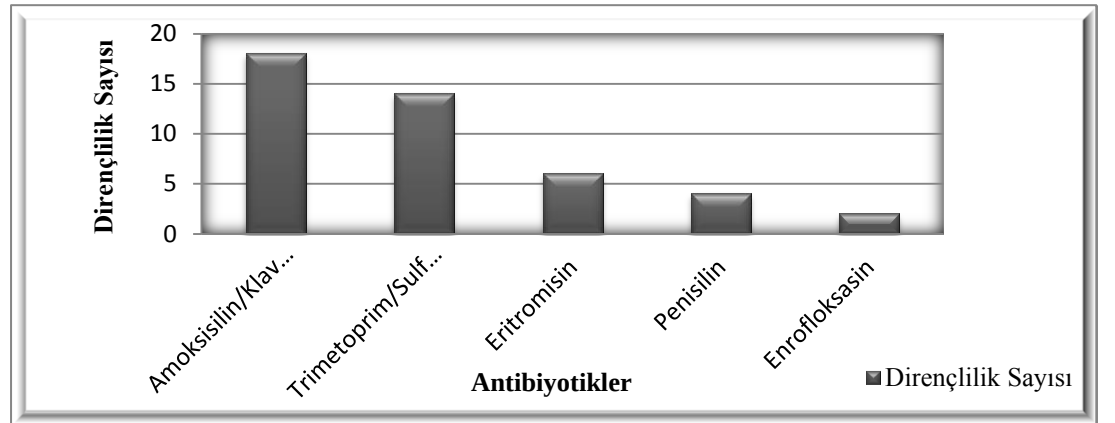
Şekil 14: Keçi Sütlerindeki İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Durumu



Şekil 15: Atlardan Alınan Svapların Antibiyotik Dirençlilik Durumu



Şekil 16: Köpeklerden Alınan Svapların Antibiyotik Dirençlilik Durumu



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Stafilokoklar, *Micrococcaecae* familyası içerisinde yer almaktadır (Archer, 1990). Klinik çalışmalarda önceleri saprofit ve değersiz kontaminantlar olarak kabul edilen koagulaz negatif Stafilokoklar, son 30 yıl içerisinde çok önemli infeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedirler (Patrick, 1990).

Koagulaz negatif Stafilokoklar, çoğu laboratuvarlar tarafından deri ve mukoza florasında en sık bulunan tür olan *S. epidermidis* olarak rapor edilmekteydi (Akan ve ark., 1992; Bal ve ark., 1983). Günümüzde Koagulaz negatif Stafilokokların patojenitesinin anlaşılması, çeşitli çalışmalarda *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri* gibi türlerin infeksiyon etkeni olarak bildirilmesi (Akan ve ark., 1992; Voss ve ark., 1994) türler arasında gözlenen farklı antibiyotik paternleri ve dirençli suşların artması Koagulaz negatif Stafilokokların tiplendirilmesinin epidemiyolojik ve klinik açılardan gerekliliğini ortaya koymaktadır (Auwera ve ark.,1990; Devriese ve ark., 1994; Kurt ve ark., 1992).

Günümüzde Koagulaz negatif Stafilokokların uzun süredir zararsız, kommensal veya kontaminant bakteriler olarak değerlendirilmelerine karşın insanlarda patojenik etkilerinin olduğu çeşitli infeksiyonlara sebep olduğu bildirilmektedir. Koagulaz negatif Stafilokokların aynı zamanda hayvanlarda da hastalık oluşturduğu, infekte inek ve keçi meme bezlerinden izole edilebildiği vurgulanmaktadır. Ayrıca mastitis vakalarında ikinci derece patojen olarak kabul edilmekle birlikte akut mastitise de sebep olmaktadır (Bedidi-Madani ve ark., 1998; Honkannen ve ark., 1994; Rampone ve ark., 1993).

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde KNS'lerin varlığı yönünde yapılan tek bir araştırma mevcuttur. Darbaz ve ark., (2018) tarafından yapılan bir çalışmada 138 adet çiftlikten süt tanklarından almış oldukları süt numunelerinden %22,7 oranında KNS izole etmiş ve bu izolasyon sadece cins bazında gerçekleşmiştir. Bulunan bu oranla birlikte çalışmamızın sonucunda bulunan değer arasında bir paralellik varken, çalışmamızı geliştirip tür bazında identifikasyonlar gerçekleştirildi, virülens ve antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda 250 hayvandan alınan toplam 350 numuneden 77 adet (%22) KNS izole edilmiştir. İzole edilen KNS türlerinin dağılımları çokdan aza doğru sıralama yapacak olursak 26 adedi (%33,76) *S. chromogenes*, 11 adedi (%14,28) *S. xylosum*, 9 adedi (%11,68) *S. sciuri*, 8 adedi (%10,39) *S. epidermidis*, 7 adedi (%9,09) *S. capitis*, 6 adedi (%7,79) *S. arlettae*, 4 adedi (%5,19) *S. haemolyticus*, 2 adedi (%2,59) *S. simulans*, 2 adedi (%2,59) *S. caprae*, 1 adedi (%1,29) *S. lentus* ve 1 adet (%1,29) *S. hominis* subsp. *hominis* olarak izole edilmiştir.

Boynukara ve ark., (2007) insan kaynaklı klinik örneklerden toplamda 65 adet KNS saptamışlardır. En yüksek %16,7 oranında *S. hominis* izole ederken, *S. chromogenes* izole etmemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 77 adet KNS izolatının %33,76'lık kısmını *S. chromogenes* oluştururken, en düşük %1,29 oranında *S. hominis* izole edilmiştir.

Klimienė ve ark., (2015) 267 sağlıklı atdan toplamış oldukları burun savabı örneklerinden %35 oranında KNS saptamışlardır. Bu izolatların en büyük payını %14,3 oranı olmak üzere *S. lentus* olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamıza bakıldığı zaman toplanan, burun svap örneklerinde *S. lentus* izole edilmemiştir. İzolatlarında %40'lık kısmına da *S. arlettae* oluşturmaktadır. Klimiene ve ark.'nın yaptığı çalışma bizim çalışmamızda bulunan oranla uyuşmamaktadır.

Chah ve ark., (2014) 109 sağlıklı köpeğin kasık bölgesinden topladıkları svap örneklerinden 16 adet (%14,7) MRKNS suşu saptamışlardır. Bu çalışmada ise köpeklerden alınan 50 svap örneğinden 14 adet (%28) MRKNS saptanmıştır.

