



Araştırma Makalesi / Research Article

Ortopetik Cerrahi Yaralardaki *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Slime Üretiminin Genotipik ve Fenotipik Olarak Araştırılması

Genotypic and Phenotypic Investigation of Slime Production in Staphylococcus aureus Isolates in Orthopedic Surgical Wounds

Cemil DEMİR¹  ve Songül ÇETİK YILDIZ^{2*} 

^{1,2}Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Teknikler ve Hizmetler Bölümü, 47200, Mardin, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Tarihi

Alınış: 02.04.2020

Revize: 10.04.2020

Kabul: 20.04.2020

Online Yayınlama: 08.06.2020

Anahtar Kelimeler

Staphylococcus, slime, PCR, kongo red, enfeksiyon

ARTICLE INFO

Article History

Received: 02.04.2020

Revised: 10.04.2020

Accepted: 20.04.2020

Available Online: 08.06.2020

Keywords

Staphylococcus, slime, PCR, kongo red, infection

ÖZ

Bu çalışmada, Mardin Devlet Hastanesi Ortopedi Servisinde yatan ve implant takılı toplam 180 hastanın yara yerlerinden alınan örneklerin 125'inde *Staphylococcus aureus* suşu izole edilirken, 62'sinde ise *Staphylococcus epidermitis* suşu izole edilmiştir. Bu izolatlarda Multiplex PCR ile slime üretiminden sorumlu *ica A* ve *ica D* genlerinin varlığı, Kongo red agar (CRA), standart test tüp (ST) ve mikropleyt (MP) gibi fenotipik yöntemlerle slime üretimleri, disk difüzyon agar ile suşların antibiyotik dirençlerine bakılarak slime (biyofilm) tabakasının direnç mekanizmasındaki rolünün saptanması amaçlanmıştır. İncelenen stafilocok suşlarının CRA, MP ve ST testleri ile slime üretimi sırasıyla %62.4, %57.7 ve %52.9 oranında pozitif bulunurken *ica A* ve *ica D* gen pozitifliği ise %65,6 (82/125) bulunmuştur. İncelenen tüm stafilocoklar ise teikoplanine ile vankomisin antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları belirlendi. Antibiyotiklere karşı direnç oranlarının slime pozitif suşlarında slime negatif suşlara göre daha yüksek olduğu görülürken, sadece penisilin, ampisilin ve eritromisine dirençlilik oranları istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Sonuç olarak, *ica A* ve *ica D* genleri bakımından pozitif olan suşlarda antibiyotiklere dirençlilik oranları anlamlı bulundu.

ABSTRACT

In this study, *Staphylococcus aureus* strain was isolated in 125 of the samples of 180 patients' wounds who were hospitalized in Mardin State Hospital Orthopedic Service and implanted, while *Staphylococcus epidermitis* strain was isolated in 62 of them. In these isolates, it was aimed to determine the presence of *ica A* and *ica D* genes responsible for slime production by Multiplex PCR, to determine slime production by phenotypic methods such as Congo red agar (CRA), standard test tube (ST) and microplate (MP) and to determine the role of the slime (biofilm) layer in the resistance mechanism by looking at the antibiotic resistance of the strains with disc diffusion agar. While the CRA, MP and ST tests of the *Staphylococcus strains* examined were found to be respectively 62.4%, 57.7% and 52.9% positive, the *ica A* and *ica D* gene positivity was 65.6% (82/125). It was determined that all staphylococci examined were sensitive to teicoplanin and vancomycin antibiotics. While antibiotic resistance rates were higher in slime positive strains than slime negative strains, only penicillin, ampicillin and erythromycin resistance rates were found statistically significant. As a result, resistance to antibiotics was found to be significant in strains positive with regard to *ica A* and *ica D* genes.

*Sorumlu Yazar

E-posta Adresi: cemildemir@ymail.com (Cemil Demir), songulcetik@gmail.com (Songül Çetik Yıldız)

1. GİRİŞ

Biyomateryal ile ilişkili enfeksiyonlar, modern ortopedik cerrahinin korkunç komplikasyonlarından ve bu da sıklıkla uzun süreli hasta ağrısına ve fonksiyonel kayıplara yol açmaktadır. Bu enfeksiyon riskini her ne kadar en aza indirmeye yönelik yoğun çabalar olsa da endişe verici sayıda ortopedik cerrahi alan enfeksiyonu görülmeye devam etmektedir [1]. Stafilokoklar, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonların en yaygın nedenidir [2]. Stafilokoklar biyomalzeme ile ilişkili ciddi ve indirgenemez enfeksiyonlara neden olabildiğinden yapıları ve patogenetik mekanizmaları aydınlatmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır [3-5]. Stafilokok enfeksiyonlarının tercih edilen bölgeleri olan kollajence zengin dokular, kemik ve kırıkta gibi ortopedik implantları barındıran dokulardır [6]. Dünya çapında hastane enfeksiyonları ve yaralarda mikrobiyal kolonizasyon gösteren en önemli etkenlerden olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ilk defa irinli yaralardan izole edilmiştir [7]. Ortopedik implant takılı hastalarda slime üretiminden dolayı *S. aureus* ciddi enfeksiyonlarla morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlar hastalarda tedavi sürecini uzatmakta ve tekrarlanan ameliyatlara yol açmaktadır [8,9]. *S. aureus*, kateterler ve diğer tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonların önemli nedenlerindedir [10]. Yapılan çalışmalarda *S. aureus*'un da slime üretebildiği ve slime üretiminden sorumlu *ica A* operonu taşıdığı gösterilmiştir [10,11].

Lokal antibiyotik tedavisi sunan ürünlere ilgi giderek artmaktadır. Prensip olarak, hem tedavi hem de profilaksi için lokal antibiyotik kullanımının avantajları vardır [1] Buchholz ve Engelbrecht [12] ilk önce çimentolu total eklem artroplastisinde lokal antibiyotik profilaksisi için polimetilmetakrilat (PMMA) kemik çimentosuna antibiyotiklerin dahil edilmesini popüler hale getirdiler. Klinik çalışmalar, antibiyotik yüklü kemik çimentosunun, çimentolu total kalça artroplastilerinin derin enfeksiyon oranlarını ve sistemik antibiyotik uygulaması ile kombine edildiğinde varsayılan “aseptik” gevşemeye bağlı revizyon oranlarını azaltabildiğini göstermiştir [13] ve bu çözüm özellikle yüksek riskli hastalarda hem etkili hem de ekonomik olarak uygun bulunmuştur [14,15].

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya, Mardin Devlet Hastanesi Haziran 2016-Aralık 2019 tarihler arasında Ortopedi Servisinde implant takılı hastaların yaralarından alınan örneklerden izole edilen 125 *S. aureus* suşu çalışmaya dahil edildi.

2.1 Bakteriyolojik örnekleme

Ortopedi servisinde tedavi edilen hastaların yaralarından transport besiyeriyle alınan örnekler hızlı bir şekilde araştırma laboratuvarına gönderildi. Suşların tanımlanması geleneksel yöntemlerle yapıldı. Örnekler %5 koyun kanlı agar ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Koloni morfolojisi ve

Gram boyama dikkate alınarak katalaz ve koagülaz testi pozitif olanlar *S. aureus* olarak tanımlandı. Suşlar %40'luk gliserollü Mueller-Hinton Broth (Merck, Germany) alınarak -25°C'de saklandı.

2.2 Bakteriyel Kontrol Suşlar

Kontrol suşlar olarak slime oluşturmeyan *S.epidermidis* ATCC 12228, güçlü biyofilm oluşturan *S.epidermidis* ATCC 35984 ve antibiyotik çalışmaları için kontrol kökenler olarak *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı.

2.3 Antimikrobiyal duyarlılık testi

İzolatların antimikrobiyal duyarlılığı, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) yönergelerine (CLSI) [16] göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan antimikrobiyaller: penisilin (10 ug), ampisilin (10 ug), amoksisilin-klavulanik asit (20/10 ug), gentamisin (10 ug), enrofloksasin (5 ug), eritromisin (15 ug), ve tetrasiklin (30 ug). Kalite kontrol suşu olarak *S. aureus* (ATCC 29213) kullanılmıştır (Tablo 2).