Mastitis; sağmal hayvanlarda süt miktarının azalması ve bileşiminin değişmesi ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Gerek ülkemizde gerekse diğer ülkelerde süt sığırı yetiştiriciliğinde yol açtığı ekonomik kayıplarla önemli bir sorun olan mastitisler, sağaltımı ve eradikasyonu güç, kompleks bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Subklinik mastitis ise hayvanlar klinik olarak belirti göstermeksizin, yapılan California Mastitis Testi'nde (CMT) süt kaplarına alınan süt örneklerine uygulanan reagentlerin reaksiyona girerek, belli kıvamda meydana gelen jelatinimsi oluşuma bağlı olarak, sütün bileşenindeki total bakteri yoğunluğu olarak değerlendirilir (Arda ve ark., 1992). Bu çalışmamızda sadece klinik mastitis belirtisi gösteren hayvanlardan numuneler toplanmıştır.

Stafilokokal mastitisler konusunda yapılan yoğun araştırmalar son yıllarda KNS'lerin önemini epidemiyolojik olarak ortaya koymuş ve bu türlerin de çeşitli infeksiyonlara neden olduğunu ve süttten en fazla izole edilen mikroorganizmalar olduğunu göstermiştir (Gemmell, 1986). Brezilya'da süt örneklerinden ve çeşitli meme dokularından yapılan bir bakteriyolojik yoklamada, KNS suşlarının en fazla oranda izole edildiğı (%35,7) ve bunu KPS'lerin izlediğı (%12,2) bildirilmektedir (Benites ve ark., 2003).

Bu çalışmada 50 inek süttünden 12 adet (%24) KNS izole edilmiştir. Yapılan bir araştırmada Erganiş ve ark., (1995) inek sütlerinden izole ettikleri KNS izolasyon oranını %50,9 olarak bulmuştur. Bu farklılık coğrafik bölgeler arasındaki ve identifikasyonda kullanılan yöntem farklılıklarından kaynaklanabilir.

Özdemir, (2005) yaptığı bir mastitis çalışmasında 448 süt örneğinden 103'ü (%38,5) KNS olarak ve en fazla %46,6 oranında *S. epidermidis* suşunu izole etmişlerdir. Bizim çalışmamıza göre izole edilen KNS izolatından daha yüksektir. Ancak *S. chromogenes* hiç izole edilmemiş iken, kendi çalışmamızda ise en fazla izole edilen tür olarak saptanmıştır.

Polonya'da Malinowski ve ark., (1992) ineklerde klinik mastitis olgular üzerinde yapmış oldukları çalışmada, *S. epidermidis*'i %29,2 oranında izole ve identifiye edilmiştir. Bu çalışmamızda ise %33,33 oranında ilk sırada *S. chromogenes* ve *S. epidermidis* yer almaktadır.

Kırkan ve ark., (2005) Aydın bölgesinde yaptıkları araştırmada 300 adet mastitisli inek süt örneğinden 60 adet KNS izole etmişler ve bunun %15'lik kısmında *S. epidermidis* rol oynarken, çalışmamızda elde ettiğimiz *S. epidermidis* suşları Kırkan ve ark.'na göre daha fazla izole edilerek, %33,33 olarak en yüksek sırayı yer almaktadır.

Bedidi-Madani ve ark., (1998) Fransa'daki keçi sütlerinden 165 KNS izole etmişlerdir. İzolatlardan 91'i *S. caprae*, 36'sı *S. xylosus*, 11'i *S. simulans*, 10'u *S. warneri*, 4'ü *S. chromogenes*, 3'ü *S. capitis*, 3'ü *S. gallinarum*, 2'si *S. cohnii*, 1'i *S. epidermidis*, 1'i *S. hominis*, 1'i *S. lugdunensis* izole etmişlerdir. Bizim araştırmamıza göre kıyaslama yaparsak keçi sütlerinden izole edilen *S. chromogenes*'in bulunma sıklığından düşük olduğu tespit edilirken, *S. caprae*'nin ise sonuçlarımızdan yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Patojenite kriteri olarak adlandırılan virulens faktörleri mikroorganizmaların hastalık oluşturma yeteneklerini ortaya çıkarmaktadır. Son zamanlarda yapılan KNS türlerinde de benzer aktiviteler saptanmış olup, slime üretimi ve DNase dikkati çekmektedir (Honkannen ve ark., 1994).

İnsan ve hayvanlardan izole edilen *Staphylococcus*'lar in vivo veya in vitro olarak üretildiklerinde bulundukları ortama enzim karakterinde DNase olarak adlandırılan bir metabolit salgılar (Janda, 1986). Patojenik ve apatojenik Stafilocokların ayrımı için DNase testinden de yararlanılmaktadır (Gibbs ve ark., 1978).

Araştırmamızda 77 KNS izolatında yapılan DNase testinin sonuçlarına göre 77 KNS izolatının 34'ü (%44,16) DNase pozitif, 43'ü (%55,84) DNase negatif olarak saptanmıştır.

Bedidi-Madani ve ark., (1998) Fransa'da iki çiftlikten topladıkları keçi sütlerinden izole ettikleri 165 KNS'den 109'unu (%66) DNase pozitif olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda KNS'lerde saptanan DNase oranı %44,16 olması, Bedidi ve ark. tarafından yapılan çalışmadan daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Dolayısıyla gerek insan gerek hayvan kaynaklı KNS'ler ile kontamine süt ve süt ürünleri, besin endüstrisi açısından olduğu kadar toplum sağlığı açısından da problem teşkil etmektedirler. Bu oranlar; hayvanlardan, süt işleyicilerinin florasından ya da çevreden olan kontaminasyonların bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Ancak ne yazık ki sütçülükle uğraşan kişilerde Stafilocok kolonizasyon taraması yapılmıyor (Jay, 1986)

Slime maddesi bir ekzopolisakkarit yapıda olup bakterilerin bazı yüzeylerde kolonizasyonuna ve tedavisi güç infeksiyonlara sebep olmaktadır. Bazı KNS suşlarının, slime olarak tanımlanan bir ekzopolisakkariti sentezleyebildiği belirtilmektedir. Mikroorganizmayı konağın savunma sisteminden koruduğu için, slime üretimi önemli bir virülens faktörü olarak düşünülmekte ve %40 karbonhidrat, %27 protein yapısında olan slime faktörünün saptanması, KNS'lerin patojenitelerinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir. Slime faktör KNS'leri fagositozdan ve kemotaksisten korumakla birlikte nötrofil infiltrasyonu ve lenfosit aktivitesini azaltarak bakteriye virulens özellik kazandırmaktadır (Watts ve ark., 1990).

Çalışmamızda 77 KNS izolatında yapılan slime testinin sonuçlarına göre 77 KNS izolatanın 27'si (%35,06) slime pozitif, 50'si (%64,09) slime negatif olarak bulunmuştur.