2.4 Fenotipik Yöntem

2.4.1 Kongo Kırmızılı Agar (CRA)Yöntemi

Slime üretimi, Freeman ve ark., [17] tanımladığı Kongo kırmızılı agar, standart test tüp ile mikropleyt yöntemi ise Christensen ve ark., [18] tanımladığı yöntemle araştırıldı. Kongo kırmızılı agar besiyeri litrede 10 g agar, 50 g sukroz, 37 g beyin-kalp infüzyon buyyonu ve 0.8 g Kongo kırmızısı içerecek şekilde hazırlandı. Bu besiyerlerine tek koloni düşecek şekilde yapılan ekimler 37°C'de bir gece inkübe edildi ve takiben kültürler oda ısısında 48 saat bekletildi. Besiyerinde kırmızımsı siyah, pürüzlü, kuru, şeffaf koloniler slime (biyofilm) pozitif, pembemsi-kırmızı, düz ve merkezi koyu (öküz gözü görünümü) koloniler yapanlar slime negatif olarak değerlendirildi.

2.4.2 Mikropleyt (MP)Yöntemi

Stafilokok suşlarının mikropleyt yöntemi ile slime üretimlerinin saptanması Christensen ve ark., [18] tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntem ile yapıldı. TSB'da (Tryptic Soy Broth) 37 °C'de, 24 saat süreyle üretilen stafilocok suşları % 2 oranında glukoz içeren TSB ile 1/100 oranında sulandırıldıktan sonra, steril düz tabanlı mikroplağın her bir gözüne 0.2 ml konularak, 37 °C'de 18 saat aerobik olarak inkübe edildi. Sürenin sonunda, mikroplağın her bir gözündeki sıvı aspire edilerek, PBS fosfat tamponlu tuz (PBS) ile dört kez yıkandı ve her bir göze 200 µl Hucker crystal violete boyası ilave edilerek oda sıcaklığında 50 dakika süre ile boyandı. Daha sonra kuyucuklar, 3 kez su ile yıkandı ve mikropalak kurutma kağıdı üzerinde, ters çevrilerek kurutuldu. Mikropalak kurutulduktan sonra, 570

nm dalga boyunda ELISA okuyucuda optik yoğunlukları belirlendi. Her suş için, üç kez yapılarak okunan optik dansite değerlerinin aritmetik ortalamaları alındı. Steril TSB, negatif kontrol olarak kullanıldı. Optik dansite değerleri 0.240'tan büyük olan suşlar kuvvetli adheran, 0.120-0.240 olan suşlar adheran, 0.120 ve altında olan suşlar ise adheran negatif olarak değerlendirildi.

2.4.3 Standard Tüp (ST) Yöntemi

Bu yöntem ile slime üretiminin saptanması Christensen ve ark., [18] tarafından bildirilen yöntemine göre, test edilecek stafilokok suşlarının, kanlı agar' da üreyen saf kültüründen bir koloni alınarak, içinde 5 ml %0,25 glukoz içeren TSB besiyerine inokule edilerek, 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüp içerikleri boşaltılarak, %1'lik safranin solüsyonu ile oda ısısında 40 dakika bekletildi. Boya dökülerek, tüpler steril PBS ile iki defa yıkandı ve ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Ertesi gün tüpün iç yüzeyinde renkli bir film tabakasının oluşumu ve yoğunluğuna göre (+), (++) , (+++) veya (-) olarak değerlendirildi.

2.5 Genotipik Yöntem

2.5.1 DNA İzolasyonu

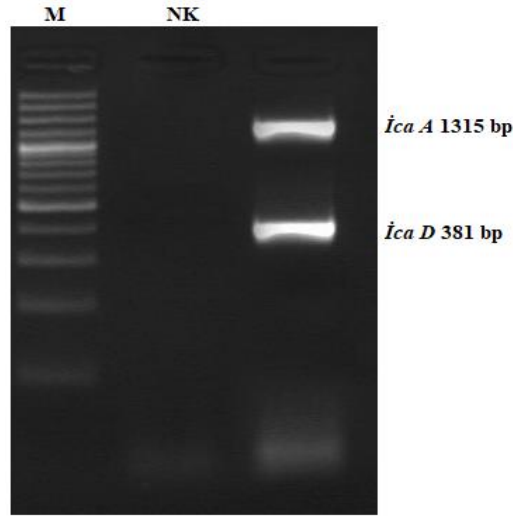
Stafilokok izolatlarından nükleik asit izolasyonu için dondurulmuş örnekler hızla çözüldü ve tüm bakteri suşları, gece boyunca çalkalanarak 37 °C'de beyin-kalp infüzyon broth (Merck, Almanya) üretildi. Toplam DNA, çalışmada kullanılan tüm bakteri suşları için gece boyunca 5 ml beyin-kalp infüzyon broth kültüründen izole edildi. DNA ekstraksiyon prosedürü daha önce Johnson ve ark., [19] tarafından tarif edilen metoda göre gerçekleştirildi. İnkübasyondan sonra bakteri hücreleri, 3.000 x g'de 10 dakika süreyle santrifüjle çöktürüldü. Santrifüjlemeden sonra ml başına 100 g lizostafin (Sigma) ile fosfat karıştırılmış salin içinde yeniden süspansiyon edildi ve 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi. Stafilokok örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu için klasik fenol/kloroform ekstraksiyon yöntemi kullanıldı ve DNA, 1 ml% 70 etanol içerisinde çöktürüldü. DNA çökeltisi, 50 L TE tamponu (10 mM Tris klorür-1 mM EDTA [pH 8.0]) içerisinde çözündürüldü. Spektrofotometrik yöntemle DNA ölçümleri yapıldı ve PCR işlemine kadar -20 ° C'de saklandı.

2.6 *İca A* ve *İca D* için PCR yöntemi

İca A ve *ica D*'ye özgü primerler, sırasıyla Cramton ve ark., [20] ve Vasudevan ve ark., [21] çalışmalarından seçilmiştir (Tablo 3). Tüm Staphylococcal suşlarında *İca A* ve *İca D* genlerinin saptanması için multipleks PCR deneyi gerçekleştirildi. PCR amplifikasyonu, toplam 25 ul hacimde gerçekleştirildi. PCR amplifikasyonu şu şekilde elde edildi: 5 ul genomik DNA (yaklaşık 50 ng) numune, 20 ul PCR karışımına (20 mmol / L Tris-HCl, pH 8.4; 50 mmol / L KCl, 10 mmol / L MgCl₂) ilave edildi. Her biri deoksinükleosid trifosfatların (dNTP'ler) 200 µmol / L, her primer için 0.6 µmol /

L ve 1 U Taq DNA polimeraz. Amplifikasyon işlemi bir başlangıç denatürasyon aşamasıyla (94 ° C, 4 dakika) başlatıldı. Her döngü üç basamaktan oluştu (denatürasyon, bağlanma ve uzatma). PCR reaksiyonu 30 siklustan oluştu. Amplifikasyon, 94 ° C'de 45 saniye boyunca denatürasyon, 30 saniye boyunca 52 ° C'de bağlanma ve 1 dakika boyunca 72 ° C'de DNA zinciri uzamasından oluşuyordu. Son bir uzama döngüsü 7 dakika 72 ° C'de gerçekleştirildi.

Slime ve adezin genlerinin amplifikasyonundan sonra, 10 µl hacimli PCR numuneleri, 3 µl yükleme tamponu (% 10, w / v, ficoll 400; 10 mmol / L Tris-HCl, pH 7.5; 50 mmol / L EDTA; % 0.25 bromofenol mavisi). PCR ürünleri, 100 bp lik DNA Marker kullanılarak (Şekil.1) 1xTAE tamponu (40 mmol / L Tris-asetat, 1 mmol / L EDTA) içinde % 2 (a / h) agaroz jel içinde analiz edildi. Etidyum bromür (0.5 ug / ml TAE) ile boyanmış DNA ampliconları bir jel görüntüleme sistemi (Wealtec, Dolphin-View, ABD) kullanılarak görüntüledi.