Boynukara ve ark., (2007), izole etmiş oldukları 65 KNS'den %60 oranında slime pozitif suş saptarken, kendi çalışmamızda ise 77 KNS'den %35,06 oranında slime pozitif suş bulundu. Çalışmamıza göre Boynukara ve ark. tarafından yapılan çalışmada bulunan pozitiflik oranı, kendi çalışmamızdan daha yüksek oranda saptamışlardır.

Alagöz ve ark., (2006) ön blefariti olan hastalardan 21 KNS suşu saptamışlar ve bunlardan 15'inin (%71,4) slime pozitif olduğunu saptamışlardır.

Çelik ve ark., (2005) hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen 50 KNS suşunun %54'ünü slime pozitif bulmuşlardır.

Alagöz ve ark.'nın slime pozitiflik oranı ile Çelik ve ark.'nın yaptıkları slime testinin pozitif sonuçları bizim bulduğumuz değerden daha yüksektir.

Keskin ve ark., (2003) mastitisli ineklerin sütlerinden izole ettikleri 60 KNS suşunun %60'ını slime pozitif bulmuşlardır. Saptamış oldukları slime pozitif oranı, çalışma sonuçlarımızdan daha yüksektir.

Bedidi-Madini ve ark., (1998) yaptıkları çalışmada keçi sütlerinden izole 165 KNS suşunun 70'i (%42) slime pozitif olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda saptamış oldukları slime pozitiflik yüzdesi, çalışma sonuçlarımıza göre bulunan slime pozitiflik yüzdesine göre yüksek bulunmuştur.

Sea ve Kruze, (1995) slime faktör ile ilgili yaptıkları bir çalışmada mastitis izolatu olan 190 KNS'nin %10,5'inde slime üretimini belirlemişlerdir. Saptamış oldukları oran, çalışmamız sonucunda çıkan orandan daha düşük olduğu görülmektedir.

Koagulaz negatif Stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişimi meydana gelmesiyle birlikte tedavi güçlüklerine ve eradikasyon açısından problem oluşturmaktadır (Auwera ve ark., 1990; Kotilainen ve ark., 1990; Younger ve ark., 1987). Penisilinlerin kullanılmaya başlanıldığı yıllarda *S. epidermidis* suşlarının %80'i penisiline duyarlıyken, 1940'lardan sonra bu direnç giderek artmış, bugün için %85-90 oranlarına ulaşmıştır (Ludlam ve ark., 1989).

Ulusoy ve ark., (1995) yılında çeşitli klinik örneklerden izole ettiği Koagulaz negatif Stafilokok suşlarında penisilin direncini %79,9 olarak, Kurt ve ark., (1992) ise %64 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise penisilin direnci %29,8 olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada metisilin dirençliliği yüksek oranda %65 çıkmıştır. Virdis ve ark., (2010) tarafından yapılan çalışmada ise metisilin dirençlilik %41 oranında saptamışlardır. Çalışmalar karşılaştırıldığında çalışmamızdan elde edilen metisilin dirençli suşlar yüksek oranda bulunmuştur.

Chah ve ark., (2014) 109 sağlıklı köpeğin kasık bölgesinden topladıkları svap örneklerinden 16 adet (%14,7) MRKNS suşu saptamışlardır. Bu çalışmada ise köpeklerden alınan 50 svap örneğinden 14 adet (%28) MRKNS olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada sonuç olarak Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde Koagulaz negatif Stafilokokların mevcut durumu ve prevalansı ortaya konulmuştur. Daha önce sadece cins bazında bulunan çalışmaya ilaveten, bizim çalışmamızla tür bazında idendifikasyonlar gerçekleştirildi. Virülens faktörlerin varlığı saptandı. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiş oldu. Antibiyotiklere dirençli KNS, özellikle de MRKNS saptanmasının, sağaltım seçeneklerini azaltmasından dolayı hem veteriner hekimlik hem de veteriner halk sağlığı yönünden önemli olduğu ve bu etkenlerin daha dikkatli değerlendirilmeleri gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu veriler doğrultusunda, Koagulaz negatif Stafilokokların izolasyon ve identifikasyon metotlarının rutin teşhise yerleştirilmesi, metisilin dirençliliklerinin araştırılması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yaygınlaştırılmasının gerekliliği savunulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdel SM, Kearns LG. Determinants of anti-infective drug action and efficacy in pediatrics. In: Feigin, Chenry, Demmler, Kaplan, Saunders, eds. The Pharmacokinetic Pharmacodynamic Interface. Textbook of Pediatric Infectious Diseases . 5th ed. 2004; (2):2965-2983.
- Acar J, Rostel B. Antimicrobial resistance: an overview. Rev sci tech Off Int Epiz. 2001; 20(3):797-810.
- Akan E. *Staphylococcus*. Tıbbi mikrobiyoloji. 2. Baskı, Saray Yayınları; 1993, s:1-18.
- Akan ÖA, Özalp B, Şener M, Hayran M. Stafilocokların biyokimyasal tiplendirilmesi ve bilgisayar kullanımı. Mikrobiyol Bült. 1992; 26:103-107.
- Akova M, Gür D, Akalın E, Baykal M. Klinik önemi olan *Staphylococcus epidermidis* suşlarının saptanmasında slime testinin yeri. İnfeks Dergi. 1989; 3:321-326.
- Alagöz G, Karabay O, Serin D. Ön blefariti olan olgularda biyofilm üretme özelliği olan koagülaz negatif stafilocok görülme sıklığı. Türkiye Klinikleri J Ophthalmol. 2006; 15:77-79.
- Alborn W, Allen N, Preston D. Deptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 31(7):1093-1099.
- Anonim 1 *Staph*. <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/944101100.pdf>
- Anonymous. Direct fed microbial, enzyme and forage additive compendium. Miller Publishing Company. Alternatives to antibiotic use: probiotics for the gut. Anim Biotechnol. 2006; 13:97-112.
- Archer GL. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase negative staphylococci. In: Mandel GL, Douglas RG, Benett JE, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 3rd ed. Melbourne: Churchill Livingstone; 1990, p:1511-1517.
- Archer GL, Climo MW. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative Staphylococci. In: Gerald L, John E, Raphael D. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005, p:2352-2360.
- Arciola RC, Campoccia D, Montanaro L. Detection of biofilm-forming strains of *Staphylococcus epidermidis* and *S. aureus*. Expert Rev Mol Diagn. 2002; 2:478-484.

Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Akay Ö. Özel mikrobiyoloji, epidemiyoloji, bakteriyel ve mikotik enfeksiyonlar. Atatürk Üniv. Basımevi., Erzurum; 1992.

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

Aybay C, Çağlar K, İmir T. *Staphylococcus epidermis* kaynaklı slaym maddesinin makrofajlardan nitrik oksit salınımına etkisi. İnfeksi Derg. 1997; 11: 353–356.

Aydın N, İzgür M, Diker KS, Yardımcı H, Esenal Ö, Paracıkoğlu J, Akan M. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke-Emek Yayınları., ANKARA; 2006, p:5-13.

Aydınlı A, Durmaz G, Akgün Y. Koagülaz negatif stafilokoklarda slime faktör yapısının kongo kırmızı agar yöntemiyle araştırılması. Flora. 1997; 1:41-44.

Bal Ç, Altun B, ANĞ Ö. Üriner sistem enfeksiyonu ve kolonizasyonunda *Staphylococcus haemolyticus*. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1983; 23:159-164.

Bannerman TL. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology . 8th Ed. Washington: DC; 2003, p:384-404.

Bartoszewicz-Potyrala M, Przondo-Mordarska A. Traits of coagulase-negative staphylococci determine pathogenicity. Postępy Mikrobiologii. 2002; 41:351-366.

Basetti D, Basetti M, Montero E. Strategies for antibiotic aerection in emperial therapy. Clin Microbiol Infect. 2000; 6(3):98-100.

Bautista L, Gaya P, Medina M, Nunez M. A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. Appl Environ Microbiol. 1988; 54:566-569.

Becker K, Harmsen D, Mellmann A, et al. Development and evaluation of a quality controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. J Clin Microbiol 2004; 42:4988–4995.

Becker K, Von Eiff C. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, eds. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press. Washington: DC; 2011, p:308–310.

Bedidi-Madani N, Greenland T, Richard Y. Exoprotein and slime production by coagulase negative staphylococci isolated from goats milk. Vet Mic. 1998;59: 39-145.

Benites NR, Melville PA, Costa EO. Evaluation of the microbiological status of milk and various structures in mammary glands from naturally infected dairy cows. Trop Anim Health Prod. 2003; 35(4):301-307.

Bergdoll MS. Enterotoxins, Staphylococci and staphylococcal infections. Academic Press Inc. New York; 1983, p:559-598.

Beveridge TJ. Ultra structure of gram positive cell walls. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferreti JJ, Partnoy DA, Rood JI, eds. Gram positive pathogens. ASM Press. Washington: DC; 2000, p:3-10.

Bilgehan H. Gram Pozitif Koklar. Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Fakülteler Kitabevi., İzmir; 2000, s:239–268.

Bilgehan H. Gram pozitif koklar. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler kitabevi., İzmir; 2002, 31:496-523.

Billroth T. Untersuchungen über die Vegetationsformen von *Coccobacteria septica* und den Antheil, welchen sie an der Entstehung und Verbreitung der accidentellen Wundkrankheiten haben: Versuch einer wissenschaftlichen Kritik der verschiedenen Methoden antiseptischer Wundbehandlung. Berlin: Germany; 1874.

Bochniarz M, Wawron W. Haemolytic and proteolytic activity of coagulase negative staphylococci isolated from mastitis cows. Pol J Vet Sci. 2012; 15:61-65.

Bond R, Loeffler A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*?. Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. J Small Anim Pract. 2012; 53:147–154.

Boynukara B, Gulhan T, Gurturk K, Alisarli M, Ogun E. Evolution of slime production by coagulase-negative staphylococci and enterotoxigenic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various human clinical specimens. J Med Microbiol. 2007; 56(10):1296-3000.

Brook GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Medical Microbiology. Appleton&Lange Norwalk, Connecticut; 1991, p:186-192.

Brown Derek FJ. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 2005; 56:1000-1018.

Butler C, Hillier S, Roberts Z, Dustan F, Howard A, Palmer S. Antibiotic resistant infections in primary care symptomatic for longer and increased workload: outcomes for patients with E. Coli. Br J Gen Pract. 2006; 56:686-692.

Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004; 23(5):389-392.

Cengiz AS, Us E, Cengiz AT. The Clinical Importance of Slime Production. İnönü Üniv Tıp Fak Derg. 2006; 13:193–197.

Cengiz AT. *Staphylococcus*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabından. Ustaçelebi Ş. Güneş Kitabevi., Ankara; 1999, s:339-346.

Cengiz SA. Koagülaz Negatif Stafilokoklar. Cengiz AT, editör. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, TÜRKİYE; Ankara: 2004, s:351–360.

Center for Disease Control (CDC). National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). Human Isolates of Enteric Bacteria Final Report. 2008.

Chah FK, Gómez-Sanz E, Nwanta JA, Asadu B, Agbo IC, Lozano C, Zarazaga M, Torres C. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from healthy dogs in Nsukka, Nigeria. Braz J Microbiol. 2014; 45(1): pp.215-220.

Chen CR, Malik M, Snyder M, Drlica K. DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone induced DNA cleavage. J Mol Biol. 1996; 258:627-637.

Christensen GD, Baldassari L, Simpson WA. Colonization of Medical Devices by Coagulase Negative Staphylococci. Bisno A, Waldvogel FA, eds. Infections associated with indwelling Medical devices. 2nd ed. Washington DC: ASM Pres, USA; 1994, p:45–78.

Christensen GD, Parisi JT, Bisno AL, Simpson WA, Beochey EH. Characterization of clinically significant strains of coagulase negative staphylococci. J Clin Microbiol. 1983; 18:258-269.

Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime producing strains of Staphylococcus *epidermidis* to smooth surfaces. Infect Immun. 1982; 37:318-326.

Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey EH. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. J Clin Microbiol. 1985; 22:996-1006.

Clarke H, Cowan ST. Biochemical methods for bacteriology. J Gen Microbiol. 1952; 6:187–197.

Clewell DB. Antibiotic resistance plasmids in bacteria. In Wiley Online Library. 2014.

Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, et al. Recommendations for metrics for multidrug-resistant organisms in healthcare settings: SHEA/ HICPAC Position paper. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008; 29:901– 913.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms a common cause of persistent infections. Science. 1999; 284:1318-1322.

Courvalin P. Antimicrobial drug resistance: prediction is very difficult, especially about the future. Emerg Inf Dis. 2005; 11(10).

Çelik İ, Cihangiroğlu M, Sevim E, Çabalak M, Akbulut A. Sağlık çalışanlarının burunlarından izole edilen koagülaz pozitif ve negatif stafilokoklarda metisilin direnci ve slime pozitifliği. Fırat Tıp Dergisi. 2005; 10(3):123-126.