Şekil 1. İca A ve ica D genleri için agaroz jel elektroforezi ile multipleks PCR amplifikasyon ürünleri.

M:Marker(DNA Ladder Plus 100 bp), NK:Negatif Kontrol.

2.7 İstatistiksel Analiz

Tüm veriler x2 testi ile analiz edildi. P değeri <0.05 anlamlı kabul edildi. Bu çalışmada istatistiksel analizler İstatistiksel Paket (Windows V.1.5 için SPSS1, Chicago, ABD) yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

2.8 Tablolar

Tablo 1. S. aureus izolatlarının fenotipik ve genotipik analizi

Fenotipik Yöntemler			Genotipik Yöntemler	
CRA	MP	ST	Multiplex PCR	
			İca A	ica D
% 62.4	% 57,7	% 52.9	%65,6 (82/125)	

Tablo 2. Antibiyotiklerin slime pozitif (SP) ve slime negatif (SN) stafilokok suşlarında direnç gösterenleri

	Penisilin	Ampisilin	Amoksisilin/ KlavulanikAsit	Tetrasiklin	Eritromisin	Gentamisin	Enrofloksasin
SP	% 63.4	% 59.3	% 5.2	% 19.3	% 20.1	% 1.2	% 0.5
SN	% 32.6	% 13.4	% 3.3	% 13.9	% 18.1	% 0.8	% 0.0

Tablo 3. İca A ve ica D için multipleks PCR'lerde kullanılan primer dizileri ve boyutları

Gen	Primer	Oligonükleotid sekansı (5'-3')	Amplifikasyon ürününün boyutu (bp)
İca A	ica A-1	CCTAACTAACGAAAAG GTAG	1313
	ica-A2	AAGATATAGCGATAA GTGC	
İca D	ica D-1	AAACGTAAGAGAGGT GG	381
	ica D-2	GGCAATATGATCAAG ATAC	

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bakteriyel adhezyon, kateterler ve diğer kalıcı tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonlara neden olan bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir. Bakterilerin biyomateryallerle etkileşiminin ciddi nozokomiyal enfeksiyonların ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir [22]. Slime enfeksiyonları ile ilişkili mortalite ve morbidite ortopedik hastalarda çok yüksektir. Bu enfeksiyonlar tekrarlanan ameliyatlara ve uzun süreli antibiyotik tedavisi gibi ek tedavi süreci gerektirir [9]. *Staphylococcus aureus* kateterler ve diğer kalıcı tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonların sık rastlanan etiyolojik bir ajanıdır [10]. Yapılan bir çalışmada ortopedi servisinde yatan hastalardan alınan örneklerden en fazla izole edilen suşlardan birinin *S.aureus* olduğu ifade edilmiştir [23]. Çalışmamızda toplam 180 hastanın yara yerlerinden alınan örneklerinin 125'inde *S. aureus* suşu izole edilirken, bunların 62'sinde ise *S. epidermitis* suşu izole edilmiştir. *S. aureus* izolatlarında Multiplex PCR ile slime üretiminden sorumlu *ica A* ve *ica D* genlerinin varlığı saptanmıştır. Kongo red agar (CRA), standart test tüp (ST) ve mikropleyt (MP) gibi fenotipik yöntemlerle slime üretimleri ve suşların antibiyotik dirençlerine ise disk difüzyon agar ile bakılarak slime (biyofilm) tabakasının direnç mekanizmasındaki rolünün saptanmıştır. İncelenen *S. aureus* suşlarının CRA, MP ve ST testleri ile slime üretimi sırasıyla %62.4, %57.7 ve %52.9 oranında pozitif bulunmuştur. CRA, MP ve ST testleri

arasında istatistiksel olarak önemli farklılık saptanmıştır (Tablo 1). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada ise *S.aureus* suşlarının % 83'ünün slime ürettiği belirtilmiştir [6].