Darbaz İ, Baştan A, Salar S. Investigaion of udder health and milk quality parameters of dairy farms in Northern Cyprus. Part I: SCC and bacteriologic examination. Ankara Univ Vet Fak Derg. 2018; 65:145-154.

Davies J. Origin and evolution of Antibiotic Resistance. Microbiology and Mol Bio rev. 2010; 417-433.

De Hondt G, Leven M, Vandermerch C, Colaert J. Destructive endocarditis caused by *Staphylococcus lugdunensis*. Case report and review of the literature. Acta Clin Belg. 1987; 52:27-30.

Denyer SP, Hodges NA, Gorman SP, Gilmore BF. Hugo and Russell Pharmaceutical Microbiology. 8th ed. WileyBlackwell Publishing House. New Delhi: India; 2011, p:200-229.

Devriese LA, Laevens H, Haesebrouck F, Hommez J. A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. Research in Veterinary Science. 1994; 57(2):240-244.

Dornbusch K, Nord C, Olsson B, Wadstrom T. Some properties of coagulase negative deoxyribonuclease producing strains of staphylococci from human infections. Med Microbiol Immunol. 1976; 162:143-152.

Erganiş O, Kuyucuoğlu Y, Ok Ü. İnek ve koyun mastitislerine sebep olan koagülaz negatif ve pozitif stafilokokların biyotiplendirilmesi. Veterinarium. 1995; 6(1-2): 23-27.

Etebu E. Potential panacea to the complexities of polymerase chain reaction (PCR). Adv Life Sci Tech. 2013; 13:1-8.

Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol. 2006; 55:1619–1629.

Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. Drug Resist Update. 2010; 13:132-138.

Fluit AC, Visser MR, Schmitz FJ. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev. 2001; 14:836–871.

Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. J Clin Pathol. 1989;42:872-874.

Galdiero S, Falanga A, Cantisani M, Tarallo R, Pepa M, D'Oriano V, Galdiero M. Microbe host interactions: Structure and role of gram negative bacteria. In US National Library of Medicine. 2012.

Gale E, Cundliffe E, Reynolds PE, Richmond MH, Waring MJ. The molecular basis of antibiotic action. 2nd Ed. John Wiley and Sons. New York: 1981; p:670.

Garrity GM, Johnson KL, Bell J, Searles DB. Taxonomic outline of the procaryotes. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2004.

Gemmell CG. Coagulase-negative staphylococci. Med Microbiol. 1986; (22):285-295

Gentilini E, Denamiel G, Betancor A, Rebuelto M, Rodriguez FM, Torrest RA. Antimicrobial susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. J Dairy Sci. 2002; 85:1913-1917.

Gibbs PA, Paterson JT, Harvey J. Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *S. aureus* strains isolated from poultry. J App Bacteriol. 1978; 44:57-74.

Gould IM. The epidemiology of antibiotic resistance. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32(1):2–9.

Greig JM, Wood MJ. *Staphylococcus lugdunensis* vertebral osteomyelitis. Clin Microbiol Infect. 2003; 9(11):1139-1141.

Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol. 2011; 9:244–253.

Guardabasse L, Courvalin P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. Aarestrup FM. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin . Chap 1 ASM Press. Washington: DC; 2006.

Günadın M, Leblebicioğlu H, Saniç A, Pirinççiler M. Koagulaz negatif stafilokoklarda slime yapımı ve antibiyotik direnci ile ilişkisi. Mikrobiyol Bült. 1995; 29:26-31.

Hamilton-Miller JMT, Liffle A. Antimicrobial resistance in coagulase negative staphylococci. J Med Microbiol. 1985; 19:217.

Hancock C. Encapsulation of coagulase negative staphylococci. Zentralbl Bakteriol. 1989; 272(1):11-18.

Hegstad K, Mikalsen T, Coque TM, Werner G, Sundsfjord A. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Clin Microbiol Infect. 2010; 16(6):541-554.

Honkannen T, Myllys V, Pyörola S. Bovine clinical mastitis due to coagulase-negative staphylococci and their susceptibility to antimicrobials. J Vet Med B. 1994; 41:344-350.

Huxley JN, Greent MJ, Green LE, Bradley AJ. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. Journal of Dairy Science. 2002; 85:551–561.

Ishak MA, Gnöschel DM, Mandell GL, Wensler RP. Association of slime with pathogenicity of coagulase negative staphylococci causing nosocomial septicemia. J Clin Microbiol. 1995; 22:1025.

Iwe P. Textbook of Pharmacology. Afr Fir Pub Ltd. Onitsha; 2006, p:480-490.

Jablonski LM, Bohach GA. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle Mp, Beuchat LR, Montville TJ, eds. Food Microbiology. ASM Press. Washington DC; 1997, p:353-375.

Jaeger KE, Dijkstra BW, Reetz MT. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. Annu Rev Microbiol. 1999; 53:315-351.

Janda JM. Elastolytic activity among staphylococci. J Clin Microbiol. 1986; 24: 945-946.

Jansen B, Schumacher-Perdreau F, Peters G, Reinhold G, Schonemann J. Native valve endocarditis caused by *Staphylococcus simulans*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992; 11:268-269.

Jay JM. Staphylococcal gastroenteritis. In: Van Nostrand Reinhold. Modern Food Microbiology. 3rd ed. New York: 1986, p:437-458.

Jonsson P, Wandstrom T. *Staphylococcus*. In: Gyles CL. Pathogenesis of bacterial infections in animals. 2nd ed. Iowa State University Press.1993; 21-35.

Josephine HR, Kumar I and Pratt RF. The Perfect Pencillin Inhibition of a bacterial DD-peptidase by peptidoglycan-mimetic betalactams. J Am Chem Soc. 2004; 126:81222-81223.

Kahne D, Leimkuhler C, Lu W, Walsh C. Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. Chem Rev. 2005; 105(2):425-448.

Kaleli İ, Demir M. Koagülaz negatif stafilokoklarda slime faktör yapımının iki ayrı yöntem ile ve farklı atmosfer ortamlarında araştırılması. Türkiye Tıp Dergisi. 1999; 6:226-230.

Kallen AJ, Hidron AI, Patel J, Srinivasan A. Multidrug resistance among gram-negative pathogens that caused healthcare-associated infections reported to the National Healthcare Safety Network, 2006-2008. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010; 31:528–531.

Karaca N, Koç AN, Karagöz S. Kan ve vajen örneklerinden izole edilen candida türlerinin slaym aktiviteleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2001; 31:224–226.

Kayser HF. Meticillin and glicopetide resistance in staphylococci. Cur Opin Infect Dis. 1995; 8:7.

Kennedy HF, Morrison D, Kaufmann ME, et al. Origins of *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus oralis* causing bacteraemia in a bone marrow transplant patient. J Med Microbiol. 2000; 49(4):367-370.

Keskin O, Altay G, Akan M. Farklı hayvansal kaynaklardan izole edilen koagulaz negatif stafilokoklarda slime üretimi ve adherans. Turk J Vet Anim Sci. 2003; 27:253–257.

Kırkan Ş, Göksoy EÖ, Kaya O. Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci from bovine mastitis in the Aydın region of Turkey. Turk J Vet Animal Sci. 2005; 29:791-96.

Klimienė I, Ružauskas M, Mockeliūnas R, Šiugzdinienė R, Virgailis M, Špakauskas V. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from riding horses nasal mucosa. Vet Med Zoot. 2015; 71(93):32-38.

Kloos WE, Obran BS, Walker DD. Plasmid composition of *Staphylococcus* species. Can J Microbiol. 1981; 27:271-278.

Kloos WE. Systematic and the natural history of *Staphylococcus*. J Applied Bacteriol. 1990; 69:39-48.

Kloss WE, Bennerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murroy PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover CF, Tenover RH. Manual of Clinical Microbiology. 6th Ed. Washington: 1995, p:282-293.

Knox KW, Wicken AJ. Bact Rev. 1973; 37:215–257.

Koneman EM, Allen SD, VR, Sommers HM. Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2nd Ed. Lippincott Company. Philadelphia; 1997.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM. The Gram positive cocci: Staphylococci and related organisms. Diagnostic Microbiology. 1997; p:539-576.

Kotilainen P, Maki J, Oksman P, Viljanen MK, Nikoskelainen J, Huovinen P. Immunochemical analysis of the extracellular slime substance of *Staphylococcus epidermidis*. Infectious Diseases. Eur J Clin Microbiol. 1990; 9:262-270.

Kurt H, Tural D, Tekeli E, Onul M. Stafilokokların antibiyotiklere in vitro duyarlılığı. AÜ Tıp Fakültesi Mecmuası. 1992; 45:541-548.

Kuyucu N. Antibiyotik dirençi. Enf Derg. 2007; 1:33-38.

Latorre M, Rojo PM, Franco R, Cisterna R. Endocarditis due to *Staphylococcus capitis* subspecies *ureolyticus*. Clin Infect Dis. 1993; 16:343-344.

Lilenbaum W, Veras M, Blum E, Souza GN. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. Lett Appl Microbiol. 2000; 31:42-45.

Lina G, Etienne J, Vandenesch F. Biology and pathogenicity of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ, eds. Gram Positive Pathogens. ASM Press. Washington: DC; 2000, p:450-462.

Ludlam HA, Noble WC, Marples RR , Phillips I. The evaluation of atyping scheme for coagulase negative staphylococci suitable for epidemiological studies. J Clin Microbiol. 1989; 30:161-165.

MacFaddin JF. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia: PA; 2000.

Mackie and McCartney. *Staphylococcus aureus*. In: Collee JG, Duguid JP, Fraser AG, Marmion BP, eds. Practical Medical Microbiology. 13th ed. Churchill: Livingstone; 1989, p:305-311.

Madigan MT, Martinko JM. Brock biology of microorganisms. 11th ed. Pearson Prentice Hall Inc: 2006.

Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2011.

Mıdık F, Tokatlı M, Özçelik F. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler ve üretimini etkileyen faktörler. 2011; s:106.

Miedzobrodzki J, Naidu AS, Watts JL, Ciborowski P, Palm K, Wadstorm T. Effect of milk on fibronectin and collagen type I binding to *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from bovine mastitis. J Clin Microbiol. 1989; 27:540-544.

Minto MCE, Barelli C, Martinez R, Darini C. Identification and medical importance of coagulase negative staphylococci species. Sao Paulo Med J. 1999; 117(4): 175-178.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller PA. Medical Microbiology. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005, 203(12):221-236.

Novick RP. Staphylococcus: Pathogenicity factors and their regulation. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ, eds. Gram Positive Pathogens. ASM Press. Washinton: DC; 2000, p:392-407.

O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep. 2002; 51(10):1-29.

Ogston A. *Micrococcus* poisoning. J Anat Physiol. 1882; 17:24–58.

Ogston A. Ueber Abscesse. Arch Klin Chir. 1880; 25:588.

Oliveira L, Langoni H, Hulland C, Ruegg PL. Minimum inhibitory concentrations of *Staphylococcus aureus* recovered from clinical and subclinical cases of bovine mastitis. J Dairy Sci. 2012; 95:1913–1920.

Oluola O, Kong L, Fein M, Weisman LE. Lysostaphin in treatment of neonatal *Staphylococcus aureus* infections. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 2198-2200.

Ordan JA, Goyache J, Hernandez J, Domenech A, Suarez G, Gomez-Lucia E. Production of staphylococcal enterotoxins and TSST- by coagulase negative staphylococci isolated from ruminant mastitis. Zentralbl Veterinaermed. 1992; B39: 144-148.

Otto M. Virulence factors of the coagulase negative staphylococci. Front Biosci. 2004; 9:841-863.

Özdemir M. Mastitisli İnek Sütlerinden *Staphylococcus* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü. İstanbul; 2005.

Pal N, Ayyagari A. Species identification and methicillin resistance of coagulase negative staphylococci from clinical specimens. Indian J Med Res. 1989; 89: 300-305.

Patrick CCP. Coagulase negative Staphylococci: pathogens with increasing clinical significance. J Pediatr. 1990; 116:497-507.

Peacock SJ. *Staphylococcus*. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G, eds. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 10th Ed. Hodder Arnold. London: United Kingdom; 2005, p:771-832.

Pereira IA, Soares LC, Coelho SMO, Pribul BR, Souza MMS. Suscetibilidade à azitromicina de isolados bacterianos de processos infecciosos em cães e gatos. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2009; 29(2):153-159.

Phillips I, Casewell M, Cox T, Groot B, Friis C, Jones R, *et al*. Does the ruse of antibiotics in food animals pose a risk to human health?. A critical review of published data. J Antimic Chemother. 2004; 53:28-52.

Pillar CM, Draghi DC, Sheehan DJ, Sahm DF. Prevalence of multidrug-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: findings of the stratified analysis of the 2004 to 2005 LEADER Surveillance Programs. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008; 60:221–224.

Proctor RA, Peters G. Small colony variants in staphylococcal infections. Diagnostic and Therapeutic Implications. *Clin Infect Dis*. 1998; 27:419-423.

Pyorala S, Taponen S. Coagulase negative staphylococci: Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*. 2009; 134:3-8.