Çalışmamızda incelenen stafilocok suşlarının *ica A* ve *ica D* gen pozitifliği ise %65,6 (82/125) bulunmuştur (Tablo 1). Yapılan bir çalışmada *S. aureus*'un da slime üretebildiği ve slime üretiminden sorumlu *ica A* operonu taşıdığı gösterilmiştir. Operonda, tam slime sentezi için *ica A* ve *ica D* ekspresyonunun birlikte gerektiği ifade edilmiştir [11]. Nitekim yapılan başka bir çalışmada *ica A*'nın tekli ekspresyonu sadece düşük enzimatik aktiviteyi indüklediği, ancak *ica A*'nın *ica D* ile birlikte ekspresyonunun aktivitede önemli bir artışa yol açtığı ve kapsüller polisakkaritin fenotipik ekspresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [24]. Yapılan bir çalışmada, klinik olarak anlamlı stafilocok izolatları için virülans belirleyicisi olarak *ica* lokusunun önemli bir rolünü göstermektedir. Klinik izolatların yüksek bir yüzdesinde bulunması ve suşların slime üretme kabiliyeti ile ilişkisi, kateterlerle ilişkili enfeksiyonun patogenetik mekanizmalarında *ica A* ve *ica D*'nin rolünü kuvvetle göstermektedir [10]. Kateter ilişkili enfeksiyonlarda *S. aureus*' un slime üretimi ile ilgili olarak, rapor edilen veriler, slime üretme kapasiteleri (SP) (2.5) ve *S. aureus*' ta *ica* genlerinin varlığı ile ilgili son gözlemlerin ilginç bir doğrulamasını sunmaktadır [24]. Yapılan bir çalışmada *S. aureus* için *S. epidermidis*'e göre daha fazla slime üreten suşlar kaydedilmiştir (% 61'e karşı % 49) [10]. Kateter ilişkili enfeksiyonlardan oluşan geniş bir klinik izolat koleksiyonunda *S. aureus* suşlarının büyük bir kısmının, ya *ica* pozitif ya da *ica* negatif, fibronektin bağlayıcı protein için iki geni barındırdığını bulmuşlardır. Bu bulguya dayanarak, slime üretimi dışındaki mekanizmaların bakteriyel adezyondan sorumlu olduğu görüşünü güçlendirdiği bildirilmiştir [10]. *İca A* ile birlikte *ica D* nin ekspresyonu önemli enzimatik aktivitelerde artış sağlar. Birlikte sentezlenen bu iki gen kapsüller polisakkaritin oluşmasını sağlar [24].

S. aureus'un yaralarda oluşturdukları slime tabakası antibiyotiklerin difüzyonunu güçlendirmekte ve hasta tedavisi açısından büyük zorluklar meydana getirdiği bildirilmektedir. Bakteriyel suşlardan slime ve adezyon proteinlerinin tespiti için moleküler teknikler kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda slime genlerinin belirlenmesinde en sık kullanılan moleküler yöntemlerden PCR (polimer zincir reaksiyon) tercih edilir. Slime genlerinin varlığını saptamak için multipleks PCR tekniği kullanılır. Biz bu çalışmada, suşların antibiyotik dirençlerine disk difüzyon agar ile bakılmak suretiyle slime (biyofilm) tabakasının direnç mekanizmasındaki rollerinin saptanmasını amaçladık. Slime pozitif (SP) stafilocok suşlarında penisilin G, ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, enrofloksasin olan direnç oranları sırasıyla %63.4, %59.3, %5.2, %19.3, %20.1, %1.2, %0.5 olarak bulunmuştur. Slime üretmeyen slime negatif (SN) stafilocok suşlarında ise bu oran %32.6, %13.4, %3.3, %13.9, %18.1, %0.8 %0.0 olarak tespit edilmiştir (tablo 2). Yapılan bir çalışmada vankomisin antibiyotiğinin özellikle dirençli suşlara karşı mükemmel bir etkiye sahip olduğundan, ortopedik ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek için etkili olduğu rapor edilmiştir [25].