Pyörola S, Sandholm M, Honkannen T, Kaartinen L. Staphylococcal and Streptococcal mastitis. The bovine udder and mastitis, University of Helsinki. Faculty of Vet Med. 1995;143-147.

Rafaillidis PI, Pitsomunis AI, Falagas ME. Meta analyses on the optimization of the duration of antimicrobial treatment for various infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009; 23:269-276.

Rampone H, Bogni C, Giraudo J, Calzolari A. Identification of staphylococci from bovine milk in Argentina. *Zbl Bakt*. 1993; 279:537-543.

Rosen GD. Pro nutrient antibiotic replacement standards discussed. *Feed stuff*. 2003; 75:11.

RSHM. Klinik örneklerden *Staphylococcus aureus* tanımlaması ve metisilin direncinin belirlenmesi için laboratuvar standart uygulama prosedurleri. 2009.

Sageman A. Antibiotic resistance mechanisms, problems and solutions. Honors Projects. 2015; p:416.

Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics in the environment. *Chemo*. 2006; 65:725-759.

Schleifer KH, Hammes WP, Kandler O. Effect of endogenous and exogenous factors on the primary structure of bacterial peptidoglycan. *Adv Microb Physiol*. 1976; 13: 245-292.

Schleifer KH. Micrococcaceae. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. USA: 1986, 2:1003-1035.

Sea E, Kruze J. Virulence factors of coagulase negative staphylococcus of human and bovine origin. J Rev Latinoam Microbiol. 1995; 37(3):201-208.

Seas C, Hernandez K, Ramos R, et al. Oxacillin-resistant and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Lima, Peru. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27: 198–200.

Shittu A, Lin J, Morrison D, Kolawole D. Identification and molecular charecterization of mannitol salt positive, coagulase-negative staphylococci from nasal samples of medical personel and students. J Med Microbiol. 2006; 55:317-324.

Shuttleworth RR, Behme RJ, McNabb A, Colby WD. Human isolates of *Staphylococcus caprae* association with bone and joint infections. J Clin Microbiol. 1997; 35:2537-2541.

Smith D, Dushoff J, Morris J. Agricultural antibiotics and human health. Plos Med. 2005; 2(8):232.

Soares LC, Pereira IA, Coelho SMO, Cunha CMM, Oliveira DFB, Miranda AF, Souza MMS. Caracterização fenotípica da resistência a antimicrobianos e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados de amostras animais e humanas. Ciência Rural. 2008; 38(5):1346-1350.

Spellberg MD. Chief medical officer of the Los Angeles County and University of Southern California. Medical Center and professor of medicine and associate dean for clinical affairs at the Keck School of Medicine of USC; 2011.

Talaro KP, Chess B. Foundations in microbiology. 8th ed. New York: McGraw Hill; 2008.

Tenover FC, Gaynes RP. The epidemiology of *Staphylococcus* infections. In: Fischetti VA, Novick RP, Feretti JJ, Poertnoy DA, Rood JL, eds. Gram Positive Pathogens. ASM Press. Washington: DC; 2000, p:414-421.

Trinidad P, Nickerson SC, Luther DG. Antimicrobial susceptibilities of staphylococcal species isolated from mammary glands of unbred and primigravid dairy heifers. J Dairy Sci. 1990; 73:357-362.

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

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

Ulusoy S, Çetin B, Arda B. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kökenlerinin antibiyotik direnci. İnfeks Derg. 1995; 9:7-10.

Valle J, Gomez Lucia E, Piriz S, Goyache J, Orden JA, Vadillo S. Enterotoxin production by staphylococci isolated from cases of ovine mastitis. Epidemiol Infect. 1994; 112:171-176.

Vandenesch F, Eykyn SJ, Bes M, Meugnier H, Fleurette J, Etienne J. Identification and ribotypes of *Staphylococcus caprae* isolates isolated as human pathogens and from goat milk. J Clin Microbiol. 1995; 33:888-892.

Vandenesch F, Projen SJ, Kriswirth B, Erienne J, Novick RP. *Agr*-related sequence in *Staphylococcus lugdunensis*. FEMS Microbiol. 1993; 111:115-122.

Vernozy Rozand C, Mazuy C, Prevost G, et al. Enterotoxin production by coagulase negative staphylococci isolated from goats' milk and cheese. Int J Food Microbiol. 1996; 30:271-280.

VITEK 2 Product Information bioMérieux. Durham, North Carolina; 27704-0969/ USA.

Virdis S, Scarano C, Cossu F, Spanu V, Spanu C, Pietro Luigi de Santis E. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Coagulase Negative Staphylococci* isolated from goats with subclinical mastitis. Dipartimento di Biologia Animale. Università di Sassari. Vet Med Int. 2010; 517060.

Von Darányi J. Qualitative Untersuchungen der Luftbakterien. Arch Hyg (Berlin). 1925; 96:182.

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

Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone; 2000, p:2069–2092.

Waller JR, Hodel SL, Nuti RN. Improvement of two toluidine blue O-mediated techniques for DNase detection. J Clin Microbiol. 1985; 21:195-199.

Wang HJ, Entire MC, Zhang LX, Doyle LM. The transfer of antibiotic resistance from food to humans: facts, implications and future directions. Rev sci tech Off int Epiz. 2012; 31(1):249-260.

Watts JL, Naidu AS, Wadstrom T. Collagen binding, elastase production and slime production associated with coagulase negative staphylococci isolated from bovine intramammary infections. J Clin Mic. 1990; 28(3):580-583.

Wheelis M. Principles of modern microbiology. Jones & Bartlett Publishers, Inc. Sudbury: MA; 2008.

Wilkinson BJ. The staphylococci in human diseases. In: Crossley KB, Archer GL, eds. Biology. London: Churchill Livingstone; 1997, p:1-38.

Willey J, Sherwood L, Wolvert C. Prescott Microbiology. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 2013, 13:377-400.

Winn W, Alen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Koneman E, Alen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G, eds. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006, p:624-671.

Winslov EA, Rothberg W, Parsons EI. Notes on the classification of the white and orange staphylococci. J Bact. 1920; 5:145.

World Health Organization (WHO). Drug resistant *Salmonella*. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>. Accessed: 24 Jun: 2009.

World Health Organization (WHO). Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. WHO Library Cataloguing in Publication Data. Copenhagen; Denmark, 2011.

World Health Organization (WHO). WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Report of a WHO consultation. Geneva; Switzerland: 2000.

Wright GD. Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it?. BMC Biol. 2010; 8:123.

Yamada T, Ichiman Y, Yoshida K. Possible common biological and immunological properties for detecting encapsulated strains of *Staphylococcus epidermidis*. J Clin Microbiol 1988; 26:2167-2172.

Young KD. Peptidoglycan. In Wiley Online Library. Retrieved from <http://www.els.net/Wiley/CDA/ElsArticle/refId-a0000702.html>.2011.

Younger JJ, Christensen DL, Bartley JCH, Simmons FF. Coagulase negative staphylococci isolated from cerebrospinal shunts: importance of slime production, species identification and shunt removal to clinical outcome. J Infect Dis. 1987; 156: 548-554.

Yu W, Keun KH, Rauch S, Schneewind O, Missiakas D. Pathogenic conversion of coagulase-negative staphylococci. Microbes Infect. 2017; 19(2):101-109.

Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kranzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. Int J Antimicrob Agents. 2006; 1:14-20.

Zscheck KK, Murray BE. Genes involved in the regulation of beta-lactamase production in enterococci and staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37(9):1966-1970.

EKLER

EK:1

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

İMZALAMADAN ÖNCE LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!

Ben Prof. Dr. Ömer Memduh ESENDAL ve çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Halit ŞÜKÜR, Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'ndeki Çeşitli Hayvansal Kaynaklardan İzole Edilen Koagülaz Negatif Stafilokok'ların Karakterizasyonu ve Özelliklerinin Araştırılması'na yönelik bir araştırmaya başlamak istiyoruz. Bu çalışmanın amacı Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde klinik veya subklinik inek, koyun ve keçi mastitis olgularında ve ayrıca sağlıklı ve deri yarası bulunan köpek ve atlarda CNS varlığı araştırılacaktır. Araştırma sonucunda izolatların antibiyotik direnç profillerinin ve çeşitli virulens özelliklerinin belirlenmesi yanında CNS'lerin bugüne kadar göz ardı edilen prevalansının ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır. Gerçekleştirmek istediğimiz çalışmaya sahibi olduğunuz inek/koyun/keçi/köpek/at ile katılımınızı istiyoruz. Araştırmamıza katılımınız araştırmanın bundan sonraki uygulamaların başarı şansını artırmak açısından önemlidir.

Bu araştırmada;

Klinik ve subklinik mastitis şüpheli 50'şer adet inek, koyun ve keçi'den süt örneği toplanacaktır. Süt örnekleri meme loblarında kızarıklık, ısı artışı, şişkinlik ve sertleşme gibi klinik mastitis belirtisi gösteren hayvanlardan direkt olarak, klinik belirti göstermeyen hayvanlardan da California Mastitis Test (CMT) sonuçlarına göre subklinik mastitis yönünden pozitif bulunan meme loblarından alınacaktır. Numuneler Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Havva Hanım Eğitim-Öğretim Araştırma ve Uygulama Çiftliği ile birlikte Güzelyurt, Mağusa ve Lefkoşa ilçelerinde bulunan özel çiftliklerdeki hayvanlardan toplanacaktır.

Sağlıklı köpeklerin deri ve burunlarından ve ayrıca saptanması durumunda yüzeysel yaralarından olmak üzere toplam 75 köpekten örnek alınacaktır. Bu amaçla başta Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi olmak üzere yine Güzelyurt, Mağusa ve Lefkoşa ilçelerinde bulunan özel kliniklere getirilen sahipli köpeklerden yararlanılacaktır.

Benzer şekilde sağlıklı atların deri ve burunlarında ve bulunması halinde yüzeysel yaralarından olmak üzere toplam 25 At'dan da örnek alınacaktır. Bu amaçla başta Yakın Doğu Üniversitesi Arapköy At Çiftliği ve özel çiftliklerdeki atlardan yararlanılacaktır.

Çiftliklerden ve Veteriner kliniklerinden aseptik koşullarda toplanan örnekler soğuk zincir altında Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Araştırma ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırılacak ve analizlerine aynı gün başlanacaktır. Bu amaçla, Koagülaz Negatif Stafilokoklar'ın K.K.T.C genelindeki inek, koyun ve keçilerde mastitis infeksiyonlarındaki rolü ile birlikte, köpek ve atlarda deri ve yara infeksiyonlarına katılım oranları ortaya koyulacaktır. Ayrıca bu örneklerle antibiyotik duyarlılık testleri (Antibiyogram) de uygulanacaktır. Böylece duyarlı antibiyotik seçimi ve buna yönelik doğru tedavi protokollerinin uygulanması sağlanacaktır.

Araştırmacılar, yukarıda belirtilen projenin amacını, proje ile ilgili tüm uygulama prosedürünü, projeden doğabilecek olası tüm yararları ve zararları, diğer tüm seçenekleri, projeden elde edilecek verilerin eğitim amaçlı olarak kullanılabileceğini ve bilimsel makale olarak yayımlanabileceğini, ayrıca gerekli gördüğüm hallerde çalışmadan çekilebileceğimi, eğer hayvanımın tedavisi söz konusu ise deneyden çekilmem halinde tedaviye devam edileceğini, detaylı olarak tarafıma bildirmişlerdir. Çalışmanın kapsamına giren konularda gerekli tedavi ve bakım için herhangi bir ücret ödemeyeceğim. Sahibi olduğum hayvanların denek olarak kullanılmaları karşılığı herhangi bir ücret talep etmeyeceğim. Çalışmanın kapsamı dışındaki tedavi ve bakım giderleri tarafımdan ödenecektir.

Aşağıda imzası bulunan Ben.....sahibi olduğumadresteki mekanımda yetiştirmekte olduğum türünden, ırkında,yaşta/yaşlarda cinsiyetinde adet hayvanımın/hayvanlarımın yukarıda adı geçen araştırmacılara ait Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'ndeki Çeşitli Hayvansal Kaynaklardan İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokok'ların Karakterizasyonu ve Özelliklerinin Araştırılması konulu araştırmaya kendi rızam ile dahil edilmesini uygun gördüğümü kabul ederim.

Hayvan/hayvanlar Sahibinin:

ADI SOYADI:

İMZA:

TARİH:

Sorumlu Araştırmacı:

ADI SOYADI: Halit ŞÜKÜR

İMZA:

TARİH:

Tanık:

ADI SOYADI:

İMZA:

TARİH:

ÖZGEÇMİŞ

Adı:	Halit	Soyadı:	Şükür
Doğum Yeri:	Lefkoşa	Doğum Tarihi:	28.06.1990
Uyruğu:	K.K.T.C	Telefon:	05338637240
E-mail:	hltsukur@gmail.com		

Eğitim Düzeyi	Mezunn Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	Yakın Doğu Üniversitesi	2019
Yüksek Lisans		
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi	2015
Lise	Levent Kolej	2007

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre
Araştırma Görevlisi	Yakın Doğu Üniversitesi	2015-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	İyi	İyi