Aslında Kemik doku bakterilerin zor ulaştığı bir bölgedir; ancak uzun süre bakteri inokülasyonu, travma, yabancı cisim uygulanması ve altta yatan immün yetmezlik durumlarında enfeksiyon görülme sıklığı artmaktadır [26]. Wang ve ark., [27] yaptığı çalışmada enfeksiyon alanından alınan kültürler pozitif hale geldiğinde, enfeksiyonun zaten ileri bir aşamada olduğu ve protezin çıkarılmasının antibiyotik tedavisinin etkinliğini arttırmak için kaçınılmaz hale geleceğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ortopedik enfeksiyonların tedavisinde uzun süre antibiyotik kullanımı gerektiğinden uygulanacak antibiyotiğin istenmeyen etkileri göz önünde bulundurulması ve en az toksik etki yapacak antibiyotiğin tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir [28].

4. SONUÇLAR

Mikrobiyal kolonizasyon, hastanede yatan hastanın tedavisindeki en önemli sorunlardan biridir. *S. aureus* dünya çapında yara ve hastane kaynaklı enfeksiyonların ve ortopedik cerrahi hastalarında postoperatif enfeksiyonun önde gelen nedenidir. Bu mikroorganizmalar, önemli morbidite ve mortalite ile yakından ilişkilidir. Ortopedi cerrahisinde kullanılan malzemeler, organizmalar ve metaller arasındaki etkileşim bu çalışmanın tartışma ve araştırma konusu olmuştur. Çalışmamızda incelenen tüm stafilokoklar ise vankomisin ve teikoplanine karşı duyarlılığı olduğu tespit edildi. Antibiyotiklere karşı dirençlilik durumları slime pozitif suşlarda slime negatif suşlara oranla daha fazla bulunmakla beraber, sadece penisilin, ampisilin ve eritromisine dirençlilik oranları istatistiksel olarak anlamlıdır. Sonuç olarak, *ica A* ve *ica D* genleri bakımından pozitif olan suşlarda antibiyotiklere dirençlilik oranları anlamlı bulundu. Stafilokok suşlarında slime üretiminin belirlenmesinde CRA testinin daha pratik ve maliyetinin daha ucuz olduğu, moleküler yöntemlerin hızlı ve özgüllüklerinin yüksek olduğu ayrıca antibiyotiklere direnç gelişiminde de slime üretiminin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca *S. aerus* suşlarının moleküler olarak tanımlanması klinik anlamda karar vermede yardımcı olabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Makale başka bir yerde yayınlanmamıştır ve aynı anda başka bir yerde yayınlanmak üzere gönderilmemiştir. Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir. Makalenin içeriği ve yazımından sadece yazarlar sorumludur.

KAYNAKLAR

- [1] C.A. Aboltins, V. Antoci, S.Bhattacharyya, M. Cross, P. Ducheyne, A.A. Freiberg et al., Hip and Knee Section, Prevention, Prosthesis Factors: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections, The Journal of Arthroplasty 34 (2019) 309-320.
- [2] M.E. Rupp G.L. Archer, Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress, Clin. Infect. Dis. 19 (1994) 231-243.

- [3] Y.H. An, R.J. Friedmann, Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed. Mater. Res.* 43 (1998) 338-348.
- [4] T.J. Foster, D. McDevitt, Molecular basis of adherence of staphylococci to biomaterials, *In* A.L. Bisno and F.A. Waldvogel (ed.), *Infection associated with indwelling medical devices*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1994) 31-43.
- [5] L. Montanaro, C.R. Arciola, Studying bacterial adhesion to irregular or porous surfaces, *In* Y. H. An and R. J. Friedmann (ed.), *Handbook of bacterial adhesion: principles, methods and applications*. Humana Press Inc., Totowa, N.J. (2000), pp. 331-343
- [6] L. Montanaro, C.R. Arciola, L. Baldassarri, E. Borsetti, Presence and expression of collagen adhesin gene (*cna*) and slime production in *Staphylococcus aureus* strains from orthopaedic prosthesis infections, *Biomaterials* 20 (1999) 1945-1949.
- [7] K.H. Schleifer, *Gram Positive Cocci*. "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 1". Ed. PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986
- [8] M. Drancourt, A. Stein, J.N. Argenson, A. Zannier, G. Curvale, D. Raoult, Oral rifampin plus ofloxacin for treatment of Staphylococcus infected orthopaedic implants, *Antimicrob. Agents. Chem.* 37 (1993) 1214-1218.
- [9] A. Kumar, R. Prasad, Biofilms, *J Med. Educ. Res.* 8 (2006) 14-17.
- [10] C.R. Arciola, L. Baldassarri, L. Montanaro, Presence of *ica A* and *ica D* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections, *J Clin. Microbiol.* 39 (2001) 2151-2156.
- [11] R. Yazdani, M. Oshaghi, A. Havayi, R. Salehi, M. Sadeghizadeh, H. Foroohesh, Detection of *icaAD* gene and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates from wound infections, *Iranian J Publ. Health* 35 (2006) 25-28.
- [12] H.W. Buchholz, H. Engelbrecht, Depot effects of various antibiotics mixed with Palacos resins, *Chirurg.* 41 (1970) 511-515.
- [13] L.B. Engesaeter, S.A. Lie, B. Espehaug, O. Furnes, S.E. Vollset, L.I. Havelin, Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0-14 years in the Norwegian Arthroplasty Register, *Acta. Orthop. Scand.* 74 (2003) 644-651.
- [14] C.J. Gutowski, B.M. Zmistowski, C.T. Clyde, J. Parvizi, The economics of using prophylactic antibiotic-loaded bone cement in total knee replacement, *Bone Joint. J.* 96 (2014) 65-69.
- [15] M.J. Dunbar, Antibiotic bone cements: their use in routine primary total joint arthroplasty is justified, *Orthopedics* 32:9 (2009).
- [16] CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014
- [17] D.J. Freeman, F.R. Falkiner, C.T. Keane, New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci, *J Clin. Pathol.* 42 (1989) 872-874.
- [18] G.D. Christensen, W.A. Simpson, J.A. Younger, L.M. Baddour, F.F. Barrett, D.M. Melton et al., Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue cultures: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices, *J Clin. Microbiol.* 22(6) (1985) 996-06.
- [19] W.M. Johnson, S.D. Tyler, E.P. Ewan, F.E. Ashton, D.R. Pollard, K.R. Rozee KR, Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *S. aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin. Microbiol.* 29 (1991) 426-430.

- [20] Cramton SE, Gerke C, Schnell NF, Nichols WW, Gotz F (1999). The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infect Immun.*, 67: 5427-5433.
- [21] Vasudevan P, Nair MK, Annamalai T, Venkitanarayanan KS (2003). Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet. Microbiol.*, 92: 179-185.
- [22] P. Francois, P. Vaudaux, T.J. Foster, D.P. Lew, Host-bacteria interactions in foreign body infections, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 17 (1996) 514-520.
- [23] E. Ruffullayev, Ortopedi servisinde gram-negatif etkenlerle oluşan enfeksiyonlar, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. 2018 Thesis
- [24] C. Gerke, A. Kraft, R. Sussmuth, O. Schweitzer, F. Gotz, Characterization of the *N*-acetylglucosaminyltransferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin, *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 18586-18593.
- [25] K. Anagnostakos, Therapeutic use of antibiotic-loaded bone cement in the [1] treatment of hip and knee joint infections, *J. Bone Jt. Infect.* 2 (2017) 29-37. [2]
- [26] J.T. Mader, J. Calhoun, Osteomyelitis. *In: Mandell GL, Douglas RG, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, New York: Churchill Livingstone Inc. (2000) 1182-1196.
- [27] X. Wang, I. Sadovskaya, D. Leterme, D. Watier, A. Chokr, Z. Zhu, S. Jabbouri, A comparative study of antibodies against proteins extracted from staphylococcal biofilm for the diagnosis of orthopedic prosthesis-related infections in an animal model and in humans. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 75 (2013) 124-129
- [28] H. Özsüt, Ortopedik enfeksiyonların güncel tedavisi [Özet], *Klinik Derg.* 18 (2005) 177.